

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

Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques
Département de Biologie Animale et Végétale



THESE DE DOCTORAT

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Interactions Plantes-Animaux dans les Ecosystèmes Naturels et Cultivés

Présentée par

KHELOUL Lynda

Sujet

Etude de la biologie et de la sensibilité à l'action de quelques huiles essentielles de *Tribolium confusum* Duval (Coleoptera : Tenebrionidae), un insecte ravageur des denrées alimentaires entreposées

Devant le jury composé de :

M^{me} Sadoudi-Ali Ahmed Djamila	Professeur	UMMTO	Présidente
M. Kellouche Abdellah	Professeur	UMMTO	Rapporteur
M^{me} Aouar-Sadli Malika	Professeur	UMMTO	Examinatrice
M^{me} Mouhouche Fazia	Professeur	ENSA d'Alger	Examinatrice
M^{me} Moumène-Mesgo Saïda	M.C.A	Université de Blida	Examinatrice
M. Chakali Gahdeb	Professeur	ENSA d'Alger	Examineur

Soutenue le: 18/02/2021

Remerciements

Je souhaite remercier en premier lieu mon directeur de thèse, le professeur Kellouche Abdellah de m'avoir accueillie au sein de son équipe et d'avoir dirigé ce travail de recherche avec beaucoup de rigueur. Sa grande disponibilité et ses nombreux conseils m'ont été d'un grand intérêt.

J'adresse mes sincères remerciements à M^{me} Sadoudi-Ali Ahmed Dj., Professeur à l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, pour avoir accepté de présider le jury. Qu'elle trouve ici l'expression de mon profond respect.

Je remercie M^{me} Aouar-Sadli M., Professeur à l'université de Tizi-Ouzou, M^{me} Mouhouche F. et M. Chakali G., Professeurs à l'ENSA d'Alger, ainsi que M^{me} Moumène-Mesgo S., Maître de conférences A à l'université de Blida d'Alger, de m'avoir fait l'honneur de juger ce travail.

Je tiens à exprimer mes remerciements et ma profonde gratitude au Dr. Sylvia Anton et au Dr. Christophe Gadenne, Chercheurs à Agrocampus Ouest (Angers, France), de m'avoir accueillie dans leur laboratoire, je ne saurais vous remercier pour votre aide précieuse, vos précieux conseils et votre immense gentillesse, mes nombreux séjours chez vous ont été très fructueux.

Mes vifs remerciements s'adressent à M. Dimitri Bréard, Ingénieur de laboratoire au département de pharmacie de l'université d'Angers (France) pour la caractérisation des huiles essentielles.

Je remercie chaleureusement M. Metna B. de toujours me consacrer du temps pour répondre à toutes mes questions de statistique.

Je souhaiterais remercier tous mes collègues pour leurs encouragements et leur soutien, en particulier M^{me} Hedjal-Chebheb M., M^{me} Ait Aider F. et M^{lle} Tinkicht L.

Dédicaces

A ma défunte mère que j'aurais tant aimé qu'elle soit à mes côtés.

A mon cher père et à mon cher frère Nassim.

Table des matières

Liste des figures
Liste des tableaux

Introduction générale..... 1

Partie bibliographique

Chapitre I. L'insecte modèle: *Tribolium confusum*

1. Introduction.....	5
2. Présentation de l'espèce modèle <i>Tribolium confusum</i>	5
2.1. Position systématique	5
2.2. Origine et répartition géographique.....	6
2.3. Description des différents stades de développement de l'insecte.....	6
2.3.1. Les œufs	6
2.3.2. Les larves.....	7
2.3.3. Les nymphes.....	7
2.3.4. L'imago	8
2.4. La biologie de l'insecte.....	9
2.5. Les ennemis naturels des <i>Tribolium</i>	10
3. Dégâts causés par <i>T. confusum</i>	10
4. Lutte	11

Chapitre II. Généralités sur les huiles essentielles

1. Introduction.....	15
2. Définition et caractéristiques	15
3. Extraction des huiles essentielles.....	16
4. Contrôle chromatographique des huiles essentielles	16
5. Composition chimique des huiles essentielles.....	18
5.1. Terpènes.....	18
5.1.1. Monoterpènes.....	18
5.1.2. Sesquiterpènes.....	19
5.1.3. Diterpènes	20
5.2. Les composés aromatiques	20
5.3. Composés d'origines diverses	21
6. Biosynthèse des terpènes	21
7. Chémotypes.....	21
8. Activité insecticide des huiles essentielles et terpènes	22

Partie expérimentale

Chapitre III. Etude de la biologie de *T. confusum*

1. Introduction.....	23
2. Matériels et méthodes	23
2.1. Elevage de masse.....	23
2.2. Etude du cycle de développement de <i>T. confusum</i> sur trois substrats alimentaires ..	24
2.3. Poids des adultes sur trois substrats alimentaires	24
2.4. Etude du paramètre de longévité des adultes.....	24
2.5. Etude de quelques paramètres de reproduction sur trois substrats alimentaires.....	25
2.5.1. La fécondité.....	25
2.5.2. Taux de survie post-embryonnaire et sex-ratio	25
3. Analyse statistique	26
4. Résultats.....	26
4.1. Le cycle de développement de <i>T. confusum</i> sur trois substrats alimentaires	26
4.2. Poids des individus sur les trois substrats alimentaires	28
4.3. Longévité des adultes	29
4.4. Paramètres de reproduction	30
4.4.1. La fécondité.....	30
4.4.1.1. Fécondité de <i>T. confusum</i> sur la semoule et la farine de blé	30
4.4.1.1.1. Taux de survie embryonnaire.....	30
4.4.1.2. Fécondité de <i>T. confusum</i> sur les grains de blé concassés.....	31
4.4.2. Taux de survie post-embryonnaire et sex-ratio	32
5. Discussion.....	32

Chapitre IV. Tests de toxicité avec les huiles essentielles

1. Introduction.....	36
2. Matériels et méthodes	37
2.1. Matériel animal.....	37
2.2. Matériel végétal	37
2.2.1. Description des espèces de plantes testées.....	38
2.2.1.1. <i>L. spica</i>	38
2.2.1.2. <i>T. satureioides</i>	39
2.2.1.3. <i>R. officinalis</i>	39
2.2.1.4. <i>M. communis</i>	40
2.2.1.5. <i>E. caryophyllata</i>	40

2.2.1.6. <i>E. globulus</i>	41
2.2.2. Présentation des monoterpènes testés	42
2.2.2.1. Linalool.....	42
2.2.2.2. Eucalyptol.....	42
2.3. Analyse GC-MS des huiles essentielles	43
2.4. Les tests de toxicité par fumigation.....	43
2.5. Effectif des descendants de la première génération.....	44
2.6. Calcul de la CL ₅₀	46
3. Analyse statistique des données.....	46
4. Résultats.....	46
4.1. Résultats de l'analyse chromatographique des huiles essentielles des Lamiacées....	46
4.2. Résultats de l'analyse chromatographique des Myrtacées	48
4.3. Résultats des tests par fumigation sur les œufs de <i>T. confusum</i>	50
4.3.1. Taux de survie post-embryonnaire des œufs traités	53
4.3.2. Détermination de la CL ₅₀ , après 24, dans les traitements des œufs de <i>T. confusum</i>	55
4.4. Résultats des tests par fumigation sur les jeunes larves de <i>T. confusum</i>	56
4.4.1. Taux d'émergence des adultes à partir des jeunes larves traitées	58
4.4.2. Détermination de la CL ₅₀ , après 24h, dans les traitements des jeunes larves de <i>T. confusum</i>	60
4.5. Résultats des tests par fumigation sur les larves âgées de <i>T. confusum</i>	61
4.5.1. Taux d'émergence des adultes à partir des larves âgées traitées.....	63
4.5.2. Détermination de la CL ₅₀ , après 24h, dans les traitements des larves âgées de <i>T. confusum</i>	66
4.6. Résultats des tests par fumigation sur les nymphes de <i>T. confusum</i>	67
4.6.1. Taux d'émergence des adultes sains à partir des nymphes traitées.....	70
4.6.2. Taux de mosaïques et d'adultes malformés après traitement des nymphes	72
4.6.3. Détermination de la CL ₅₀ , après 24h, dans les traitements des nymphes de <i>T. confusum</i>	77
4.7. Résultats des tests par fumigation sur les adultes de <i>T. confusum</i>	78
4.7.1. Détermination de la CL ₅₀ , après 24h, dans les traitements des adultes de <i>T. confusum</i>	81
5. Discussion	82
5.1. Discussion des résultats de l'analyse GC/MS des huiles essentielles	82
5.2. Discussion des résultats des tests de fumigation sur les différents stades de développement de <i>T. confusum</i>	85
6. Conclusion	91

Chapitre V. Comportement de *T. confusum* en réponse aux stimuli olfactifs

1. Introduction.....	92
2. Matériels et méthodes	93
2.1. Insectes	93
2.2. Huile essentielle et composés	94
2.3. Test en olfactomètre	94
2.3.1. Design expérimental pour tests avec les odeurs individuelles	96
2.3.1.1. Expérience 1 : Effets répulsifs de l'huile essentielle de la lavande et du linalool.....	96
2.3.1.2. Expérience 2 : Attraction de <i>T. confusum</i> par les conspécifiques et par le 1-tétradécène.....	96
2.3.2. Design expérimental pour tests avec les odeurs combinées.....	97
2.3.2.1. Expérience 3 : Effets de la pré-exposition des insectes à la lavande aspic sur l'attractivité de la phéromone d'agrégation.....	97
2.3.2.2. Expérience 4 : Effets d'application simultanée de stimuli répulsifs et attractifs.....	97
3. Analyse statistique des données.....	99
4. Résultats	99
4.1. Expérience 1 : effets répulsifs de la lavande et du linalool	99
4.2. Expérience 2 : attraction de <i>T. confusum</i> par les conspécifiques et le 1-tétradécène.....	101
4.3. Expérience 3 : effets de la pré-exposition des insectes à la lavande aspic sur l'attraction de la phéromone d'agrégation.....	102
4.4. Expérience 4 : effets de l'application simultanée de stimuli répulsifs et attractifs .	103
5. Discussion	105
6. Conclusion	107
Conclusion générale	108
Références bibliographiques	112

Annexes

Publications

Liste des figures

Figure 1. Les œufs de <i>T. confusum</i> enrobés de particules de farine (G: 40×2).....	6
Figure 2. Les larves de <i>T. confusum</i> (G: 20×2).....	7
Figure 3. Les nymphes de <i>T.confusum</i> (G: 20×2).....	7
Figure 4. Extrémité abdominale de deux nymphes femelle (a) et mâle (b) de <i>T. confusum</i> indiquant les urogomphes (flèche bleue), les cornes et la protubérance (flèche rouge) (G: 40×6,5)	8
Figure 5. L'imago de <i>T. confusum</i> vue ventrale (a) et vue dorsale (b) (G: 40×2).....	8
Figure 6. Dégâts de <i>T. confusum</i> sur la semoule.....	11
Figure 7. Schéma de l'appareil de CPG	17
Figure 8. Unité isoprène	18
Figure 9. Exemples de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles	19
Figure 10. Exemples de structures de sesquiterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles.....	19
Figure 11. Diterpènes acyclique (a) et mono cyclique (b)	20
Figure 12. Les composés aromatiques des huiles essentielles	20
Figure 13. Elevage de masse de <i>T. confusum</i>	23
Figure 14. Poids moyens en mg (\pm écart-type) des femelles et des mâles de <i>T. confusum</i> en fonction du substrat alimentaire	28
Figure 15. Nombre d'œufs moyen pondus par les femelles de <i>T. confusum</i> pendant un mois sur deux substrats alimentaires.....	30
Figure 16. Nombre de larves issues des œufs pondus par les femelles de <i>T. confusum</i> durant un mois sur les grains de blé concassés.....	31
Figure 17. <i>L. angustifolia</i>	38
Figure 18. <i>T. satureioides</i>	39
Figure 19. <i>R. officinalis</i>	40
Figure 20. Le fruit de <i>M. communis</i>	40
Figure 21. Les clous de girofle mûres	41
Figure 22. <i>E. globulus</i>	42

Figure 23. Structure chimique du linalool (a) et de l'eucalyptol (b).....	42
Figure 24. Dispositif expérimental du test de fumigation sur les œufs (a), les jeunes larves (b), les nymphes (c), les larves âgées (d) et les adultes (e) de <i>T. confusum</i>	45
Figure 25. Taux de mortalité corrigée (moyenne \pm SEM) des œufs de <i>T. confusum</i> traités par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes	52
Figure 26. Taux de survie post-embryonnaire (moyenne \pm SEM) des œufs de <i>T. confusum</i> traités par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes	54
Figure 27. Taux de mortalité moyen corrigé (moyenne \pm SEM) des œufs de <i>T. confusum</i> traités par fumigation avec <i>E. caryophyllata</i> (a) et le linalool (b), après 24h.....	55
Figure 28. Taux de mortalité moyen (moyenne \pm SEM) des jeunes larves de <i>T. confusum</i> traités par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.	57
Figure 29. Taux d'émergence (moyenne \pm SEM) des adultes de <i>T. confusum</i> à partir des jeunes larves traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.....	59
Figure 30. Taux de mortalité moyen (moyenne \pm SEM) des jeunes larves de <i>T. confusum</i> traitées par fumigation avec <i>L. spica</i> (a), <i>T. satureioides</i> (b), <i>E. globulus</i> (c), <i>M. communis</i> (d), <i>E. caryophyllata</i> (e) et linalool (f), après 24h.	60
Figure 31. Taux de mortalité moyen (moyenne \pm SEM) des larves âgées de <i>T. confusum</i> traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes	62
Figure 32. Taux d'émergence (moyenne \pm SEM) des adultes de <i>T. confusum</i> à partir des larves âgées traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes	65
Figure 33. Taux de mortalité moyen (moyenne \pm SEM) des larves âgées de <i>T. confusum</i> traitées par fumigation avec <i>R. officinalis</i> (a), <i>E. globulus</i> (b) et l'eucalyptol (c), après 24h.....	66
Figure 34. Taux de mortalité moyen (moyenne \pm SEM) des nymphes de <i>T. confusum</i> traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes	69
Figure 35. Taux d'émergence (moyenne \pm SEM) des adultes de <i>T. confusum</i> à partir des nymphes traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.....	71
Figure 36. Mosaïques : (a) : vue ventrale, (b) : vue latérale.....	72
Figure 37. Les adultes de <i>T. confusum</i> malformés, en particulier les élytres, suite aux traitements par les huiles essentielles et monoterpènes.....	73
Figure 38. Taux de mosaïques obtenus après le traitement des nymphes de <i>T. confusum</i> par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes	74
Figure 39. Taux de malformation chez les adultes de <i>T. confusum</i> émergés à partir des nymphes traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes	76

Figure 40. Taux de mortalité moyen (moyenne±SEM) des nymphes de <i>T. confusum</i> traitées par fumigation avec <i>L. spica</i> (a), <i>R. officinalis</i> (b), <i>E. globulus</i> (c), <i>M. communis</i> (d) et l'eucalyptol (e), après 24h.....	77
Figure 41. Taux de mortalité moyen (moyenne ±SEM) des adultes de <i>T. confusum</i> traités par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.....	80
Figure 42. Taux de mortalité moyen (moyenne±SEM) des adultes de <i>T. confusum</i> traités par fumigation avec <i>L. spica</i> (a), <i>R. officinalis</i> (b), <i>E. globulus</i> (c), <i>M. communis</i> (d) et l'eucalyptol (e), après 24h.....	81
Figure 43. Olfactomètre à 4 voies placé dans une cage en bois.....	95
Figure 44. Olfactomètre à 4 voies.....	95
Figure 45. Stimuli dans des tubes de silicone introduits dans des seringues.....	96
Figure 46. Stimuli dans des tubes de silicone introduits dans des seringues.....	97
Figure 47. Stimuli dans des pipettes Pasteur qui seront placées dans des seringues.....	98
Figure 48. Effet comportemental de l'huile essentielle de lavande aspic (A) et du linalool (B) sur les adultes de <i>T. confusum</i> . Moyenne ± SEM; n=30-32 individus par dose/témoin. Temps (s) est le temps moyen passé dans les zones traitées et témoins de l'olfactomètre à 4 voies .100	
Figure 49. Effet comportemental du nombre de conspécifiques (A) et de différentes doses de 1-tétradécène (B) sur les adultes de <i>T. confusum</i> . Moyenne±SEM; n=30-36 individus par dose/témoin. Temps (s) est le temps moyen passé dans les zones traitées et témoins de l'olfactomètre à 4 voies.....	101
Figure 50. Effet de la pré-exposition à l'huile essentielle de lavande aspic sur l'attraction des adultes de <i>T. confusum</i> par 5 conspécifiques ou du 1-tétradécène. Moyenne±SEM; n=30-36 par dose/témoin. Temps (s) est le temps moyen passé dans les zones traitées et témoins de l'olfactomètre à 4 voies.....	102
Figure 51. Effet comportemental de l'application simultanée de différentes doses (A) de l'huile essentielle de <i>L. spica</i> et de la présence de cinq conspécifiques, (B) du linalool et de cinq congénères, et (C) de l'huile essentielle de <i>L. spica</i> et du 1-tétradécène sur les adultes de <i>T. confusum</i> . Moyenne±SEM; n= 30-36 par dose/témoin. Temps (s) est le temps moyen passé dans les zones traitées et témoins de l'olfactomètre à 4 voies.....	104

Liste des tableaux

Tableau 1. Durée des différentes phases du cycle de vie de <i>T. confusum</i> (en jours) sur trois substrats alimentaires	27
Tableau 2. Longévité moyenne en semaines (\pm écart-type) de <i>T. confusum</i> en population mixte selon la nature de substrat ($n_{\text{♀}}=50$ et $n_{\text{♂}}=50$)	29
Tableau 3. Le taux d'éclosion des œufs de <i>T. confusum</i> élevé sur la farine et la semoule	31
Tableau 4. Comparaison de la fertilité (\pm écart-type) et du sex-ratio de <i>T. confusum</i> en fonction de la nature du substrat	32
Tableau 5. Les espèces végétales dont les huiles essentielles sont issues	37
Tableau 6. La composition chimique (%) des huiles essentielles des Lamiacées testées. Les composés majeurs sont indiqués en gras. TR : temps de rétention en minutes.....	47
Tableau 7. La composition chimique (%) des huiles essentielles des Myrtacées testées. Les composés majeurs sont indiqués en gras. TR : temps de rétention en minutes.....	49
Tableau 8. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'efficacité des 8 traitements sur les œufs de <i>T. confusum</i>	51
Tableau 9. Résultats du test de Newman et Keuls sur l'action des 8 traitements sur le taux de survie post-embryonnaire des œufs traités de <i>T. confusum</i>	53
Tableau 10. Les valeurs de la CL_{50} des différents traitements à l'égard des œufs de <i>T. confusum</i>	55
Tableau 11. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'efficacité des 8 traitements sur les jeunes larves de <i>T. confusum</i>	56
Tableau 12. Résultats du test de Newman et Keuls sur l'action des 8 traitements sur l'émergence des adultes à partir des jeunes larves traitées de <i>T. confusum</i>	58
Tableau 13. Les valeurs de la CL_{50} des différents traitements à l'égard des jeunes larves de <i>T. confusum</i>	61
Tableau 14. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'efficacité des 8 traitements sur les larves âgées de <i>T. confusum</i>	63
Tableau 15. Résultats du test de Newman et Keuls sur l'action des 8 traitements sur l'émergence des adultes à partir des larves âgées de <i>T. confusum</i> traitées	64
Tableau 16. Les valeurs de la CL_{50} des différents traitements à l'égard des larves âgées de <i>T. confusum</i>	67
Tableau 17. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'efficacité des 8 traitements sur les nymphes de <i>T. confusum</i>	68

Tableau 18. Résultats du test de Newman et Keuls sur l'action des 8 traitements sur l'émergence des adultes à partir des nymphes traitées de <i>T. confusum</i>	72
Tableau 19. Les valeurs de la CL ₅₀ des différents traitements à l'égard des nymphes de <i>T. confusum</i>	78
Tableau 20. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'efficacité des 8 traitements sur les adultes de <i>T. confusum</i>	79
Tableau 21. Les valeurs de la CL ₅₀ des différents traitements à l'égard des adultes de <i>T. confusum</i>	82
Tableau 22. Aperçu du design expérimental et de l'analyse statistique des tests olfactométriques (tests t appariés pour la répulsion). PE, pré-exposition.....	98

Introduction générale

Les céréales et leurs dérivés constituent l'alimentation de base dans beaucoup de pays en développement, particulièrement dans les pays maghrébins. En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (Djermoun, 2009). En effet, la superficie consacrée à la céréaliculture est très importante, pour l'année 2018, elle est de l'ordre de 3 385 560 hectares avec une production estimée à 41 millions de quintaux (Righi et al., 2019). Cependant, la production de céréales est confrontée à des contraintes d'ordre pédoclimatique, socio-économique et biotique (Djermoun, 2009; Waongo et al., 2013; Kara et al., 2020). Les efforts déployés en matière de développement de la céréaliculture et l'amélioration de la production demeurent insuffisants sans une bonne conservation post-récolte (Cissokho et al., 2015; Aoues et al., 2017).

Le stockage constitue la phase essentielle du système post-récolte qui sépare les récoltes de leur utilisation pour la consommation directe ou la première transformation (Cruz et Diop, 1989). Pendant cette phase, les denrées stockées peuvent subir des pertes parfois importantes causées par les insectes, les micro-organismes (principalement les champignons et les bactéries), les acariens, les rongeurs et les oiseaux (Chomchalow, 2003), mais Ngamo et al. (2007) stipulent que les dégâts occasionnés par les insectes ravageurs sont les plus importants et peuvent causer la perte totale d'un stock. D'après Tefera et al. (2011), dans les pays en développement, ces pertes post-récoltes dues aux insectes nuisibles et aux agents pathogènes sont de 20 à 30%. Lors des études sur les pertes dans les systèmes traditionnels de stockage du maïs au Togo, Pantenius (1988) a observé que les insectes étaient responsables de 80 à 90% des pertes. Dans les pays européens, la présence d'insectes ou de leurs fragments dans les denrées alimentaires est intolérable par les consommateurs et peut entraîner une perte sérieuse de la valeur marchande des denrées (Trematerra et al., 2011). L'action des insectes est aggravée par les conditions climatiques favorables à leur développement et à l'inapplication de techniques de stockage appropriées. Selon Guèye et al. (2011), les attaques peuvent commencer aux champs ou intervenir uniquement dans les stocks.

Les insectes ravageurs s'attaquant aux denrées entreposées appartiennent généralement à l'ordre des Coléoptères et des Lépidoptères (Waongo et al., 2013; Cissokho et al., 2015). Ces insectes se classent en insectes ravageurs primaires qui sont capables de casser l'enveloppe dure des grains (*Trogoderma* spp., *Sitophilus* spp., et *Rhyzopertha dominica*) et en insectes ravageurs secondaires qui s'attaquent uniquement aux grains endommagés et farine (*Oryzaephilus*, *Cryptolestes*, *Cadra* et *Tribolium* spp.) (Lee et al., 2002).

Parmi les insectes ravageurs secondaires, les *Tribolium* spp. sont les ravageurs les plus abondants dans le monde. Ces coléoptères causent des dommages considérables aussi bien à l'état larvaire qu'à l'état adulte, entraînant des pertes économiques élevées (Olsson et al., 2006).

Tribolium confusum est l'un des principaux insectes présents dans les grains de céréales et dérivés. Cet insecte infeste surtout les moulins, les silos et entrepôts de stockage, en s'alimentant et en contaminant les denrées par leurs excréments, les mues, les cadavres, ainsi que les composés volatils émis, responsables de la mauvaise odeur des denrées infestées (Timothy, 2009). Les adultes de *T. confusum* perçoivent les stimuli environnementaux qui peuvent être attractifs ou répulsifs à travers leurs organes chimiosensoriels. L'olfaction ou la détection des odeurs est une modalité sensorielle primordiale chez les insectes, car elle les conduit à des sources de nourriture, à la rencontre des individus conspécifiques lors de l'accouplement et du regroupement pour mieux exploiter des ressources (les phéromones d'agrégation), à la localisation des prédateurs et d'un environnement défavorable, voir toxique (Alabi et al., 2014).

L'utilisation d'insecticides par fumigation reste l'une des méthodes de lutte les plus efficaces pour protéger les denrées entreposées contre les infestations d'insectes ravageurs (Shaaya et al., 1997; Nattudurai et al., 2012). Certains insecticides, tels que la phosphine et le sulfuryl fluoride, sont utilisés dans la lutte contre les insectes ravageurs des denrées stockées (Lienard and Seck, 1994; Arthur, 1996; Campbell et al., 2010). Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces insecticides a provoqué une contamination de la chaîne alimentaire et l'apparition d'insectes résistants (Bounechada et Arab, 2011). La résistance des insectes aux pesticides de synthèse est l'un des principaux méfaits de l'application répétée des produits chimiques contre les ravageurs. Au Brésil, des populations de *Tribolium castaneum*, par exemple, ont montré un fort degré de tolérance à la phosphine. Cette résistance s'explique par la capacité de ces insectes à réduire leur taux de respiration (Pimentel et al., 2008). Il est donc nécessaire de trouver des stratégies de protection alternatives naturelles et saines pour réduire l'application des insecticides.

La recherche des méthodes alternatives de protection des denrées par l'usage des biopesticides d'origine végétale se présente aujourd'hui comme une alternative prometteuse. L'usage des plantes indigènes dans la conservation des récoltes a été pratiqué avant même l'apparition des insecticides de synthèse, certains paysans africains utilisent des

plantes à effet insecticide pour protéger les denrées alimentaires en stockage (Ndomo et al., 2009; Guèye et al., 2011). Afin de limiter les attaques dues aux larves de la bruche *Acanthoscelides obtectus*, les petits producteurs avaient coutume, par le passé, de mettre dans les sacs de grains de haricots des plantes odorantes comme la menthe, l'ail ou le laurier (Regnault-Roger, 2011).

Les biopesticides formulés à partir des huiles essentielles des plantes aromatiques constituent une piste sérieuse (Regnault-Roger, 1997; Al-Jabr, 2006; Ngamo et Hance, 2007). L'efficacité des huiles essentielles contre les insectes des denrées stockées a été démontrée par les travaux de nombreux chercheurs (Kellouche and Soltani, 2004; Stamopoulos et al., 2007; Kellouche et al., 2010; Haouas et al., 2012; Regnault-Roger et al., 2012; Hedjal-Chehheb et al., 2013; Toudert-Taleb et al., 2014; Bounoua-Fraoucene et al., 2019; Kheloul et al., 2020).

Les huiles essentielles sont des composés naturels, odorants, complexes et volatils. Elles ont été largement utilisées pour leurs propriétés bactéricides, virucides, fongicides, antiparasitaires, insecticides, médicinales et cosmétiques (Bakkali et al., 2008). Plus de 2000 espèces de plantes appartenant à 60 familles botaniques sont connues pour leurs propriétés insecticides. Ces huiles peuvent agir comme fumigants, insecticides de contact, répulsifs, anti-nutritionnels, et peuvent également affecter la reproduction chez les insectes (Ebadollahi et Sendi, 2015). Les monoterpènes sont les principaux constituants de nombreuses huiles essentielles, il a été démontré qu'ils possèdent une activité insecticide et causent la mort des insectes en inhibant l'activité de l'acétylcholinestérase au niveau du système nerveux (Houghton et al., 2006). Les huiles essentielles et leurs métabolites secondaires sont des alternatives potentielles aux fumigants de synthèse, car ils ne laissent pas de résidus toxiques dans la nature et ils ont une faible toxicité pour les mammifères et l'homme (Isman, 2000; Rozman et al., 2007).

Notre travail de thèse s'inscrit dans la recherche de moyens de lutte naturels contre un redoutable insecte ravageur des grains stockés, *T. confusum*, par l'utilisation des huiles essentielles et des monoterpènes. A cet effet, nous nous sommes proposés d'étudier dans un premier temps, la biologie du coléoptère sur différents substrats alimentaires et ceci dans le but de mieux le combattre.

En deuxième lieu, nous avons réalisé des essais toxicologiques par fumigation avec quelques huiles essentielles de la famille des Lamiacées et des Myrtacées ainsi que des essais avec deux monoterpènes, l'eucalyptol et le linalool, qui sont les composés majoritaires de certaines huiles testées, afin de déterminer la toxicité de ces molécules contre différents stades de développement de l'insecte dans les conditions de laboratoire. Il s'agit d'identifier des substances potentiellement utilisables dans la lutte contre *T. confusum* et aussi de déterminer si nos traitements affectent tous les stades testés et si il y'a une différence entre l'effet toxique de l'huile essentielle et de son composé majoritaire.

Et en dernier lieu, nous avons étudié le comportement de l'insecte en réponse aux effets de l'huile essentielle de *Lavandula spica* à des doses sublétales, à son composé majoritaire, le linalool, ainsi qu'aux phéromones d'agrégation, par l'utilisation d'un olfactomètre à 4 voies afin de déterminer l'attractivité et la répulsivité de ces molécules bioactives. De plus, nous avons examiné les effets d'interaction entre des signaux répulsifs d'origine végétale (*L. spica* et linalool) et les signaux attractifs intraspécifiques chez *T. confusum*.

La thèse est organisée en cinq chapitres dont les deux premiers portent respectivement sur une revue bibliographique relative à l'insecte ravageur et aux huiles essentielles. Le chapitre 3 est consacré à l'étude de la biologie de *T. confusum* sur trois substrats alimentaires. Dans le chapitre 4, nous avons étudié la toxicité de plusieurs huiles essentielles et de deux monoterpènes sur les différents stades de développement de *T. confusum*. Le chapitre 5 est consacré à l'étude du comportement de *T. confusum* en réponse aux stimuli olfactifs. Nous clôturons ce travail de recherche par une conclusion générale et des perspectives.

Partie bibliographique

Chapitre I : L'insecte modèle :
Tribolium confusum

1. Introduction

Les Tenebrionidae constituent l'une des plus vastes familles du règne animal, comprenant plus de 15000 espèces décrites dont environ 600 sont associées aux produits stockés (Singh et Prakash, 2015). Le régime alimentaire des Tenebrionidae, bien qu'assez varié, est avant tout saprophage, mais les régimes carnivores ou nécrophages sont également relativement courants au sein de la famille (Delobel et Tran, 1993). Les *Tribolium* appartiennent à la famille des Tenebrionidae, ils sont parmi les plus importants ravageurs des produits stockés (Rees, 2004).

Le genre *Tribolium* inclut 36 espèces décrites qui sont réparties dans cinq groupes en fonction de leur distribution géographique et de quelques caractères morphologiques. Le groupe *castaneum* inclut 10 espèces distribuées à travers le sud et le sud-est de l'Asie, le groupe *myrmecophilum* connu d'Australie avec seulement deux espèces, le groupe *confusum* d'Afrique contient 14 espèces, le groupe *alcine* comprenant trois espèces endémiques au Madagascar et en dernier lieu, le groupe *brevicornis* qui se trouve au nord et au sud de l'Amérique avec 7 espèces (Angelini et Jockusch, 2008). Selon les mêmes auteurs, seulement 10 espèces de *Tribolium* sont connues pour coloniser les denrées entreposées. Par contre, Balachowsky (1962), Watt (1974) et Rees (2004) rapportent que les deux espèces du genre *Tribolium* qui causent les dégâts les plus importants aux denrées stockées sont *Tribolium confusum* et *Tribolium castaneum*.

2. Présentation de l'espèce modèle *Tribolium confusum*

2.1. Position systématique

T. confusum est un insecte ravageur secondaire incapable de casser l'enveloppe dure des grains entiers, cet insecte s'attaque principalement à la farine, la semoule et aux grains endommagés par d'autres insectes ou par la récolte mécanique (Özkaya et al., 2009). Selon Watt (1992), Soldati et Soldati (2003), *T. confusum* est classée comme suit :

Embranchement :	Arthropoda
Sous-embranchement :	Hexapoda
Classe :	Insecta
Ordre :	Coleoptera
Famille :	Tenebrionidae
Sous-famille :	Tenebrioninae
Tribu :	Triboliini
Genre :	<i>Tribolium</i>
Espèce:	<i>Tribolium confusum</i> (Duval, 1868)

2.2. Origine et répartition géographique

Selon Dawson (1977), *T. confusum* est une espèce d'origine africaine probablement d'Ethiopie, quant à *T. castaneum*, elle est originaire d'Inde. Ces espèces sont devenues cosmopolites par le commerce. Les *Tribolium* ont longtemps été associés à des produits stockés, comme en témoignent les restes de *T. confusum* trouvés dans des jarres contenant de la farine et des grains de céréales, dans un tombeau égyptien, il y'a environ 2500 ans avant Jésus-Christ (Good, 1936; Chaddick et Filce Leek, 1972; Rees, 2004).

Delobel et Tran (1993) rapportent qu'en dehors des lieux de stockage, *T. confusum* est occasionnellement rencontrée sous les écorces des arbres où il se nourrirait de coléoptères xylophages, des Bostrichidae, ainsi que dans les nids d'abeilles sauvages. Ces insectes ont réussi à coloniser les stocks grâce à une plasticité phénotypique considérable leur permettant de s'adapter aux variations de l'environnement (Fedina et Lewis, 2008; Lewis et al., 2012).

2.3. Description des différents stades de développement de l'insecte

2.3.1. Les œufs (fig. 1)

Les œufs sont de couleur blanchâtre, presque transparente, de forme oblongue, très petit environ 0,60 mm de longueur et 0,35 mm de largeur. Au moment de la ponte, ils sont recouverts d'une substance visqueuse qui leur permet d'adhérer aux petites particules, ce qui les rend difficiles à distinguer dans la farine (Good, 1936). Les œufs sont pondus individuellement et dispersés dans la farine, mais peuvent être fixés sur la face interne d'un récipient (Good, 1933).



Figure 1. Les œufs de *T. confusum* enrobés de particules de farine (G: 40×2) (© L. Kheloul)

2.3.2. Les larves (fig.2)

La jeune larve (L1) de 1mm environ, d'abord de couleur blanche, devient progressivement jaune. Elle est très allongée, de forme cylindrique et presque glabre. Elle possède une paire de prolongements abdominaux appelés urogomphes et trois paires de pattes, leur corps est couvert de nombreuses soies. Les larves subissent 7 à 8 mues au fur et à mesure qu'elles se développent. A l'achèvement de leur croissance, les larves âgées atteignent environ 6 à 7 mm de long, elles perdent progressivement leur mobilité et se transforment en nymphes (Fleurat-Lessard, 1982).



Figure 2. Les larves de *T. confusum* (G: 20×2) (© L. Kheloul)

2.3.3. Les nymphes (fig.3)

Une fois formée, la nymphe est de couleur blanche ou semi-translucide, mais peu de temps après, les segments thoraciques et abdominaux deviennent plus distincts et prennent plus tard une couleur crème pâle. La nymphe est immobile et mesure environ 3,6- 4,6 mm de long. Les pattes, les pointes des mandibules et les urogomphes prennent une couleur brun foncé, lorsque les pupes sont presque matures (Ho, 1969).



Figure 3. Les nymphes de *T.confusum* (G: 20×2) (© L. Kheloul)

Le sexe des adultes de *T. confusum* peut être déterminé au stade nymphal. La nymphe femelle possède à la face ventrale, au dessus de la paire d'urogomphes à extrémité très aigüe et brun foncé, deux petites cornes qui, chez le mâle se réduisent à une légère protubérance déprimée au centre (figure 4) (Brown et al., 2009; Shukla et Palli, 2012).

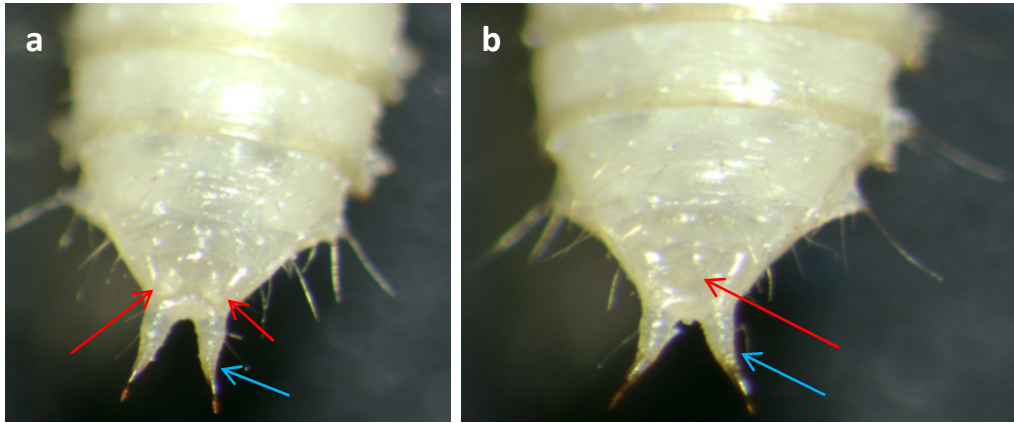


Figure 4. Extrémité abdominale de deux nymphes femelle (a) et mâle (b) de *T. confusum* indiquant les urogomphes (flèche bleue), les cornes et la protubérance (flèche rouge) (G: 40×6,5) (© L. Kheloul).

2.3.4. L'imago (fig.5)

A son émergence, l'imago est de couleur brun clair, la pigmentation du corps augmente rapidement au cours des premières 24 heures (Soliman, 1987). *T. confusum* est une espèce de couleur brun-rouge mesurant moins de 4 mm, à intervalles des élytres nettement peu carénés, non costiformes ventralement, l'espace interoculaire très large, de 2,5 fois la largeur de l'œil, le canthus des joues très saillant au-dessus des yeux, la ponctuation du pronotum fine et espacée, non réticulée latéralement, les antennes sans véritable massue, progressivement épaissies vers l'extrémité (Calmont et Soldati, 2008).

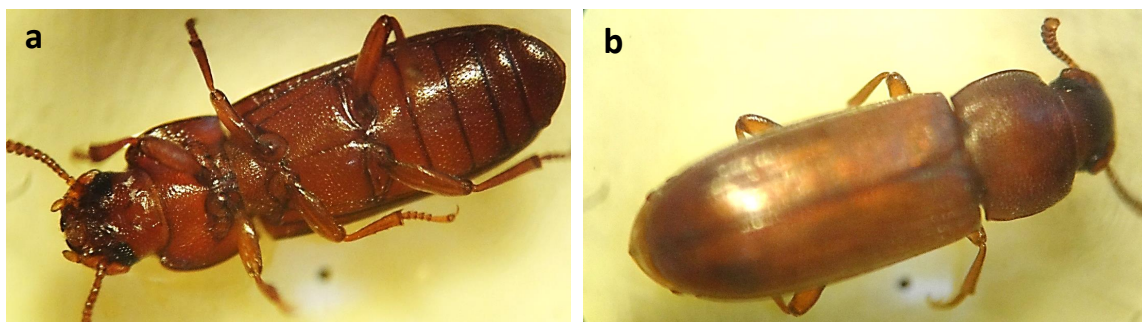


Figure 5. L'imago de *T. confusum* vue ventrale (a) et vue dorsale (b) (G: 40×2) (© L. Kheloul)

T. confusum possède des ailes membranaires bien développées, mais elle n'a jamais été vue voler, contrairement à *T. castaneum* qui est une bonne voilière (Robinson, 2005). Une étude récente a montré que la plupart des vols de *T. castaneum* se produisent au crépuscule, à partir d'une ressource abondante de bonne qualité qui répond à toutes les exigences individuelle et de la population (Rafter et al., 2019).

T. confusum est très proche morphologiquement de *T. castaneum*, cependant certains détails permettent une séparation des deux espèces: chez *T. castaneum*, les trois derniers segments antennaires forment une massue distincte, l'espace entre les yeux est relativement plus étroit en vue ventrale, environ 33% de la largeur de la tête (Rees, 2004). Selon Sokoloff et Lerner (1967), lorsque les deux espèces *T. confusum* et *T. castaneum* se trouvent dans le même environnement, ils peuvent coexister mais seulement à une faible densité de population.

Le dimorphisme sexuel chez le *T. confusum* et *T. castaneum* se caractérise par la présence d'une glande sétifère sur la face ventrale du fémur mâle, une structure qui est absente chez la femelle (Hinton 1942; Faustini et al., 1981; Bousquet 1990). Hinton (1942) souligne que chez *T. confusum*, cette structure très petite (0,03mm) est difficilement observable et que l'utilisation de ce critère d'identification pour le sexage d'un grand nombre d'individus n'est pas praticable.

2.4. La biologie de l'insecte

Les *Tribolium* sont des insectes holométaboles qui passent par une métamorphose complète durant laquelle les stades immatures ne ressemblent pas au stade adulte (Shanholtzer et Lumsden, 2012). D'après Dawson (1964), les adultes de *T. confusum* peuvent commencer à s'accoupler de 17 à 20 heures après leur émergence. L'accouplement se produit fréquemment à des moments différents de la journée (Stanley et Grundmann, 1965) et la copulation dure de 1 à 2 minutes (Wojcik, 1969). La femelle commence à pondre des œufs fertiles, 114 à 126 heures après la fécondation (Dawson, 1964). Chaque femelle peut pondre, en moyenne, 150-600 œufs (jusqu'à 900 enregistrés), à une température de 25 ° C et 32 ° C, respectivement; la femelle pond 2-11 œufs par jour pendant plusieurs mois et l'éclosion nécessite 2 à 3 jours sous les conditions optimales de température 35° C et 75% d'humidité relative (Hill, 2002).

La durée du stade larvaire est environ 15 à 20 jours et le nombre de stades larvaires varie de 6 à 11, mais il est généralement de 8. L'émergence des adultes a lieu environ 5 à 7 jours après la nymphose (Mueller et Joshi, 2000). D'après Robinson (2005), les conditions optimales pour le développement de *T. confusum* sont de 32,5° C et 70% d'humidité relative, le cycle est complété en 25 jours.

Il peut y'avoir 5 générations successives par an chez *T. confusum* (Drees et Jackman, 1998). Les adultes vivent pendant 6 mois ou plus (jusqu'à 3 ans), les femelles pondent des œufs pendant plus d'un an, les mâles de *T. confusum*, à 20-27°C, vivent 634 jours et les femelles, 447 jours (Robinson, 2005). Ces insectes manifestent souvent des instincts carnivores et de cannibalisme, surtout si la densité de population est élevée. Les adultes ainsi que les larves âgées consomment principalement les nymphes et les œufs (Sokoloff et al., 1980; Alabi et al., 2008).

2.5. Les ennemis naturels des *Tribolium*

Good (1936) a signalé une coccidie du genre *Adelina* qui affecte seulement les larves, les pupes et les adultes de *T. confusum* et *T. castaneum*. En quelques mois seulement, la maladie peut exterminer une culture entière de *Tribolium*. Le même auteur a signalé deux acariens : *Acarophenax tribolii* qui s'attaque beaucoup plus aux adultes, mais infeste également les œufs et les stades larvaires et *Pediculoides ventricosus* qui s'attaque aux adultes et parfois aux stades immatures de *Tribolium*. L'auteur signale également deux hyménoptères parasites de la famille des Bethyilidae, *Rhabdepyris zea* et *Sclerodermus immigrans* et un coléoptère, *Tenebroides mauritanicus*, dont les adultes s'attaquent aux larves de *Tribolium*.

3. Dégâts causés par *T. confusum*

Selon Brette (2001), *T. confusum* est nuisible aussi bien à l'état larvaire qu'à l'état adulte. Les larves et les adultes souillent complètement la denrée par leurs excréments, les exuvies des mues larvaires ainsi que les fragments d'insectes (figure 6). Cet insecte peut également provoquer des réactions allergiques (Alanko et al., 2000). Les denrées contaminées prennent une odeur désagréable et une coloration rosâtre qui proviennent des quinones sécrétées par les glandes abdominales des adultes (Lis et al., 2011).

T. confusum est une espèce polyphage, qui se nourrit de céréales, de farine, d'haricots, d'épices, de pâtes et de nombreux autres produits. Les denrées ainsi contaminées créent des conditions favorables à la croissance des moisissures, ce qui diminue leur valeur nutritive et par conséquent entraîne des pertes économiques majeures (Nowaczyk et al., 2009).

Il a été estimé que les pertes économiques causées par les ravageurs des produits stockés peuvent varier de 1,25 à 2,5 milliards de dollars par an aux États-Unis (Flinn et al., 2007). *T. confusum* diminue également le taux de germination en se nourrissant du germe de blé et de l'endosperme (White et Demianyk, 1996).

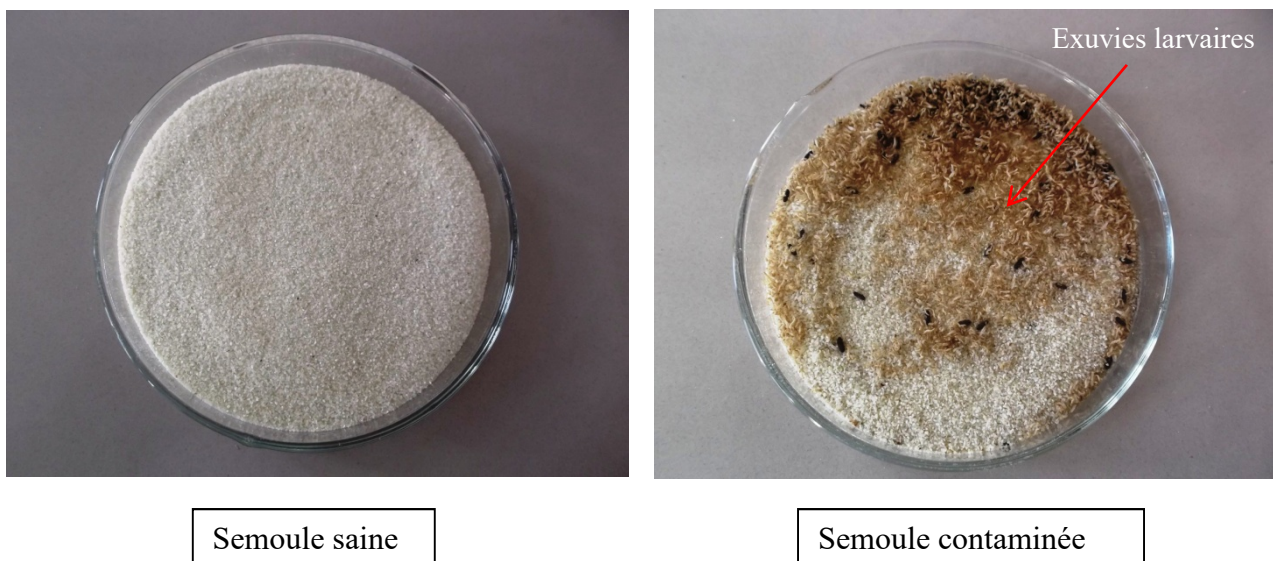


Figure 6. Dégâts de *T. confusum* sur la semoule (© L. Kheloul)

4. Lutte

Face à l'ampleur des dégâts causés par ces coléoptères, plusieurs méthodes de lutte sont utilisées pour maintenir le niveau des attaques à un seuil économiquement acceptable. La maîtrise de la prolifération des insectes lors du stockage passe par un ensemble de méthodes de lutte préventive et curative.

D'après Longstaff (1994), une aération bien contrôlée et une hygiène efficace permettent de réduire les problèmes liés aux ravageurs des grains stockés. Une fois qu'un silo de grains a été vidé, les infestations résiduelles doivent être éliminées avant une nouvelle réception de grains. De plus, la détection des infestations par les insectes dans les structures de stockage est cruciale dans la gestion des produits stockés et ceci par l'utilisation de plusieurs techniques comme l'échantillonnage manuel, les pièges, le tamisage, les rayons X, etc (Kumar, 2017).

La sélection de variétés résistantes est une méthode de lutte très intéressante dans le but de limiter les pertes. Sur 15 variétés de blé testées, seule la variété Barani-70 s'est montrée résistante à l'égard de *T. castaneum* (Ali et al., 2011).

La lutte chimique reste la méthode la plus fréquemment utilisée. Les insecticides disponibles pour le stockage des grains sont les produits chimiques de contact et les fumigants (Mohapatra et al., 2015). La fumigation est l'une des méthodes les plus efficaces dans lesquelles les insectes nuisibles sont exposés à un environnement gazeux toxique (Upadhyay et Ahmad, 2011). Le gaz a la capacité de pénétrer profondément à l'intérieur des grains et tue tous les insectes, même les formes cachées comme les larves, nymphes et adultes pré-émergents (Mohapatra et al., 2015). Après le retrait du bromure de méthyle au niveau mondial, en raison de sa nocivité à l'égard de la couche d'ozone et l'homme, la phosphine (PH₃) est devenue le fumigant universel de la désinsectisation des lots de grains et graines dans la plupart des pays développés (Bell, 2000). La lutte chimique, malgré son efficacité, se heurte à de nombreux problèmes liés à son coût élevé, aux risques encourus pour la santé humaine et animale, à l'apparition d'insectes résistants, aux résidus laissés dans les denrées et dans l'environnement (Lienard et Seck, 1994).

Des moyens physiques peuvent être également associés à l'usage raisonné des pesticides en tant que mesures préventives complémentaires. Arthur et Puterka (2002) ont démontré l'efficacité de l'utilisation de films de particules à base de Kaolinite pour lutter contre *T. castaneum* et *T. confusum*. De même, Sabbour et Abd El- Aziz (2015) ont démontré au laboratoire, l'efficacité des nanoparticules de la terre de diatomée contre les larves et les adultes de *T. confusum* et de *T. castaneum*.

L'irradiation par des rayons gamma est une méthode de lutte physique utilisée contre de nombreux insectes des denrées ; selon les doses appliquées, elle stérilise ou tue ces ravageurs (Hallman, 2013). Tunçbilek et al. (2003) ont rapporté que les larves et les adultes de *T. castaneum* sont complètement éliminés par irradiation à la dose 100 Gy. De même, Ayvaz et al. (2002) n'ont trouvé aucun adulte de *T. confusum* vivant, 30 jours après une irradiation à la dose 140 Gy.

Par ailleurs, Upadhyay et Ahmad (2011) ont montré qu'un traitement thermique des grains à une température de 55 - 65°C pendant 10 à 12 h peut tuer tous les stades de vie des ravageurs des grains stockés, de même que les basses températures réduisent le développement des insectes et tuent un grand nombre de stades immatures.

Le recours à la méthode de lutte biologique par l'utilisation de parasitoïdes, parasites et prédateurs, est également utilisé comme moyen alternatif à l'usage des pesticides, ce mode de lutte a été particulièrement étudié en Afrique dans le cas de la bruche du niébé. L'introduction d'espèces comme *Dinarmus basalis* (Hymenoptera : Pteromalidae) et *Eupelmus vuilleti* (Hymenoptera : Eupelmidae) dans les greniers a permis de limiter les populations de *Callosobruchus maculatus* au Togo (Guèye et al., 2011).

Abd El-Aziz (2011) rapporte que l'hémiptère *Xylocoris flavipes* est un prédateur cosmopolite de différents insectes ravageurs des denrées stockées à savoir : *T. castaneum*, *T. confusum*, *Crytolestes pusillus*, *Rhyzopertha dominica* et *Trogoderma granarium* et que son introduction dans un entrepôt d'arachide a entraîné la suppression de 90 à 98% de *T. castaneum*. Une autre méthode de contrôle biologique contre les adultes de *T. castaneum* est l'infection de ces derniers par le champignon *Beauveria bassiana*. Une dose de 2×10^8 conidies/g est responsable de 80% de mortalité, après 21 jours de traitement (Rice et Cogburn, 1999).

D'autres méthodes de lutte alternatives aux pesticides ont été utilisées contre les *Tribolium* et consistent en l'utilisation des phéromones dans la surveillance et la détection des infestations dans les grains stockés, et la perturbation de la communication ainsi que de la reproduction ou bien leur piégeage en masse par des appâts (Upadhyay et Ahmad, 2011).

Les IGR (Insect Growth Regulators) ou régulateurs de la croissance des insectes sont utilisés dans le contrôle de différents insectes ravageurs des grains stockés. Deux IGRs, l'hydroprène et le méthoprène, appliqués à des grains de blé et de maïs, à des concentrations allant de 2 à 10 ppm, ont réduit efficacement les populations F1 de *T. confusum* (McGregor et Kramer, 1975). Kellouche et Soltani (2006) ont mis en évidence l'impact d'un autre IGR (l'hexaflumuron) sur le développement et la reproduction de *C. maculatus*.

L'utilisation des biopesticides d'origine végétale est largement adoptée contre les insectes ravageurs des denrées stockées. Ces biopesticides peuvent être utilisés sous forme d'extraits de plantes, de poudre, de cendres, de plantes entières, d'huile végétale ou d'huiles essentielles (Kumar, 2017).

Les huiles essentielles font partie, ces dernières années, des voies les plus explorées dans la régulation des ravageurs, elles sont utilisées pour leurs activités de contact et inhalatoire (Guèye et al., 2011). Khani et Asghari (2012) ont démontré la toxicité par fumigation des huiles essentielles d'*Achillea wilhelmsii* et de *Mentha longifolia* contre *T. castaneum* avec une LC_{50} de 10,02 et 13,05 $\mu\text{l/L}$ d'air, respectivement.

Par ailleurs, l'étude menée par Tripathi et al. (2000) a montré une action toxique, répulsive et inhibitrice de la croissance de l'huile essentielle d'*Artemisia annua* contre deux insectes des denrées stockées, *T. castaneum* et *C. maculatus*. De même, les extraits de plante d'*Ocimum sanctum*, *Cardiospermum halicacabum* et *M. longifolia* ont montré un effet répulsif contre *T. castaneum* (Srinivasan et al., 2014). Abbasipour et al. (2012) ont démontré la toxicité par fumigation de l'huile essentielle de *Cinnamomum zeylanicum* sur *C. maculatus*, *T. castaneum* et *Ephestia kuehniella*, avec des LC_{50} en 24h de 443,17 ; 755,9 et 2,87 $\mu\text{l/L}$, respectivement.

Guèye et al. (2011) soulignent enfin la nécessité d'une gestion intégrée des denrées stockées basée sur la combinaison de plusieurs procédés de lutte afin de circonscrire l'activité des insectes ravageurs.

*Chapitre II : Généralités sur les
huiles essentielles*

1. Introduction

Au cours de l'histoire, de nombreuses civilisations ont utilisé les huiles essentielles et les parfums à des fins diverses, notamment pour des cérémonies religieuses ou comme agents thérapeutiques contre les maladies infectieuses. Les anciens Égyptiens, par exemple, utilisaient les huiles essentielles dans plusieurs domaines, en médecine, en parfumerie et lors de l'embaumement des morts (Ríos, 2016).

En ce qui concerne l'adjectif «essentiels», qui qualifie ces huiles, il nous vient de Paracelse, un chimiste et médecin suisse du XVI^e siècle qui ne voulait extraire de la plante que la partie active. Il voyait dans l'huile essentielle la composante la plus élevée d'une plante, composante apte, selon lui, à entrer en contact et à communiquer avec la partie la plus noble de l'être humain (Buronzo, 2008).

Les huiles essentielles n'existent que chez les végétaux supérieurs avec environ 17 500 espèces aromatiques. Les genres capables de produire des huiles essentielles sont répartis dans un nombre limité de familles, exemple : Apiaceae, Asteraceae, Cupressaceae, Lamiaceae, Lauraceae, Myrtaceae, Piperaceae, Poaceae, Rutaceae, Zingiberaceae, etc (Bruneton, 2009).

2. Définition et caractéristiques

Une huile essentielle est le résultat de la distillation à la vapeur d'eau des plantes ou des arbres aromatiques pour en extraire l'essence. C'est une substance qui ne contient aucun corps gras et est constituée uniquement de molécules aromatiques volatiles. Les huiles essentielles sont liquides, volatiles, odorantes, de couleur très variable selon la partie de la plante qui a servi à la distillation, elles sont solubles dans les solvants organiques et leur densité est en général inférieure à celle de l'eau, à l'exception des huiles essentielles de la cannelle et des clous de girofle qui sont légèrement supérieures à 1 (Huete, 2012).

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux: les fleurs (bergamotier), les feuilles (eucalyptus), dans des écorces (cannelier), des bois (bois de rose, santal), des racines (vétiver), des rhizomes (curcuma, gingembre), des fruits (anis, badiane), des graines (muscade). Si tous les organes d'une même espèce peuvent renfermer une huile essentielle, la composition de cette dernière peut varier selon sa localisation (Bruneton, 2009).

La synthèse et le stockage des huiles essentielles se fait dans des cellules sécrétrices spécifiques. Les cellules sécrétrices sont rarement à l'état isolé, mais le plus souvent regroupées dans des poches (Myrtacées, Rutacées), dans des canaux sécréteurs (Apiacées, Composées) ou dans des poils sécréteurs (Lamiacées). Ces cellules sont le plus souvent à la périphérie des organes extérieurs de la plante (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

Les huiles essentielles jouent un rôle de défense de la plante contre les agressions extérieures en inhibant la multiplication de bactéries et de champignons. Elles peuvent également attirer certains insectes pour favoriser la dispersion des pollens et des graines ou en repousser d'autres indésirables (Bakkali et al., 2008).

3. Extraction des huiles essentielles

En général, les huiles essentielles peuvent être obtenues au moyen de la distillation à la vapeur ou l'hydrodistillation à partir de différentes parties de la plante, y compris la plante entière. Les plantes peuvent être fraîches, partiellement déshydratées ou séchées, mais dans le cas des fleurs, elles doivent être fraîches. D'autres procédés d'obtention d'huiles essentielles comprennent l'expression à froid et l'enfleurage, ainsi que des techniques plus modernes telles l'extraction assistée par les micro-ondes (Li et al., 2014).

D'après Koul et al. (2008), la quantité d'huile essentielle trouvée dans la plupart des plantes est de 1 à 2%, mais elles peuvent contenir des quantités allant de 0,01 à 10%.

Une fois extraite, l'huile essentielle doit être conservée à l'abri de l'air, en présence d'un gaz inerte tel que l'azote, et de la lumière, dans des flacons propres et secs, métalliques (aluminium ou acier inoxydable) ou en verre teinté, à froid (de préférence à +4°C) et ceci pour éviter la formation des produits d'oxydation, notamment les peroxydes (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012).

4. Contrôle chromatographique des huiles essentielles

La méthode d'identification la plus couramment employée, dans l'étude des arômes et des huiles essentielles, fait appel à la chromatographie en phase gazeuse (GC) (Lucaccion et al., 1993). Le rôle du chromatographe est de séparer les constituants d'un mélange. La chromatographie en phase gazeuse est réservée à l'analyse de composés relativement volatils et thermiquement stables, elle est constituée de trois éléments: un injecteur, une colonne capillaire située dans un four et un détecteur (figure 7).

L'injecteur est une zone chauffée où l'échantillon est introduit en solution au moyen d'une seringue puis vaporisé et mélangé au gaz vecteur (hélium), ce gaz constitue la phase dite "mobile". Son rôle consiste à véhiculer les analytes depuis l'injecteur jusqu'au détecteur via la colonne analytique dont la paroi interne est recouverte d'un film chimique ou phase stationnaire. Les molécules sont séparées dans le temps car elles migrent dans la colonne avec des vitesses différentes, le temps de parcours de chaque analyte étant fonction de sa volatilité et des interactions qui s'exercent entre la molécule et le film chimique. Les analytes sont détectés à leur sortie de la colonne. Chaque molécule est caractérisée par un temps de rétention qui correspond au temps écoulé entre l'injection de l'analyte et l'instant de son arrivée au détecteur (Bouchonnet, 2009).

La possibilité de coupler les chromatographes à divers spectromètres (infra-rouge à transformée de Fourier, SM) augmente considérablement la quantité et la qualité des informations obtenues. En CPG-SM ou GC-MS, l'identification se fait grâce à la comparaison informatique du spectre d'un pic inconnu avec une ou plusieurs « bibliothèques » de référence (Bruneton, 2009). La GC-MS est aujourd'hui à son apogée et trouve des applications dans des domaines aussi variés que l'industrie agroalimentaire, la médecine, la pharmacologie ou l'environnement (Marriott et al., 2001).

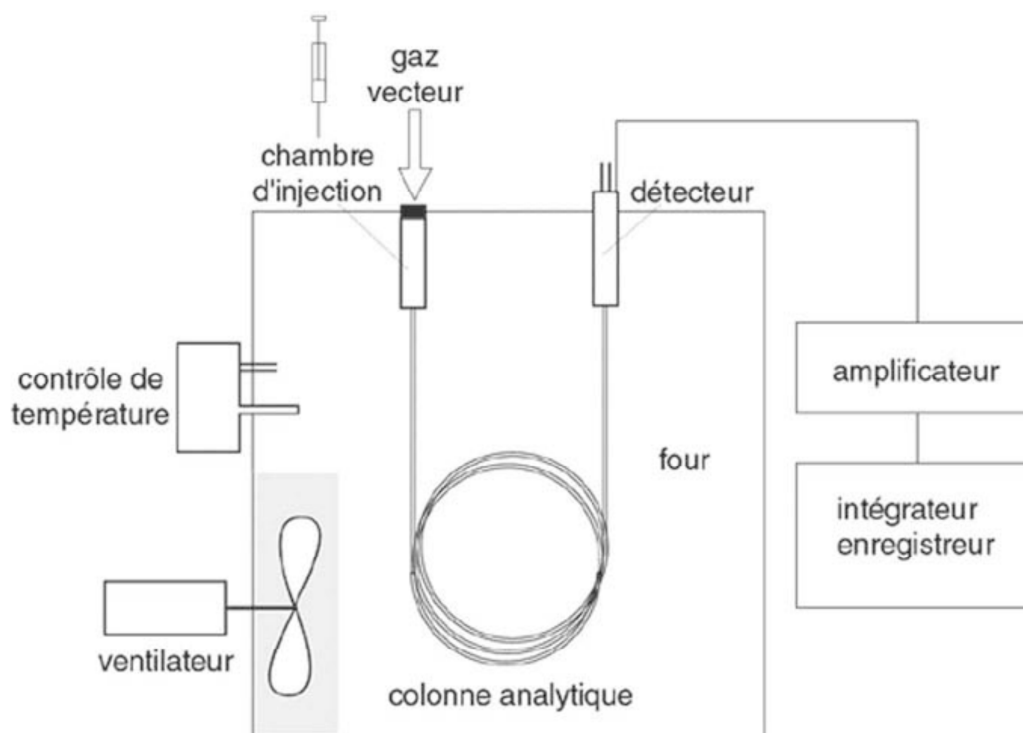


Figure 7. Schéma de l'appareil de CPG (Kaloustian et Hadji-Minaglou, 2012)

D'autres contrôles physicochimiques des huiles essentielles sont également réalisés afin d'évaluer leur qualité, comme la densité relative, l'indice de réfraction, le pouvoir rotatoire, et même parfois des essais supplémentaires: point de solidification, indice d'acide, indice de peroxyde, eau, résidu d'évaporation, solubilité dans l'éthanol, odeur et saveur (Kaloustian and Hadji-Minaglou, 2012).

5. Composition chimique des huiles essentielles

Les huiles essentielles sont des mélanges naturels très complexes qui peuvent contenir environ 20 à 60 composants à des concentrations différentes. Les constituants des huiles essentielles appartiennent à deux groupes : le groupe des terpènes ou terpénoïdes et celui des composés aromatiques dérivés du phénylpropane (Bakkali et al., 2008).

5.1. Terpènes

Les terpènes sont des molécules organiques de formule générale $(C_5H_8)_n$, constitués de molécules d'isoprène (figure 8). Chaque unité d'isoprène contient cinq atomes de carbone avec des doubles liaisons. Les terpènes peuvent être classés sur la base du nombre d'atomes de carbone présents dans leur structure en : monoterpènes (C_{10}), sesquiterpènes (C_{15}), diterpènes (C_{20}), triterpènes (C_{30}), tetraterpènes (C_{40}) et polyterpènes (C_n). Les terpènes peuvent être subdivisés en groupes acycliques qui présentent une structure linéaire ou cycliques qui forment un anneau dans leur structure (Breitmaier, 2006).

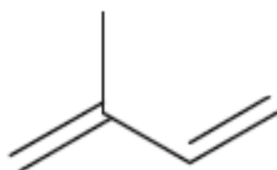


Figure 8. Unité isoprène (Breitmaier, 2006)

5.1.1. Monoterpènes (fig. 9)

Les monoterpènes sont les constituants des huiles essentielles qui sont responsables de l'odeur caractéristique des plantes. Ils existent sous forme d'hydrocarbures ou de groupements oxygénés avec des fonctionnalités aldéhyde (citronellal, néral), alcool (géraniol, linalool), cétone (carvone, menthone), ester (linalyl acétate, citronellyl acétate), éther (eucalyptol), peroxydes (ascaridole) et phénols (thymol, eugénol). De plus, ils peuvent être de structure acyclique, monocyclique, bicyclique ou tricyclique (Weidenhamer et al., 1993).

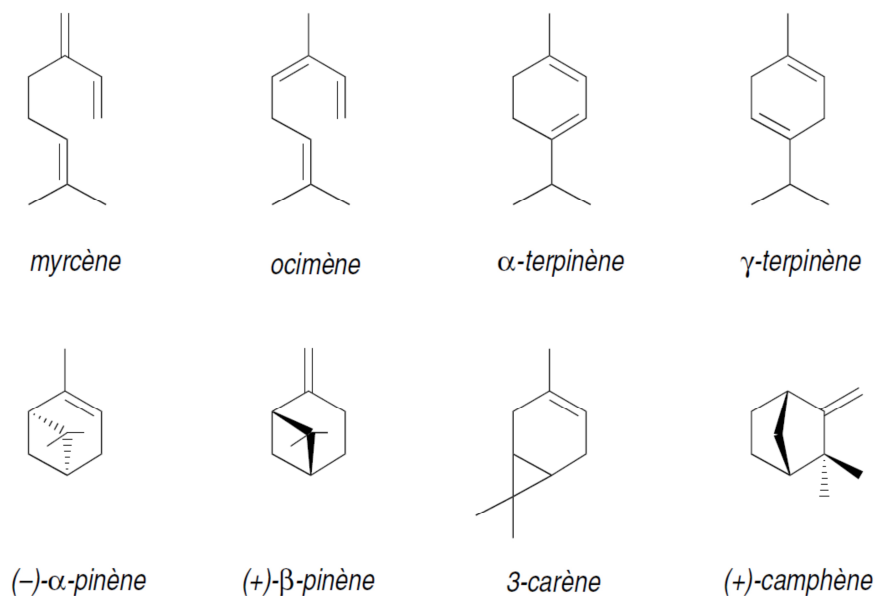


Figure 9. Exemples de structures de monoterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 2009).

5.1.2. Sesquiterpènes (fig. 10)

Les sesquiterpènes peuvent être divisés en deux grands groupes: les sesquiterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes oxygénés. Ils sont moins volatils que les monoterpènes, et peuvent être de structure acyclique, monocyclique, bicyclique ou tricyclique. Les sesquiterpènes de même que les monoterpènes présentent des structures très diverses : alcool (cedrol), cétone (germacrone), aldéhyde (sinensals), ester (acétate de cédryle), etc (Buckle, 2015).

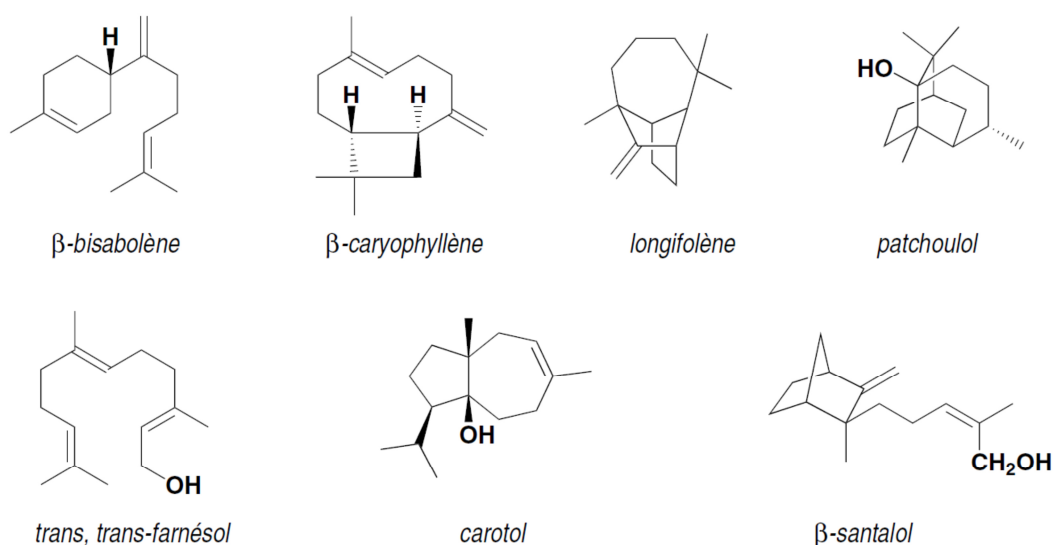


Figure 10. Exemples de structures de sesquiterpènes acycliques et cycliques rencontrés dans les huiles essentielles (Bruneton, 2009).

5.1.3. Diterpènes (fig. 11)

Les diterpènes sont moins présents dans les huiles essentielles car ce sont de grosses molécules avec des points d'ébullition élevés, ils sont difficilement entraînés par la vapeur d'eau lors du processus de distillation. Ce sont des composants importants des résines végétales (Price et Price, 2007).

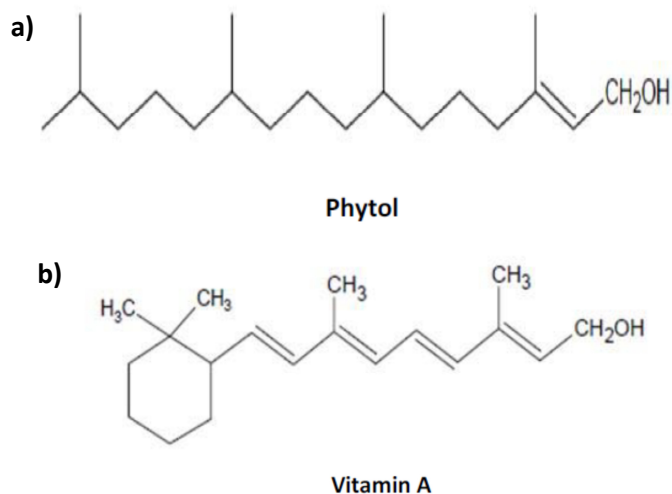


Figure 11. Diterpènes acyclique (a) et mono cyclique (b) (Yadav et al., 2014).

5.2. Les composés aromatiques (fig.12)

Les dérivés du phénylpropane sont beaucoup moins fréquents que les terpènes. Les composés aromatiques comprennent des Aldéhydes (cinnamaldéhyde), des alcools (alcool cinnamique), des Phénols (chavicol, eugénol), Dérivés méthoxy (anéthol, élemicine, estragole, méthyleugénol), des composés méthylène dioxy (apiole, myristicine, safrole). Les principales sources végétales de ces composés sont l'anis, la cannelle, le clou de girofle, le fenouil, la muscade, le persil, les saffras, l'anis étoilé, l'estragon (Bakkali et al., 2008).

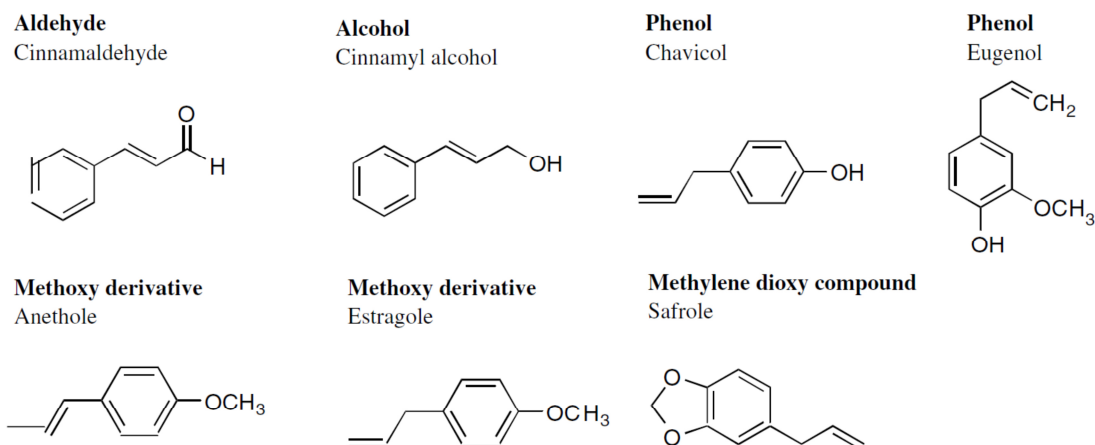


Figure 12. Les composés aromatiques des huiles essentielles (Bakkali et al., 2008).

5.3. Composés d'origines diverses

Les huiles essentielles peuvent renfermer divers composés aliphatiques, généralement de faible masse moléculaire, entraînés lors de la distillation, tels que les acides en C₉ ou C₁₂, les alcools ((3Z)-hexén-1-ol), les aldéhydes (octanal et décane), les esters (acétate d'hexényle), des composés issus de la dégradation des terpènes comme les ionones, les composés azotés ou sulfurés qui sont rares dans les huiles essentielles (Bruneton, 2009).

6. Biosynthèse des terpènes

Les terpènes sont formés à partir de deux voies de biosynthèse: la voie du mévalonate, qui se produit dans le cytosol, responsable de la formation des sesquiterpènes (C₁₅), et la voie du méthylérythritol phosphate (MEP) qui se produit dans les chloroplastes, à l'origine des monoterpènes (C₁₀). Dans les deux voies, il y a formation d'isopentényl-diphosphate (IPP) qui à son tour est converti en son isomère diméthylallyl-diphosphate (DMAPP) par l'action de l'enzyme isopentényl diphosphate isomérase (IPP isomérase), précurseur d'unités actives de monoterpènes (C₁₀) et sesquiterpènes (C₁₅), ainsi que les diterpènes, triterpènes et tétraterpènes. La condensation d'une unité d'IPP et de DMAPP, par l'action de prényltransférases, forme une molécule de géranyl-diphosphate (GPP) à 10 atomes de carbone à partir de laquelle les monoterpènes sont formés. La condensation d'une unité d'IPP en GPP au moyen de l'action des prényltransférases forme le farnésyl-diphosphate (FPP), une molécule à 15 atomes de carbone à partir de laquelle les sesquiterpènes sont formés (Marques et al., 2012).

7. Chémotypes

Beaucoup d'huiles essentielles recèlent un constituant chimique majoritaire appelé «chénotype», dont l'action est influencée et complétée par des molécules secondaires. La nature du sol, l'altitude, les conditions climatiques, l'ensoleillement et les populations végétales avoisinantes, entraînent des variations dans la composition biochimique de l'essence qui déterminent ces différents chémotypes. Par exemple, le thym comprend 7 chémotypes différents: cinéol, géraniol, linalol, terpinéol, thuyanol, thymol et carvacol. Chaque chémotype étant responsable d'effets qui lui sont propres et qui peuvent parfois se révéler antagonistes: le *Thymus vulgaris CT thujanol* permet la régénération du foie, tandis que le *Thymus vulgaris CT thymol* se révèle hépatotoxique (Lardry et Haberkorn, 2007).

8. Activité insecticide des huiles essentielles et terpènes

Les huiles essentielles ainsi que leurs métabolites secondaires présentent un large spectre d'activité contre les insectes ravageurs, avec des activités insecticides, anti-nutritionnelles, répulsives et régulatrice de la croissance (Shaaya et Kostyukovsky, 2006).

L'activité insecticide des huiles essentielles est la conséquence de plusieurs mécanismes qui affectent de multiples cibles cellulaires et physiologiques. Plusieurs monoterpénoïdes (thymol, α -terpinéol, linalool, géraniol, eugénol), identifiés comme des composants majeurs des huiles essentielles, induisent une neurotoxicité dont les mécanismes impliquent des récepteurs du système nerveux des insectes (Regnault-Roger, 2013).

Huignard et al. (2008) ont décrit que le thymol se lie aux récepteurs (Gaba) associés aux canaux chlore situés sur la membrane des neurones post-synaptiques, perturbant ainsi l'activité régulatrice de ces cellules. L'eugénol agit à travers le système octopaminergique en activant les récepteurs du neuromodulateur octopamine qui augmente la concentration d'AMPC. Cette activité des huiles essentielles sur le système nerveux implique également une autre cible qui est l'acétylcholinestérase. Le terpinène 4-ol et le 1,8 cinéole, contenus dans l'huile essentielle extraite des feuilles de thé, provoquent une inhibition de l'acétylcholinestérase.

Selon Chiasson et Beloin (2007), les huiles essentielles présentent des effets physiques en agissant directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou. La nature lipophile de l'huile essentielle peut dégrader la couche cireuse de la cuticule et causer des pertes en eau. Les trachées et les sacs d'air des insectes sont enduits de cette couche cireuse et sont affectés par l'huile essentielle, ce qui peut entraîner l'asphyxie.

En plus de l'activité insecticide, les composés actifs des huiles essentielles sont responsables également de plusieurs activités biologiques telles que les activités anti-oxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes, antivirales et antifongiques (Vintilă, 2018).

Partie expérimentale

*Chapitre III : Etude de la biologie
de T. confusum*

1. Introduction

T. confusum est un insecte ravageur des stocks qui peut entraîner des pertes économiques importantes chaque année, en réduisant la qualité des produits infestés. C'est un insecte cosmopolite et sa biologie nécessite une grande attention (Almaši et Poslončec, 2014). Le choix d'étude de ce ravageur est lié à l'importance des dégâts qu'il occasionne et à sa disponibilité dans les entrepôts de stockage et les minoteries. D'après Gueye et al. (2015), la commission canadienne des grains le classe dans le groupe des ravageurs primaires.

Des études se sont intéressées à la biologie de *T. confusum*, nous avons des anciens travaux (Brindley, 1930; Chapman et Baird, 1934; Good, 1933; Park et Frank, 1948) et d'autres plus récents (Stamopoulos et al., 2007; Ahmady et al., 2017). Tous ces auteurs ont seulement utilisé la farine de blé comme substrat alimentaire dans leur expérimentation.

Pour adopter une stratégie de lutte contre cet insecte ravageur, il est fondamental d'avoir une bonne connaissance de sa biologie. De ce fait, l'objectif de ce chapitre est d'étudier le développement de ce ravageur sur différents substrats alimentaires, dans les conditions de laboratoire.

2. Matériels et méthodes

2.1. Elevage de masse

Notre souche provient d'une minoterie qui se trouve dans la région d'Azazga. Des adultes sont mis en élevage sur 150 g de semoule moyenne dans des bocaux en verre dont le couvercle comporte de petits trous d'aération (figure 13). Au bout d'une semaine, les adultes sont retirés; les œufs pondus ont évolué jusqu'à donner des adultes de la première génération. Cet élevage a été réalisé dans une étuve obscure, réglée à une température de 30 ± 2 °C et une humidité relative (HR) de $70 \pm 5\%$.



Figure 13. Elevage de masse de *T. confusum* (© L. Kheloul)

2.2. Etude du cycle de développement de *T. confusum* sur trois substrats alimentaires

Pour étudier le cycle de développement de *T. confusum* sur trois substrats alimentaires, la farine de blé, la semoule et les grains de blé concassés, nous avons mis des adultes de la première génération dans de la farine de blé pour pondre des œufs ; après 24h, la farine est tamisée à l'aide d'un tamis à 250 μ pour récupérer les œufs. Ces derniers commencent à éclore entre le 4^{ème} et le 7^{ème} jour, et nous avons suivi un lot homogène de 60 L1 après une durée d'incubation des œufs de 4 jours. Chaque larve est mise seule dans une boîte de Pétri contenant 0,5g de substrat alimentaire à tester; arrivée au stade L4, la larve est transférée vers 0,5g d'un même substrat renouvelé afin de lui permettre de continuer son développement. L'expérience est conduite dans les mêmes conditions de laboratoire que l'élevage de masse.

Le suivi du cycle est réalisé quotidiennement à partir de l'incubation des œufs jusqu'à l'émergence des adultes. Le passage d'un stade larvaire à un autre est marqué par la présence d'une exuvie qui est retirée à chaque observation, nous avons également noté la mortalité larvaire. Les paramètres biologiques évalués sont donc la durée de chaque stade larvaire, du stade nymphal ainsi que la durée totale du cycle de développement depuis l'œuf jusqu'à l'adulte.

2.3. Poids des adultes sur trois substrats alimentaires

Pour déterminer le poids moyen des adultes, nous avons mis des L1 seules dans des boîtes de Pétri de 6 cm de diamètre contenant 1 g de substrat, arrivées au stade nymphal, les nymphes ont été sexées et 40 adultes mâles et femelles ont été pesés après leur émergence à l'aide d'une balance analytique.

2.4. Etude du paramètre de longévité des adultes

Nous avons également étudié la longévité des mâles et des femelles en groupe sur une période de 12 mois. Pour chaque substrat alimentaire, nous avons pris 50 mâles et 50 femelles âgés de 24h. Les adultes isolés ont été mis par lot de 10 mâles et 10 femelles dans des boîtes de Pétri de 9 cm de diamètre contenant 10 g de substrat alimentaire. Le nombre de répétitions est fixé à 5. Le sexage des individus a été réalisé au stade nymphal, les femelles ont été marquées au niveau de leur élytre par un point bleu à l'aide d'un marqueur pour faciliter leur repérage. L'expérience s'est déroulée dans les mêmes conditions que l'élevage de masse. Les mortalités ont été notées chaque semaine et le substrat est aussi changé chaque semaine.

2.5. Etude de quelques paramètres de reproduction sur trois substrats alimentaires

2.5.2. La fécondité

Pour ce paramètre, nous avons séparé les mâles et les femelles au stade nymphal, ensuite nous avons pris 60 couples âgés de 24 h pour chaque substrat alimentaire. Chaque couple est mis dans une boîte de Pétri de 6 cm de diamètre avec 2 g de substrat. La fécondité est évaluée quotidiennement pendant un mois pour les 3 substrats alimentaires. Pour la farine de blé et la semoule, des tamisages quotidiens ont été réalisés à l'aide d'un tamis de 250 μ et 300 μ respectivement, les œufs ont été dénombrés puis incubés dans l'étuve pour une semaine afin de déterminer leur fertilité ou taux de survie embryonnaire.

Dans le cas des grains de blé concassés, puisqu'il est difficile de localiser les œufs dans ce substrat, les couples de 24h ont été déplacés quotidiennement vers de nouvelles boîtes de Pétri et le nombre de larves vivantes dans chaque boîte a été dénombré après 15 jours. La durée de la pré-oviposition qui correspond au temps mis par la femelle pour commencer la ponte a été déterminée.

2.5.1. Taux de survie post-embryonnaire et sex-ratio

Pour le calcul de ces paramètres, nous avons suivi le protocole expérimental modifié de Gueye et al. (2015). Il consiste à suivre 60 couples de *T. confusum*, chaque couple est mis dans une boîte de Pétri de 6 cm de diamètre, contenant 2 g de chaque substrat de ponte. Après 24h, les adultes sont retirés, les œufs sont récupérés par tamisage de la semoule et de la farine de blé, les œufs pondus et éclos ont été dénombrés. Dans les grains de blé concassés, il est difficile de compter les œufs, dans ce cas, c'est le nombre total de larves qui est comptabilisé. Les jeunes larves ont été gardées jusqu'à l'émergence des adultes, le sexage des individus est réalisé au stade nymphal.

A l'issue de cette expérience, nous avons pu déterminer la fertilité ou taux de survie post-embryonnaire sur les substrats farine et semoule ainsi que le sex-ratio qui donne le pourcentage des femelles de la descendance. Si le sex-ratio est supérieur à 50%, il est en faveur des femelles, dans le cas contraire, il est en faveur des mâles (Gueye et al., 2015). Ils sont donnés par les formules suivantes: Fertilité (%) = $\frac{\text{Nombre d'adultes émergés}}{\text{Nombre d'œufs éclos}} \times 100$

$$\text{Sex-ratio (\%)} = \frac{\text{Nombre de femelles}}{\text{Nombre de femelles} + \text{Nombre de mâles}} \times 100$$

Dans le cas des grains de blé concassés, le taux de fertilité biaisé correspond au rapport entre le nombre d'adultes émergés et le nombre total de larves dont l'âge est de 15 jours (Gueye et al., 2015).

3. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont soumis aux tests de l'analyse de la variance à un critère de classification à l'aide du logiciel statistique Stat Box, version 6.4, qui vérifie en même temps la normalité des données. Lorsque cette analyse révèle des différences significatives, elle est complétée par le test de Newman et Keuls, au seuil de 5%. Les résultats relatifs à la longévité des adultes de *T. confusum* sont soumis au test de student après vérification de la normalité de nos données par le test de Shapiro-Wilk, à l'aide du logiciel statistique Spss version 20. Les données sont présentées sous forme de moyennes±écart-type.

4. Résultats

4.1. Le cycle de développement de *T. confusum* sur trois substrats alimentaires

Le suivi du cycle de développement de *T. confusum*, du stade œuf jusqu'à l'émergence des adultes, nous a permis de mesurer la durée de développement de l'insecte sur trois substrats alimentaires, à savoir la farine de blé, la semoule moyenne et les grains de blé concassés.

Les résultats (tableau 1) montrent que le *Tribolium* passe par 7 stades larvaires au cours de son cycle de développement sur la farine et les grains de blé concassés et 8 stades larvaires sur la semoule moyenne. Sur les 60 L1 suivies, nous avons enregistré une mortalité larvaire de 15%, 3,33% et 11,66%, sur respectivement la semoule moyenne, la farine et les grains de blé concassés. La durée du stade larvaire L1 est la même pour les trois substrats alimentaires avec une moyenne de 2 ± 0 jours.

L'analyse de la variance a montré des différences très hautement significatives de la durée des différents stades larvaires en fonction du substrat alimentaire (tableau 1). Nous remarquons que les stades larvaires L2 et L7 sont plus longs sur les grains de blé concassés, alors que les stades larvaires L3 et L5 durent plus longtemps sur la semoule, comparativement aux autres substrats. Quant aux stades larvaires L4 et L6, leur durée est plus longue et n'est pas significativement différente sur la semoule et les grains de blé concassés, par rapport à la farine de blé. Nous avons noté également que pour les trois types de substrat, le deuxième et le dernier stade larvaire sont les stades les plus longs de la vie larvaire de *T. confusum*.

Le tableau 1 indique également que la durée totale du développement larvaire de *T. confusum* présente des différences très hautement significatives entre les trois substrats, elle est plus importante sur la semoule que sur les grains de blé concassés et la farine. Une fois que la croissance larvaire est terminée, les larves muent en nymphes. La durée de la nymphose est plus longue sur la semoule et les grains de blé concassés, comparativement à la farine. Quant à la durée totale moyenne du cycle de vie de *T. confusum* sur les trois substrats alimentaires, l'analyse de la variance a montré des différences très hautement significatives, le cycle le plus long est obtenu sur la semoule ($43,07 \pm 2,09$ jours) et les grains de blé concassés ($39,70 \pm 1,80$ jours) et plus court sur la farine ($34,82 \pm 1,20$ jours).

Tableau 1. Durée des différentes phases du cycle de vie de *T. confusum* (en jours) sur trois substrats alimentaires

Stade de développement	Durée moyenne \pm Ecart-type (jours)			F	p
	Semoule moyenne	Farine de blé	Grains de blé concassés		
Durée d'incubation des œufs	4 \pm 0	4 \pm 0	4 \pm 0	-	-
1^{er} stade larvaire	2 \pm 0	2 \pm 0	2 \pm 0	-	-
2^{ème} stade larvaire	6,27 \pm 1,60 b	5,43 \pm 0,76 c	7,42 \pm 1,18 a	29,273	<0,001
3^{ème} stade larvaire	4,29 \pm 0,60 a	3,05 \pm 0,23 c	3,68 \pm 0,67 b	55,335	<0,001
4^{ème} stade larvaire	3,49 \pm 0,76 a	2,79 \pm 0,35 b	3,43 \pm 0,53 a	22,821	<0,001
5^{ème} stade larvaire	3,63 \pm 0,59 a	3,02 \pm 0,13 c	3,23 \pm 0,50 b	19,078	<0,001
6^{ème} stade larvaire	3,41 \pm 0,49 a	2,96 \pm 0,13 b	3,40 \pm 0,49 a	15,392	<0,001
7^{ème} stade larvaire	3,41 \pm 0,49 c	5,57 \pm 0,55 b	6,07 \pm 0,70 a	270,397	<0,001
8^{ème} stade larvaire	6,02 \pm 0,73	-	-	-	-
Développement larvaire	32,52 \pm 2,01 a	24,82 \pm 1,20 c	29,23 \pm 1,74 b	264,437	<0,001
Nymphose	6,55 \pm 0,50 a	6 \pm 0 b	6,47 \pm 0,50 a	26,625	<0,001
Durée totale du cycle	43,07 \pm 2,09 a	34,82 \pm 1,20 c	39,70 \pm 1,80 b	287,816	<0,001

Au niveau de chaque ligne, les moyennes suivies d'une lettre différente sont significativement différentes et les mêmes lettres indiquent des différences non significatives au sein des différents substrats alimentaires par le test de Newman et Keuls au seuil 5%.

4.2. Poids des individus sur les trois substrats alimentaires

L'analyse de la variance à un critère de classification indique qu'il y'a une variation très hautement significative du poids moyen des femelles ($f=16,768$, $p<0,001$, $df=2$) et du poids moyen des mâles ($f=33,725$, $p<0,001$, $df=2$) selon le substrat alimentaire. Le test de Newman et Keuls au seuil de 5% révèle qu'il n'y a pas de différences significatives du poids moyen des femelles et celui des mâles sur la semoule et sur la farine de blé (figure 14).

La comparaison entre le poids moyen des mâles et celui des femelles sur chaque substrat alimentaire a montré des différences très hautement significatives (semoule: $f=15,579$, $p<0,001$, $df=1$), (farine de blé: $f=43,222$, $p<0,001$, $df=1$), (grains de blé concassés: $f=24,855$, $p<0,001$, $df=1$). Le test de Newman et Keuls a montré que pour les trois substrats alimentaires, les femelles présentent le poids le plus élevé (a) par rapport aux mâles (b).

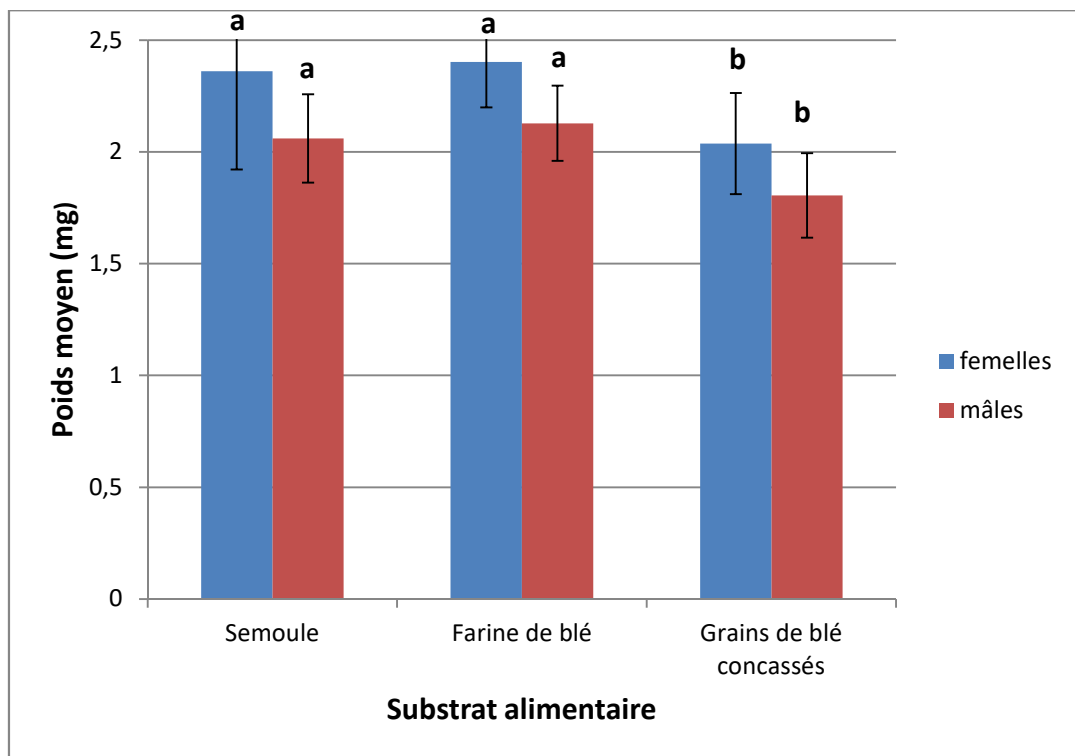


Figure 14. Poids moyens en mg (\pm écart-type) des femelles et des mâles de *T. confusum* en fonction du substrat alimentaire. (Les poids moyens pour les mâles et les femelles suivis de lettres différentes sont significativement différents selon le substrat alimentaire).

4.3. Longévité des adultes

Après 12 mois de suivi de la longévité des adultes de *T. confusum*, nous avons remarqué qu'il restait toujours des individus vivants sur les trois types de substrats testés. La longévité des femelles sur les trois substrats varie de 29,57 à 30,51 semaines et chez les mâles, elle varie de 32 à 35,66 semaines (tableau 2). Le test t n'a pas montré de différences significatives entre la longévité moyenne des mâles et celle des femelles sur les 3 substrats alimentaires (farine de blé: t-test=-1,161, df=61, p= 0,250 ; semoule: t-test=-0,882, df=68, p=0,381 ; grains de blé concassés: t-test=-1,701, df=51, p=0,095).

Le test t n'a également pas révélé de différences significatives entre la durée de vie moyenne des mâles sur la farine de blé et la semoule (t-test=0,226, df=57, p=0,822), ainsi que sur la farine de blé et les grains de blé concassés (t-test=-1,123, df =52, p=0,267), de même sur la semoule et les grains de blé concassés (t-test=-1,483, df=51, p=0,144).

Les résultats du test t ont montré aussi qu'il n'y a pas de différences significatives de la durée de vie moyenne des femelles sur la farine de blé et la semoule (t-test=-0,215, df=72, p=0,831), ainsi que sur la farine et les grains de blé concassés (t-test=-0,344, df=60, p=0,732), de même sur la semoule et les grains de blé concassés (t-test=-0,174, df=68, p=0,863).

Tableau 2. Longévité moyenne en semaines (\pm écart-type) de *T. confusum* en population mixte selon la nature de substrat ($n_{\text{♀}}=50$ et $n_{\text{♂}}=50$) (T° : 30°C, HR : 70%).

Substrats	Sexe	Nombre d'adultes vivants	Nombre d'adultes morts	Longévité moyenne
Farine de blé	Femelles	17	33	29,57 \pm 10,04
	Mâles	20	30	32,53 \pm 10,14
Semoule	Femelles	9	41	30,07 \pm 9,78
	Mâles	21	29	32 \pm 7,61
Grains de blé concassés	Femelles	21	29	30,51 \pm 11,53
	Mâles	26	24	35,66 \pm 10,24

4.4. Paramètres de reproduction

4.4.1. La fécondité

4.4.1.1. Fécondité de *T. confusum* sur la semoule et la farine de blé

D'après les résultats obtenus (figure 15), la ponte a commencé au 5^{ème} jour sur la farine avec une moyenne de $2,28 \pm 1,69$ œufs pondus et sur la semoule, la ponte a commencé au 7^{ème} jour, avec une moyenne de $1,7 \pm 1,13$ œufs pondus. Le nombre d'œufs pondus augmente avec le temps, jusqu'à près de 7 œufs par jour sur la farine et 6 œufs par jour sur la semoule.

La durée de la phase de pré-oviposition sur la farine est de $5,36 \pm 0,86$ jours, alors que sur la semoule, elle est de $7,71 \pm 2,24$ jours. L'analyse de la variance à un critère de classification a montré des différences très hautement significatives de la durée de la pré-oviposition entre les deux substrats ($f=57,143$, $p<0,001$, $df=1$), elle est plus longue sur la semoule que sur la farine.

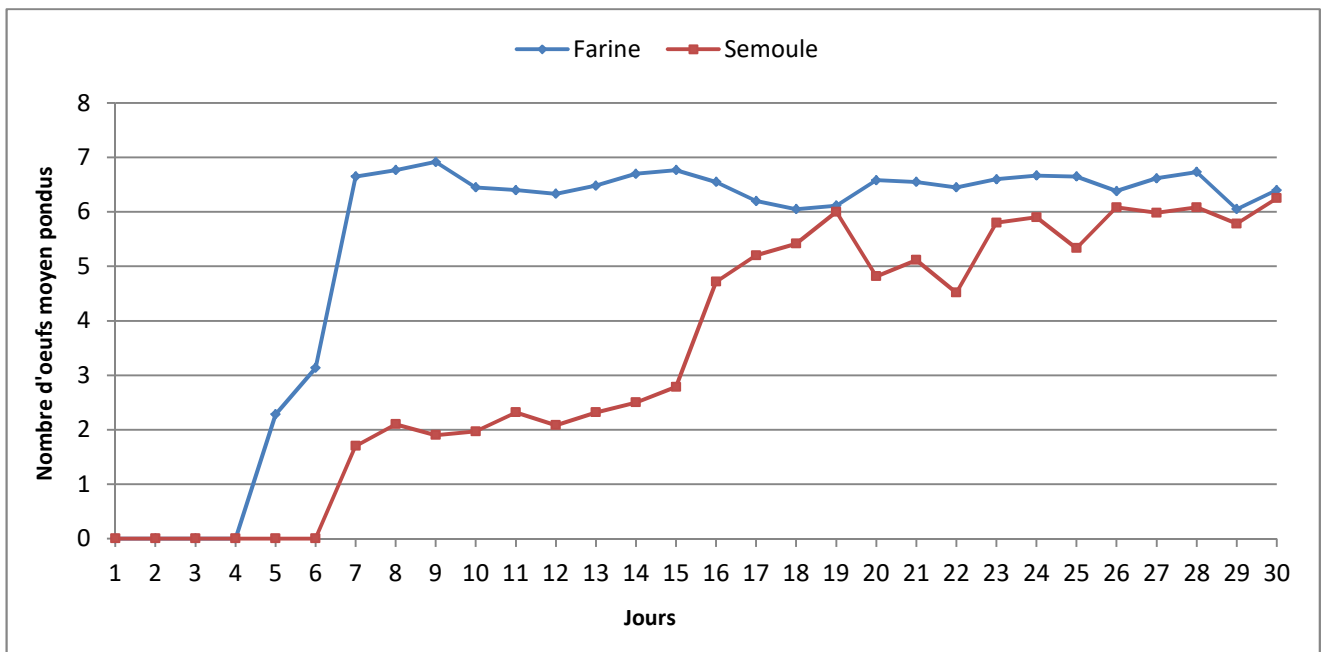


Figure 15. Nombre d'œufs moyen pondus par les femelles de *T. confusum* pendant un mois sur deux substrats alimentaires.

4.4.1.1.1. Taux de survie embryonnaire

L'analyse de la variance a montré une différence très hautement significative ($f= 53,293$, $p<0,001$, $df=1$) du nombre d'œufs pondus par les femelles de *T. confusum* sur les deux substrats en 30 jours. Le nombre d'œufs pondus sur la farine est plus important que celui enregistré sur la semoule. On observe également des différences très hautement significatives du nombre d'œufs éclos en fonction du substrat ($f=60,82$, $p<0,001$, $df=1$).

Cette analyse a également révélé des différences très hautement significatives du taux d'éclosion des œufs ou taux de survie embryonnaire en fonction du substrat ($f=12,427$, $p<0,001$, $df=1$), il est plus important sur la farine avec une moyenne de $80,40\pm 3,92\%$ (tableau 3).

Tableau 3. Le taux d'éclosion des œufs de *T. confusum* élevé sur la farine et la semoule

Substrats	Nombre total d'œufs pondus (n=30 jours) par 60♀	Nombre total d'œufs éclos	Taux d'éclosion (%)
Farine de blé	9689 (a)	7831(a)	80,40±3,92 (a)
Semoule	6160 (b)	4730 (b)	76,33±8,03 (b)

Les différentes lettres dans les colonnes indiquent des différences significatives au sein des différents substrats alimentaires par le test de Newman et Keuls au seuil 5%.

4.4.1.2. Fécondité estimée de *T. confusum* sur les grains de blé concassés

D'après les résultats obtenus (figure 16), les larves commencent à apparaître au bout du 5^{ème} jour avec une moyenne de $0,4\pm 1,36$ larves, le nombre de larve augmente avec le temps jusqu'à atteindre plus de 10 larves par jour. La durée de la pré-oviposition a été estimée en fonction du nombre de larves trouvées, elle est de $6,05\pm 0,72$ jours. En un mois d'expérimentation, nous avons dénombré un total de 11235 larves issues des pontes de 60 femelles.

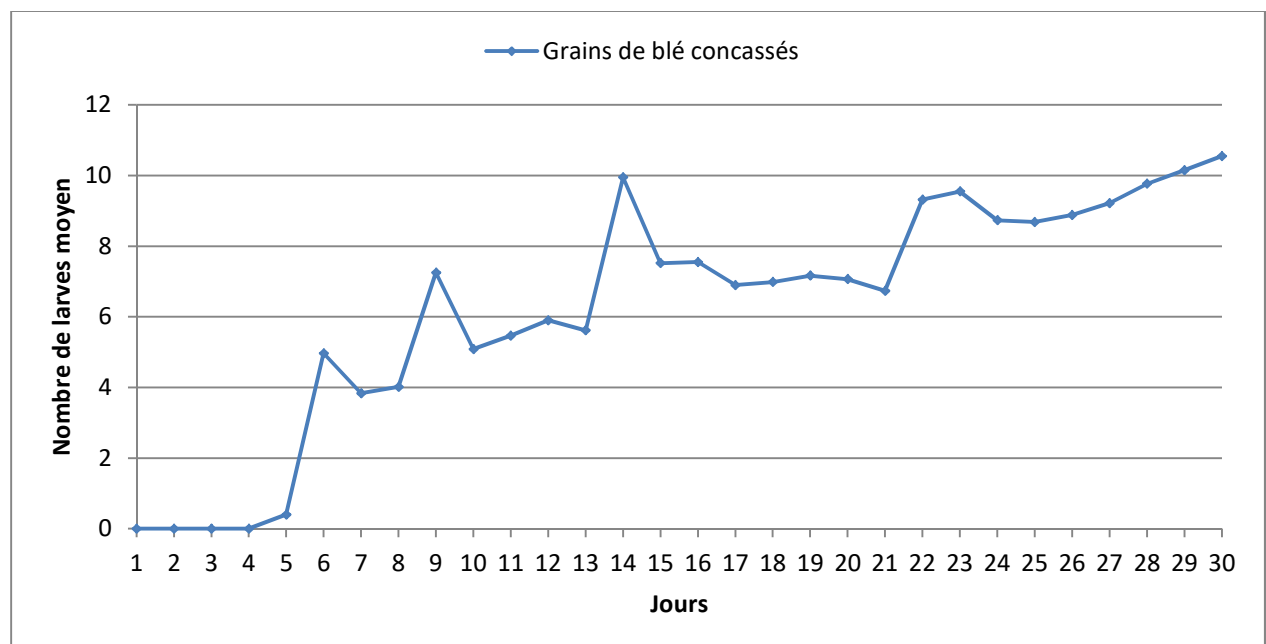


Figure 16. Nombre de larves issues des œufs pondus par les femelles de *T. confusum* durant un mois sur les grains de blé concassés

4.4.2. Taux de survie post-embryonnaire et sex-ratio

L'analyse de la variance à un critère de classification a montré des différences très hautement significatives du taux de fertilité en fonction des substrats alimentaires ($f=10,748$, $p<0,001$, $df= 2$), ce taux est plus important en présence des grains de blé concassés et de la semoule. Par ailleurs, l'analyse statistique des données n'a montré aucune différence significative du sex-ratio de *T. confusum* sur les trois substrats alimentaires ($f=1,409$, $p=0,24623$, $df=2$) (tableau 4).

Tableau 4. Comparaison de la fertilité (\pm écart-type) et du sex-ratio de *T. confusum* en fonction de la nature du substrat

Substrats	Nombre d'œufs pondus	Nombre d'œufs éclos	Nombre de larves	Nombre de femelles	Nombre de mâles	Fertilité (%)	Sex-ratio (%)
Farine de blé	406	340	-	127	152	83,63 \pm 24,88 (b)	48,77
Semoule	320	252	-	122	112	94,07 \pm 12,32 (a)	55,68
Grains de blé concassés	-	-	319	148	162	97,53 \pm 5,75 (a)	47,72

Les différentes lettres dans les colonnes indiquent des différences significatives au sein des différents substrats alimentaires par le test de Newman et Keuls au seuil 5%.

5. Discussion

D'après nos observations, la période d'incubation des œufs de *T. confusum* varie de 4 à 7 jours. Ahmady et al. (2017) ont remarqué une durée d'incubation des œufs de *T. confusum* inférieure à celle que nous avons observée qui est de 2 à 3 jours à 30°C et 70% d'HR. Alors que Stamopoulos et al. (2007) rapportent que les œufs de *T. confusum* mettent 7,6 \pm 0,2 jours, à 25 \pm 1°C et 65 \pm 5% d'HR, pour éclore.

L'étude du cycle biologique de *T. confusum* a révélé un nombre de stades larvaires qui varie en fonction du substrat alimentaire. Nous avons observé 8 stades larvaires sur la semoule et 7 stades larvaires sur la farine de blé et sur les grains de blé concassés. Brindley (1930) a observé 6 stades larvaires chez *T. confusum* sur la farine de blé à 30°C et 73% d'HR, avec une durée totale du cycle de 29 jours. Les résultats de Stamopoulos et al. (2007), sur la farine de blé, concordent avec les nôtres, ces auteurs dénombrent 7 stades larvaires chez *T. confusum*, à 25 \pm 1°C et 65 \pm 5% d'HR, par contre, la durée totale du cycle est plus longue à cette température (49 \pm 2,02 jours).

Howe (1956) rapporte que la rapidité du cycle de développement est influencée par la température et l'humidité. Sur la farine de blé, Ahmady et al. (2017) ont trouvé que le cycle de développement de *T. confusum*, à 30°C et 70% d'HR, est de 33 jours, ce qui est proche du résultat que nous avons obtenu (34,82±1,20 jours).

Le cycle de développement de l'espèce voisine *T. castaneum* sur la farine de blé est de 29,7 jours, à 27±0,2°C et 60±2 % d'HR, et l'insecte passe par 5 stades larvaires (Baldassari et al., 2008). D'après Abdelsamad et al. (1988), à 30°C et une HR de 70%, *T. castaneum* subit 6 stades larvaires sur la farine de blé. Good (1933) rapporte que le nombre de mues larvaires n'est pas fixe, il varie de 6 à 11 ou plus. Cette variation est due à la fois à des conditions externes, telles que la nourriture, la température et l'humidité, et à des caractéristiques individuelles entièrement indépendantes des influences externes.

Pour les trois types de substrat, nos résultats révèlent que les stades larvaires les plus longs sont le deuxième et le dernier, ils confirment ceux de Stamopoulos et al. (2007). Alors que chez *T. castaneum*, Abdelsamad et al. (1988) ont trouvé que le stade larvaire le plus long est le dernier stade.

Par ailleurs, le poids moyen diffère significativement selon le substrat, nos résultats ont montré également qu'il n'y a pas de différence significative du poids moyen des mâles et des femelles sur la semoule et la farine de blé. En effet, la croissance pondérale des insectes dépend du substrat alimentaire, le poids moyen des insectes est plus élevé sur la semoule et la farine par rapport aux grains de blé concassés, ceci est peut-être dû au fait que les aliments sont plus facilement assimilables par les insectes que les grains de blé concassés. Selon Brindley, (1930), après l'émergence, le poids moyen des femelles et des mâles de *T. confusum*, sur la farine de blé, est respectivement de 1,78mg et 1,48mg, ces résultats sont bien inférieurs aux nôtres, avec un poids moyen des femelles sur la farine de 2,40mg et celui des mâles de 2,12mg. Alors que Sreeramoju et al. (2016) ont montré que le poids des adultes mâles de *T. castaneum* (2,031±0,04 mg) ayant bouclé leur cycle de développement sur la farine de blé ne diffère pas de celui des femelles (2,028 ±0,04 mg).

En ce qui concerne la longévité de *T. confusum* en groupe (population mixte), nos résultats ont montré que sur les trois types de substrats, il n'y a pas de différence significative entre la longévité moyenne des mâles et des femelles. Alors que Spratt (1980) a rapporté que dans une population mixte de *T. confusum* qui se nourrit de farine de blé, à 30°C et 70%

d'HR, et avec un nombre de femelles égal à celui des mâles, ce sont les femelles qui vivent plus longtemps ($30,1 \pm 2,96$ semaines) que les mâles ($22,6 \pm 1,56$ semaines).

Par contre, chez *Tribolium freemani*, les mâles ont une durée de vie moyenne plus élevée (346,7 jours) que les femelles (329,1 jours) lorsqu'ils se retrouvent en groupe et se nourrissent de farine de blé, à $32,5 \pm 0,5^\circ\text{C}$ et $70 \pm 7\%$ d'HR (Imura, 1987). Chez d'autres insectes des denrées stockées comme *R. dominica* et *Prostephanus truncatus*, les mâles ont une longévité supérieure à celle des femelles, ceci est probablement dû à un effort de reproduction continu des femelles qui aurait réduit leur taux de survie (Edde et Phillips, 2006).

Nos résultats démontrent qu'il n'y a pas de différences significatives du sex-ratio selon le type du substrat et il est proche de l'unité, nous pouvons dire qu'il y a un équilibre des sexes. Nos résultats concordent également avec ceux de Smith et Barker (1991), le sex-ratio est proche de l'unité chez *Tribolium madens* et *Tribolium audax*.

Comme il faudrait plus d'une année pour estimer la fécondité totale de ces insectes, le nombre d'œufs pondus a été enregistré tous les jours sur une période d'un mois seulement, sur la farine de blé et la semoule, et dans le cas des grains de blé concassés, c'est le nombre de larves qui a été dénombré. D'après nos résultats, le nombre d'œufs pondus varie en fonction du substrat, le nombre élevé de larves trouvées dans les grains de blé concassés suppose une fécondité élevée sur ce substrat par rapport à la farine et à la semoule. Ajayi et Rahman (2006) confirment que chez *T. castaneum*, l'oviposition ainsi que l'émergence des adultes sont influencées par la nature du substrat.

Cette différence du nombre d'œufs pondus sur les trois substrats pourrait s'expliquer aussi par le tamisage quotidien effectué sur la semoule et la farine. En effet, d'après Chapman et Baird (1934), le tamisage constitue une perturbation mécanique qui peut réduire le taux d'oviposition chez *T. confusum*.

Nos résultats ont montré que la durée de la pré-oviposition varie selon le substrat, elle est de 5,36 jours sur la farine, 7,71 jours sur la semoule et 6,05 jours sur les grains de blé concassés. Ziegler (1976) rapporte que sur la farine de blé, la durée de la pré-oviposition chez *T. confusum* varie de 5 à 6 jours et elle est de 4 jours pour *T. castaneum*, à 29°C et 70% d'HR. Par ailleurs, Pires et al. (2019) rapportent que sur les noix brésiliennes, la pré-oviposition chez *T. castaneum* est de $7,4 \pm 1,7$ jours, à $30 \pm 2^\circ\text{C}$ et $60 \pm 10\%$ d'HR.

Par ailleurs, nos résultats ont montré que le taux d'éclosion des œufs varie également en fonction du substrat, il est de $80,40 \pm 3,92\%$ sur la farine et de $76,33 \pm 8,03\%$ sur la semoule. Abdelsamad et al. (1988) ont obtenu un taux d'éclosion des œufs de *T. castaneum*, sur la farine de sorgho, de 91,3% à 30°C et 70% d'HR, ce taux augmente jusqu'à 96,3% à 35°C. A $32 \pm 1^\circ\text{C}$, le taux de survie embryonnaire de *T. castaneum*, sur la farine de blé avec 10% de levure de bière, est de 94,8% (Fardisi et al., 2013). D'après Park et Frank (1948) et Ahmad et al. (2012), le taux d'éclosion des œufs dépend de différents facteurs comme la température, l'humidité relative et le substrat alimentaire.

En conclusion, notre étude a montré que le type de ressource utilisé agit sur la durée du cycle de développement et la fécondité de *T. confusum*, mais n'influe pas la longévité des mâles et des femelles.

*Chapitre IV : Tests de toxicité avec
les huiles essentielles*

1. Introduction

Malgré les progrès réalisés au niveau des méthodes de gestion appliquées durant l'entreposage et à la diversité des produits chimiques (fumigatoires, produits de contact, etc.), les insectes ravageurs continuent de provoquer d'importants dégâts au niveau des stocks. Cette situation découle en grande partie de leur capacité à s'adapter et à se reproduire (Bourarach et al., 1994).

Les huiles essentielles et les extraits de plantes peuvent être des alternatives potentiels aux insecticides utilisés actuellement car ils constituent une riche source de composés chimiques bioactifs (Hikal et al., 2017). Leurs principaux constituants, principalement les monoterpènes, présentent un intérêt particulier en raison de leurs activités biologiques et leur toxicité par fumigation et par contact contre les insectes ravageurs (Lee et al., 2004).

Les huiles essentielles sont extraites par distillation à la vapeur de nombreuses plantes appartenant à différentes familles botaniques, et plus particulièrement des Lamiacées et Myrtacées (Isman, 2000). La famille des Lamiaceae ou Labiatae comprend environ 236 genres et 6900 à 7200 espèces (Raja, 2012). Les plantes de cette famille sont traditionnellement utilisées dans les pays en développement pour leurs propriétés insecticides et répulsives contre plusieurs espèces d'insectes (Conti et al., 2012).

Une autre famille de plante intéressante est celle des Myrtacées qui comprend plus de 3800 espèces réparties en 133 genres (Wilson et al., 2001), les principaux genres sont *Myrtus*, *Psidium*, *Pimenta*, *Eugenia*, *Pseuocaryophyllus*, *Syzygium*, *Eucalyptus*, *Leptospermum*, *Plinia* et *Melaleuca* (Govindarajan et Benelli, 2016). De nombreuses huiles essentielles de la famille des Myrtaceae ont des effets insecticides contre plusieurs insectes nuisibles et peuvent être considérées comme des bio insecticides (Ebadollahi, 2013).

L'objectif de ce chapitre est de rechercher des alternatives de lutte aux insecticides chimiques par l'utilisation de quelques huiles essentielles des familles des Lamiacées et Myrtacées ainsi que deux monoterpènes (eucalyptol et linalool) par fumigation contre différents stades de développement de *T. confusum* à savoir les œufs, les jeunes stades larvaires (L1), les larves âgées (L8), les nymphes et les adultes dans les conditions de laboratoire.

2. Matériels et méthodes

2.1. Matériel animal

Pour nos tests de fumigation, nous nous sommes intéressés à différents stades de développement de *T. confusum*: des œufs âgés de 24h, des jeunes larves (L1) de 1 à 2 jours, des larves âgées (L8) de 27 jours, des nymphes de 1 à 3 jours et des adultes de 1 à 7 jours. Dans la littérature, très peu d'études ont traité l'influence des huiles essentielles ou monoterpènes sur les stades œuf, larve, pupa et adultes de *T. confusum*, hormis les travaux de Isikber et al. (2006) et de Stamopoulos et al. (2007). De même, peu de travaux ont été réalisés sur l'effet des huiles essentielles et des monoterpènes sur les nymphes de *T. confusum*.

Les œufs et les jeunes larves proviennent d'un élevage de masse réalisé dans des bocaux en verre contenant de la farine, à l'intérieur d'une étuve obscure réglée à une température de $30\pm 2^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative de $70\pm 5\%$. Par contre, les larves âgées, les nymphes et les adultes proviennent d'un élevage de masse réalisé sur un substrat alimentaire qui est la semoule moyenne, dans les mêmes conditions de laboratoire.

2.2. Matériel végétal

Nous avons testé 6 huiles essentielles extraites de trois plantes de la famille des Lamiacées: *Lavandula spica* (ou *Lavandula latifolia*), *Thymus satureioides* et *Rosmarinus officinalis*, ainsi que de trois plantes de la famille des Myrtacées: *Myrtus communis*, *Eugenia caryophyllata* et *Eucalyptus globulus*. Ces huiles essentielles proviennent du laboratoire français Phytosun arômes et sont extraites par la distillation à la vapeur d'eau (Tableau 5). Nous avons testé également deux monoterpènes qui proviennent de Sigma Aldrich, France: l'eucalyptol à 99% et le linalool à 97%.

Tableau 5. Les espèces végétales dont les huiles essentielles sont issues

Nom commun	Nom scientifique	Partie de la plante	Origine
Lavande aspic	<i>L. spica, L. latifolia</i>	Fleurs	Espagne
Thym à feuilles de sariette	<i>T. satureioides</i>	Fleurs	Maroc
Romarin	<i>R. officinalis</i>	Rameaux	Afrique
Myrte rouge	<i>M. communis</i>	Rameaux	Maroc
Clous de girofle	<i>E. caryophyllata</i>	Boutons floraux	Madagascar, Indonésie
Eucalyptus	<i>E. globulus</i>	Feuilles	Europe, Asie

Le choix de ces huiles essentielles est justifié par une revue de la littérature, où nous avons trouvé que certaines huiles ont été testées sur certains stades de développement de *T. confusum* mais pas sur d'autres, de même certaines huiles essentielles comme la *L. spica* et *T. saturoioides* n'ont pas été testées contre ce ravageur. Nous avons choisi l'eucalyptol car c'est le composé majoritaire des huiles essentielles de romarin, de myrte et d'eucalyptus, de plus nous avons voulu savoir si ce composé donne les mêmes résultats que les huiles essentielles dont il est le composé majoritaire. Le linalool quant à lui est le constituant principal de la lavande aspic, ses effets sur les différents stades de développement de *T. confusum* n'ont été que partiellement étudiés jusqu'à présent et les informations recueillies sur l'efficacité du linalool vis-à-vis de *T. confusum* sont limitées (Stamopoulos et al., 2007; Sağlam et Özder, 2013).

2.2.1. Description des espèces de plantes testées

2.2.1.1. *L. spica*

Le genre *Lavandula* comprend environ 20 espèces, il est originaire de la région méditerranéenne, bien qu'il soit maintenant cultivé dans différentes régions du monde (Da Porto et Decorti, 2008).

La lavande aspic est un arbrisseau de 50 à 100 cm de hauteur. Les feuilles sont grises, linéaires-lancéolées et persistantes. La tige d'inflorescence nettement ramifiée et forme généralement un épi floral en forme de trident, atteignant 25 cm de haut, la corolle est fortement symétrique bilatéralement et de couleur bleue à mauve (Upson, 2002). La lavande aspic est semblable à la lavande vraie, *Lavandula angustifolia*, en apparence, mais fleurit tardivement (figure 17). On la trouve en Espagne, avec certaines plantes qui poussent très haut dans les montagnes et aussi à basse altitude (Lis-Balchin, 2002).



Figure 17. *L. angustifolia* (Lim, 2014)

2.2.1.2. *T. satureioides* (Fig. 18)

T. satureioides est un arbrisseau érigé, pouvant atteindre 60 cm de hauteur avec de nombreuses ramifications. Les feuilles sont spatulées, l'inflorescence est en glomérules lâches et la corolle est rose ou rose pâle. C'est une espèce endémique du Maroc. Elle est répandue dans les clairières des forêts, broussailles et matorrals des basses et moyennes montagnes jusqu'à 2200m d'altitude, sur substrats calcaires siliceux et sols rocaillieux plus ou moins terreux mais bien drainés (Ainane et al., 2018).

Les espèces du genre *Thymus* sont parmi les plantes aromatiques et médicinales les plus utilisées dans le monde entier, grâce à leurs multiples vertus thérapeutiques, ce genre comprend environ 350 espèces, dont une plus grande partie se situe dans la zone méditerranéenne (Alaoui-Jamali et al., 2016).



Figure 18. *T. satureioides* (Chafai et al., 2014)

2.2.1.3. *R. officinalis* (Fig. 19)

Le romarin est un arbrisseau commun à tout le bassin méditerranéen, dont l'Algérie où on le trouve sur les coteaux arides et les collines. Cet arbrisseau touffu et ligneux, de 1 à 2 m environ, est toujours vert, son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées. Les rameaux velus portent des feuilles opposées et étroites d'un vert grisâtre. Groupées à l'aisselle des feuilles, les fleurs sont d'un bleu pâle et maculées intérieurement de violet (Ali-Delille, 2010).



Figure 19. *R. officinalis* (Hernandez et al., 2016)

2.2.1.4. *M. communis* (Fig. 20)

M. communis, communément appelé myrte est originaire d'Europe, il est répandu dans toute la région méditerranéenne et au Moyen-Orient. Le genre *Myrtus* comprend environ 100 genres et 3000 espèces poussant dans les régions tempérées, tropicales et subtropicales et environ 50 espèces originaires du bassin méditerranéen (Anwar et al., 2016).

Cet arbuste commun de tout le tell algérien et surtout le littoral, mesure de 2 à 3 m. Ses feuilles opposées à très court pétiole, ovales à la base, pointues au sommet sont entières, luisantes fermes et persistantes. Les fleurs blanches sont isolées à l'aisselle des feuilles. Le fruit est une baie ovoïde de couleur foncée, ressemblant à une olive (Ali-Delille, 2010).



Figure 20. Le fruit de *M. communis* (Zilkah et Goldschmidt, 2014)

2.2.1.5. *E. caryophyllata* (Fig. 21)

Le genre *Eugenia* est l'un des plus grand genre d'arbres et d'arbustes comprenant environ 2000 espèces, il se rencontre dans les régions tropicales et subtropicales du nouveau monde et des régions tropicales d'Asie, d'Afrique et d'Australie (Haron et Moore, 1996).

Le giroflier pousse principalement en Indonésie, en Inde, à Madagascar, au Zanzibar, au Pakistan et au Sri Lanka. C'est un arbre à feuilles persistantes atteignant une hauteur allant de 8 à 12 m, avec de grandes feuilles et des fleurs. Les boutons floraux sont d'abord d'une couleur pâle et deviennent progressivement verts, après, ils se développent en un rouge vif lorsqu'ils sont prêts à être récoltés. Les clous de girofle sont récoltés lorsqu'ils atteignent 1,5–2 cm de long et consistent en un long calice, se terminant par quatre sépales étalés et quatre pétales non ouverts qui forment une petite boule au centre (Goñi et al., 2016).



Figure 21. Les clous de girofle mûres (Lim, 2014)

2.2.1.6. *E. globulus* (Fig. 22)

D'après Ayinde (2016), les espèces d'eucalyptus seraient originaires d'Australie et de Tasmanie, d'où elles ont été introduites dans diverses régions du monde. Le genre se compose de nombreuses espèces (14 à 550 environ).

L'Eucalyptus (ou gommier bleu de Tasmanie) est introduit en Algérie en 1856 par Ramel qui l'importe d'Australie dans le but d'assainir les régions marécageuses. Son tronc lisse et argenté peut atteindre 80 m de haut et 2,50 m de circonférence. Les feuilles arrondies à la base et pointues à l'extrémité, en forme de faucille, sont alternées et portées par un long pédoncule. Les fleurs qui naissent à l'aisselle des feuilles sont grandes, leur corolle forme une sorte de coiffe qui tombe au moment où mûrissent les étamines très nombreuses (Ali-Delille, 2010).

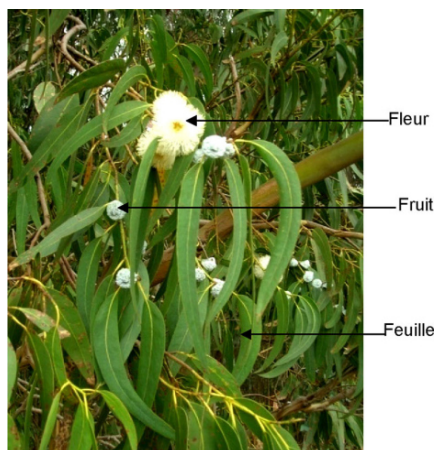


Figure 22. *E. globulus* (Boukhatem et al., 2017)

2.2.2. Présentation des monoterpènes testés

2.2.2.1. Linalool (Fig. 23, a)

Le linalool ($C_{10}H_{18}O$) est le composé monoterpénique qui se trouve dans les huiles essentielles appartenant à différentes familles botaniques, mais particulièrement aux familles des Lamiacées, Lauracées et Rutacées (Aprotosoiaie et al., 2014). Le linalool est couramment trouvé comme constituant volatil majeur des huiles essentielles de plusieurs espèces de plantes aromatiques dont beaucoup sont utilisées en médecine traditionnelle (Peana et al., 2002). Parmi ces espèces, *Aniba rosaeodora* et *Cinnamomum camphora* sont les principales sources de linalool avec un taux de 90% et plus (Aprotosoiaie et al., 2014).

2.2.2.2. Eucalyptol (Fig. 23, b)

Le 1,8-cinéole ($C_{10}H_{18}O$), également connu sous le nom d'eucalyptol, est un monoterpène présent naturellement dans de nombreuses plantes aromatiques par exemple, dans les genres *Eucalyptus*, *Croton*, *Hyptis*, *Pectis*, *Rosmarinus* et *Salvia* (Caldas et al., 2015). Des concentrations élevées de 1,8-cinéole sont retrouvés chez l'espèce *Eucalyptus polybractea* (>90%) (Iqbal et al., 2011).



Figure 23. Structure chimique du linalool (a) et de l'eucalyptol (b)

2.3. Analyse GC-MS des huiles essentielles

Les analyses chromatographiques ont été effectuées au département de pharmacie de l'université d'Angers (France) à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (GC-MS QP 2010 SE, Shimadzu, France). La fragmentation est effectuée par impact électronique sous un champ de 70 eV. La colonne utilisée est une colonne capillaire ZB-5 (30 m×0,25 mm×0,25 µm). Le gaz vecteur utilisé est l'hélium, à un débit de 1,5 mL/min. Le programme de température du four va de 40 à 240°C à raison d'une augmentation de 2 °C/min. La température de l'injecteur est fixée à 250°C, celle de l'interface entre la colonne et le spectromètre de masse à 240°C et la température de la source d'ionisation à 230°C. L'huile essentielle a été diluée au 1/50 dans le cyclohexane. Le volume d'injection est de 3 µl en mode split (split ratio : 30).

L'identification des composés a été réalisée par comparaison de leurs temps de rétention avec ceux d'échantillons authentiques purs ainsi qu'en comparant leurs spectres de masse avec les spectres de référence des bases de données NIST11, NIST11_S et FFNSC2. Les pourcentages relatifs des composés ont été calculés sur la base des aires sous courbes des pics chromatographiques. Les composants des huiles essentielles ont été classés en monoterpènes hydrocarbonés, monoterpènes oxygénés, sesquiterpènes hydrocarbonés, sesquiterpènes oxygénés ainsi qu'en d'autres composés non terpéniques.

2.4. Les tests de toxicité par fumigation

Les tests de toxicité par fumigation ont été réalisés dans des petits flacons en plexiglass de 64 ml de volume et à des temps d'exposition de 24, 48, 72 et 96h. Des disques de papier filtre (Whatman N°1) de 2 cm de diamètre ont été suspendus à l'aide d'un fil à la face inférieure des bouchons à vis des flacons et ont été imprégnés avec les doses appropriées d'huile essentielle pure. Le choix des doses des huiles essentielles est basé sur des tests préliminaires, quatre à cinq doses ont été choisies à partir d'une dose initiale et selon une progression arithmétique à raison de 2.

Pour les jeunes stades larvaires (L1), les doses testées sont 0,5, 1, 2 et 4 µl/64ml correspondant aux doses 7,81, 15,63, 31,25 et 62,5 µl/L. Pour les autres stades de développement de l'insecte, les doses testées sont 4, 8, 16, 32 ou 64 µl/64ml correspondant aux doses 62,5, 125, 250, 500 ou 1000 µl/L. Le nombre de répétitions est fixé à 5, y compris pour le témoin qui est réalisé sans exposer les différents stades à l'huile essentielle.

20 individus de chaque stade sont introduits dans chaque flacon. Les œufs et les nymphes sont testés sans substrat alimentaire, les jeunes stades larvaires sont testés dans 0,1 g de semoule, quant aux larves âgées et les adultes, les tests sont réalisés dans 3g de semoule. Les œufs et les jeunes stades larvaires sont d'abord déposés sur un petit couvercle de 3cm de diamètre et 1cm de hauteur puis mis dans les flacons en plexiglass, pour les autres stades de développement, les individus sont directement introduits dans les flacons (figure 24).

Après fumigation, les insectes sont retirés des flacons et mis dans des petites boites de Pétri et un dénombrement des individus morts est ensuite effectué 24h après le traitement pour les larves et les adultes. L'éclosion des œufs et l'émergence des adultes à partir des nymphes ont été vérifiées 7 jours après le traitement.

Les œufs non éclos et les nymphes non émergées sont considérés comme morts, pour les larves et les adultes, la mortalité est notée, lorsqu'aucun mouvement des pattes et des antennes n'est observé sous la loupe binoculaire (G×40).

Les mortalités observées ont été ensuite corrigées uniquement pour les œufs en tenant compte des mortalités naturelles observées dans le témoin en utilisant la formule de correction d'Abbott (Abbott, 1925). Pour les autres stades de développement, nous n'avons pas enregistré de mortalité dans le témoin.

$$MC (\%) = (Mo - Mt / 100 - Mt) \times 100$$

Avec :

Mo : Le pourcentage de mortalité observée chez les individus traités

Mt : Le pourcentage de mortalité observée dans le témoin

Mc : Le pourcentage de mortalité corrigée

2.5. Effectif des descendants de la première génération

Lorsque les œufs ont survécu aux traitements, les jeunes larves sont placées dans des boites de Pétri avec de la semoule jusqu'à l'émergence des adultes. Il en est de même pour les larves des stades L1 et L8 qui ont survécu aux traitements. Le pourcentage d'émergence des adultes à partir du nombre total d'individus traités a été déterminé pour chaque dose et temps d'exposition. En ce qui concerne les nymphes, le pourcentage d'adultes malformés, de mosaïques (individus intermédiaires entre les nymphes et les adultes) ainsi que les adultes sains émergés ont été calculés.

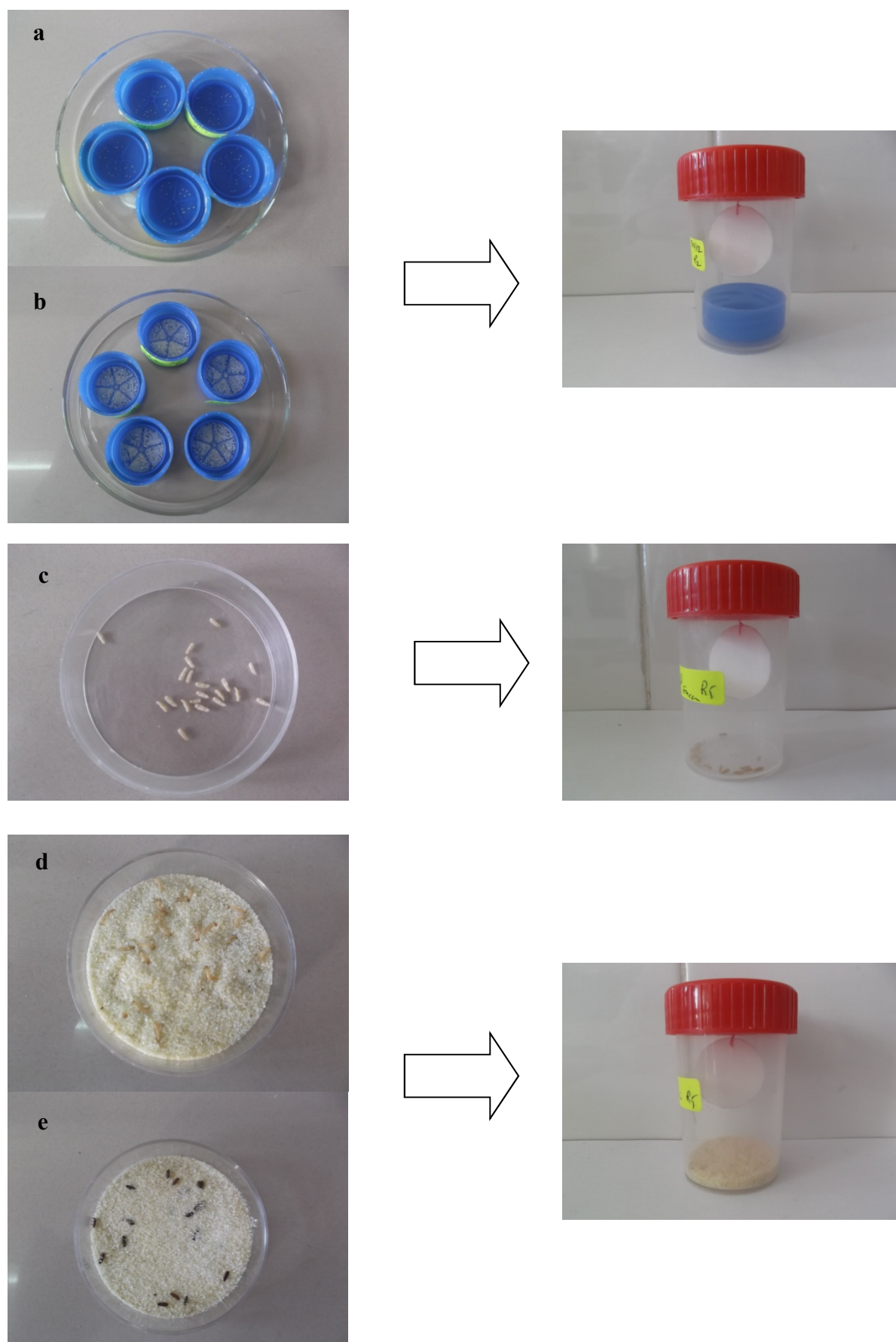


Figure 24. Dispositif expérimental du test de fumigation sur les œufs (a), les jeunes larves (b), les nymphes (c), les larves âgées (d) et les adultes (e) de *T. confusum* (© L. Kheloul)

2.6. Calcul de la CL₅₀

La concentration létale 50 (CL₅₀) est la concentration d'une substance entraînant une mortalité de 50% de la population. Nous avons essayé de déterminer la CL₅₀ après 24h d'exposition pour les huit substances naturelles testées sur les cinq stades de développement de *T. confusum*. Pour cela, nous avons réalisé des tests de fumigation, comme ça été décrit précédemment, en testant cette fois, six jusqu'à huit doses. Tous les essais biologiques sont réalisés dans les mêmes conditions de laboratoire.

3. Analyse statistique des données

Les résultats obtenus de la mortalité corrigée sont soumis à une analyse de la variance après vérification de la normalité des données en utilisant le logiciel Stat Software box (version 6.40). Nous avons pris 500 µl/L comme la plus forte dose pour tous les traitements pour réaliser l'ANOVA. Lorsque l'effet des traitements est significatif, l'analyse est complétée par le test de Newman et Keuls à 5% afin de comparer les moyennes et déterminer les groupes homogènes. Dans le cas où les données ne suivent pas la loi normale, le test non paramétrique de Kruskal-Wallis a été utilisé.

La mortalité corrigée est également soumise à une analyse des probits pour estimer la CL₅₀ après 24h de traitement, à l'aide du logiciel statistique SPSS version 20.

4. Résultats

4.1. Résultats de l'analyse chromatographique des huiles essentielles des Lamiacées

L'analyse chromatographique a permis d'identifier 25 composés dans les trois huiles essentielles représentant 100% de la composition chimique totale pour les huiles essentielles de *L. spica* et *R. officinalis* et 99,99% de la composition chimique totale pour l'huile essentielle de *T. satureioides* (tableau 6).

D'après les résultats de la GC/MS, les trois huiles essentielles sont très riches en monoterpènes, la fraction des monoterpènes oxygénés est plus représentée que les monoterpènes hydrocarbonés. Le taux des sesquiterpènes est faible pour les trois huiles essentielles analysées, la fraction des sesquiterpènes hydrocarbonés est plus importante que celles des sesquiterpènes oxygénés. Les sesquiterpènes hydrocarbonés ne représentent que 1,94% de la composition chimique de l'huile essentielle de lavande aspic, mais 4,07% et 8,12% chez les huiles essentielles de romarin et de thym à feuilles de sariette, respectivement.

Les composés majoritaires trouvés dans l'huile essentielle de la lavande aspic sont le linalool (43,80%), l'eucalyptol (31,81%) et le camphor (11,99%). Pour l'huile essentielle de *R. officinalis*, les principaux constituants sont : l'eucalyptol (57,91%), α -Pinène (11,18%) et camphor (10,55%). Tandis que pour l'huile essentielle de *T. satureioides*, les composés majoritaires sont le bornéol (36,51%), l' α -Terpinéol (14,81%) et le thymol (8,40%) (tableau 6).

Tableau 6. La composition chimique (%) des huiles essentielles des Lamiacées testées. Les composés majeurs sont indiqués en gras. TR : temps de rétention en minutes.

Composés	<i>L. spica</i>		<i>R. officinalis</i>		<i>T. satureioides</i>	
	%	TR (min)	%	TR (min)	%	TR (min)
Monoterpènes hydrocarbonés	5.34		20.85		17.42	
α -Pinène	1.79	10.325	11.18	10.369	3.53	10.338
Camphène	0.51	11.060	3.15	11.054	6.56	11.104
α -Phellandène	0.26	12.570	-	-	-	-
(-)- β -Pinène	1.91	12.669	3.57	12.659	0.67	12.646
β -Myrcène	0.25	13.802	0.88	13.773	0.25	13.790
<i>o</i> -Cymène	0.62	15.800	0.18	15.745	-	-
Tricyclène	-	-	0.09	9.640	0.23	9.665
α -Thujène	-	-	0.11	10.012	0.24	10.029
2-Carene	-	-	0.21	15.218	-	-
<i>p</i> -cymène	-	-	1.04	15.923	3.56	15.762
γ -terpinène	-	-	0.33	18.011	1.24	18.031
Terpinolène	-	-	0.11	19.970	-	-
α -Terpinène	-	-	-	-	0.39	15.213
D-Limonène	-	-	-	-	0.75	15.997
Monoterpènes oxygénés	91.88		74.96		73.46	
Eucalyptol	31.81	16.238	57.91	16.341	0.96	16.080
Linalool	43.80	21.483	0.73	21.089	5.11	21.158
(+)-Camphor	11.99	23.837	10.55	23.782	0.89	23.635
Borneol	0.99	25.397	2.22	25.400	36.51	25.791
Δ -Terpinéol	0.27	25.540	0.48	25.519	-	-
Terpinène-4-ol	0.64	26.208	0.56	26.165	2.12	26.333
α -Terpinéol	1.10	27.245	2.01	27.252	14.81	27.545
Carvacrol	-	-	-	-	1.57	34.895
Thymol	-	-	-	-	8.40	35.618
Linalyl acetate	0.83	31.968	-	-	-	-
Bornyl acetate	0.07	33.766	0.50	33.718	2.08	33.788
Myrtenyl acetate	0.17	34.416	-	-	-	-
3,7-Octadiène-2,6-diol, 2,6-diméthyl-	0.12	39.198	-	-	-	-
Geranyl acetate	0.09	40.629	-	-	-	-
Thymol methyl ether	-	-	-	-	1.01	31.019
Sesquiterpènes hydrocarbonés	1.94		4.07		8.12	
Caryophyllène	1.17	42.480	3.13	42.513	7.28	42.593

(E)- β -Farnésène	0.09	45.254	-	-	-	-
(Z)- α -Bisabolène	0.68	50.509	-	-	-	-
Copaène	-	-	0.24	39.689	-	-
Humulène	-	-	0.29	44.630	-	-
γ -Muuroolène	-	-	0.17	46.225	-	-
Δ -Cadinène	-	-	0.24	49.170	0.48	49.196
γ -Cadinène	-	-	-	-	0.36	48.554
Sesquiterpènes oxygénés	0.67		0.12		0.46	
Caryophyllène oxide	0.43	52.593	0.12	52.557	0.46	52.583
10-epi-cis-Dracunculifoliol	0.24	5.115	-	-	-	-
Autres composés	0.17		0		0.53	
3-Octanone	0.11	13.551	-	-	-	-
Hexyl butyrate	0.06	27.589	-	-	-	-
Bornyl formate	-	-	-	-	0.53	29.643
Total identifié	100		100		99.99	

4.2. Résultats de l'analyse chromatographique des Myrtacées

Les résultats ont montré que la totalité ou la presque totalité des constituants ont été identifiés chez l'ensemble des Myrtacées (tableau 7). Vingt-cinq composés ont été identifiés chez les huiles essentielles de myrte et d'eucalyptus et dix composés uniquement chez l'huile essentielle des clous de girofle.

Les trois huiles essentielles analysées sont riches en monoterpènes qui représentent plus de 90% de leur composition totale. La classe des monoterpènes oxygénés est la plus représentée avec des taux de 94,27%, 78,21%, 77,24%, respectivement chez les huiles essentielles des clous de girofle, d'eucalyptus et de myrte. Les monoterpènes hydrocarbonés n'ont été identifiés que chez les huiles essentielles d'eucalyptus et de myrte avec, respectivement 18,10% et 21,13%. La classe des sesquiterpènes est moins importante, les sesquiterpènes hydrocarbonés et les sesquiterpènes oxygénés sont représentés par de faibles taux.

Les principaux composés majoritaires de l'huile essentielle des clous de girofle sont : l'eugénol (83,20%), l'acétate d'eugényle (10,96%) et le caryophyllène (4,57%). Les principaux constituants de l'huile essentielle d'*E. globulus* sont : l'eucalyptol (74,68%) et l' α -pinène (16,21%). Les composés majoritaires de l'huile essentielle de *M. communis* sont : l'eucalyptol (44,83%), l' α -pinène (20,36%) et le myrtenyl acétate (19,14%).

Tableau 7. La composition chimique (%) des huiles essentielles des Myrtacées testées. Les composés majeurs sont indiqués en gras. TR : temps de rétention en minutes.

Composés	<i>E. caryophyllata</i>		<i>E. globulus</i>		<i>M. communis</i>	
	%	TR (min)	%	TR (min)	%	TR (min)
Monoterpènes hydrocarbonés	0		18.1		21.13	
α -Pinène	-	-	16.21	10.431	20.36	10.425
Camphène	-	-	0.06	11.077	-	-
β -Pinène	-	-	0.33	12.662	0.26	12.655
β -Myrcène	-	-	0.28	13.816	0.12	13.813
α -Phellandrène	-	-	0.23	14.454	-	-
β -Cymène	-	-	0.38	15.800	-	-
γ -Terpinène	-	-	0.48	18.059	0.13	18.041
2-Carene	-	-	0.13	20.012	-	-
α -Thujène	-	-	-	-	0.10	10.052
β -cis-Ocimène	-	-	-	-	0.16	17.498
Monoterpènes oxygénés	94.27		78.21		77.24	
Eucalyptol	-	-	74.68	16.403	44.83	16.279
Linalool	-	-	0.06	21.062	3.90	21.139
(E)-Pinocarveol	-	-	0.55	23.380	-	-
Pinocarvone	-	-	0.07	24.998	-	-
δ -Terpinéol	-	-	0.06	25.519	-	-
Terpinène-4-ol	-	-	0.28	26.167	0.30	26.162
α -Terpinéol	-	-	1.48	27.242	3.51	27.284
(-)-Myrténol	-	-	-	-	0.30	27.627
Estragole	-	-	-	-	0.22	27.730
2-Hydroxycinéol	-	-	-	-	0.27	37.652
Eugenol	83.20	39.467	-	-	-	-
Methyleugenol	0.11	42.030	-	-	0.81	41.999
Eugenyl acetate	10.96	49.913	-	-	-	-
α -Terpinyl acetate	-	-	1.03	38.157	0.42	38.160
(-)-trans-Pinocarvyl acetate	-	-	-	-	0.27	34.752
Myrtenyl acetate	-	-	-	-	19.14	36.719
Geranyl acetate	-	-	-	-	3.13	40.684
Carveol	-	-	-	-	0.14	45.608
Sesquiterpènes hydrocarbonés	5.16		2.96		0.6	
α -Copaène	0.09	39.820	-	-	-	-
Caryophyllène	4.57	42.600	-	-	0.42	42.478
Humulène	0.50	44.693	-	-	0.18	44.659
α -Gurjunène	-	-	0.23	41.886	-	-
(+)-Calarène	-	-	0.08	43.244	-	-
Aromandendrène	-	-	1.89	43.764	-	-
cis-Eudesma-6,11-diène	-	-	0.07	44.050	-	-
Alloaromadendrène	-	-	0.41	45.109	-	-
Viridiflorene	-	-	0.28	47.360	-	-
Sesquiterpènes oxygénés	0.38		0.61		0	
Caryophyllène oxide	0.33	52.622	-	-	-	-
Humulène epoxide II	0.05	54.191	-	-	-	-

Epiglobulol	-	-	0.14	51.288	-	-
Globulol	-	-	0.47	52.751	-	-
Autres composés	0.19		0.1		1.02	
Furfural	0.04	6.000	-	-	-	-
Methyl salicylate	0.15	27.339	-	-	-	-
Cyclohexene, 2-ethenyl-1,3,3-trimethyl-	-	-	0.10	29.963	-	-
Isobutyl isobutyrate	-	-	-	-	0.20	9.529
Isobutyl 2-methylbutyrate	-	-	-	-	0.14	14.585
2-Methylbutyl 2-methylbutyrate	-	-	-	-	0.26	21.345
Linalyl anthranilate	-	-	-	-	0.42	31.971
Total identifié	100		99.98		99.99	

4.3. Résultats des tests par fumigation sur les œufs de *T. confusum*

D'après les résultats obtenus (figure 25), l'huile essentielle des clous de girofle a provoqué 100% de mortalité chez les œufs de *T. confusum* à la plus faible dose de 62,5 µl/L et en 24h seulement. Par contre, l'huile essentielle de lavande aspic et l'eucalyptol n'ont enregistré 100% de mortalité qu'à la plus forte dose de 500 µl/L, après 96h d'exposition. Quant au linalool, 100 % de mortalité est obtenu à la dose 250 µl/L, après 96h.

L'analyse de la variance à 3 critères de classification des résultats de la mortalité a montré des différences très hautement significatives pour les effets des facteurs : dose ($f=1112,794$, $p<0,001$, $df=4$), temps d'exposition ($f=128,851$, $p<0,001$, $df=3$) et traitement ($f=1000,34$, $p<0,001$, $df=7$) ainsi que pour les interactions entre ces facteurs : dose×temps ($f=35,66$, $p<0,001$, $df=12$), dose×traitement ($f=115,857$, $p<0,001$, $df=28$), temps×traitement ($f=13,422$, $p<0,001$, $df=21$), dose×temps×traitement ($f=4,74$, $p<0,001$, $df=84$).

Par ailleurs, le test de Newman et Keuls classe les doses en 5 groupes homogènes, la dose la plus élevée (500 µl/L) est classée dans le groupe A (tableau 1, annexes). Pour le facteur temps d'exposition, le test a révélé 4 groupes homogènes, le groupe A correspond à 96h d'exposition avec le plus fort taux de mortalité (tableau 2, annexes).

Le test de Newman et Keuls, au seuil de signification de 5%, classe les 8 traitements par ordre de toxicité dans 6 groupes homogènes. L'huile essentielle des clous de girofle est la plus toxique à l'égard des œufs de *T. confusum* et l'huile essentielle de romarin est la moins toxique (tableau 8).

Tableau 8. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'efficacité des 8 traitements sur les œufs de *T. confusum*

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes					
<i>E. caryophyllata</i>	81,55	A					
Linalool	51,299		B				
<i>L. spica</i>	30,375			C			
Eucalyptol	26,771				D		
<i>T. satureioides</i>	19,431					E	
<i>M. communis</i>	17,937					E	
<i>E. globulus</i>	17,1					E	
<i>R. officinalis</i>	13,24						F

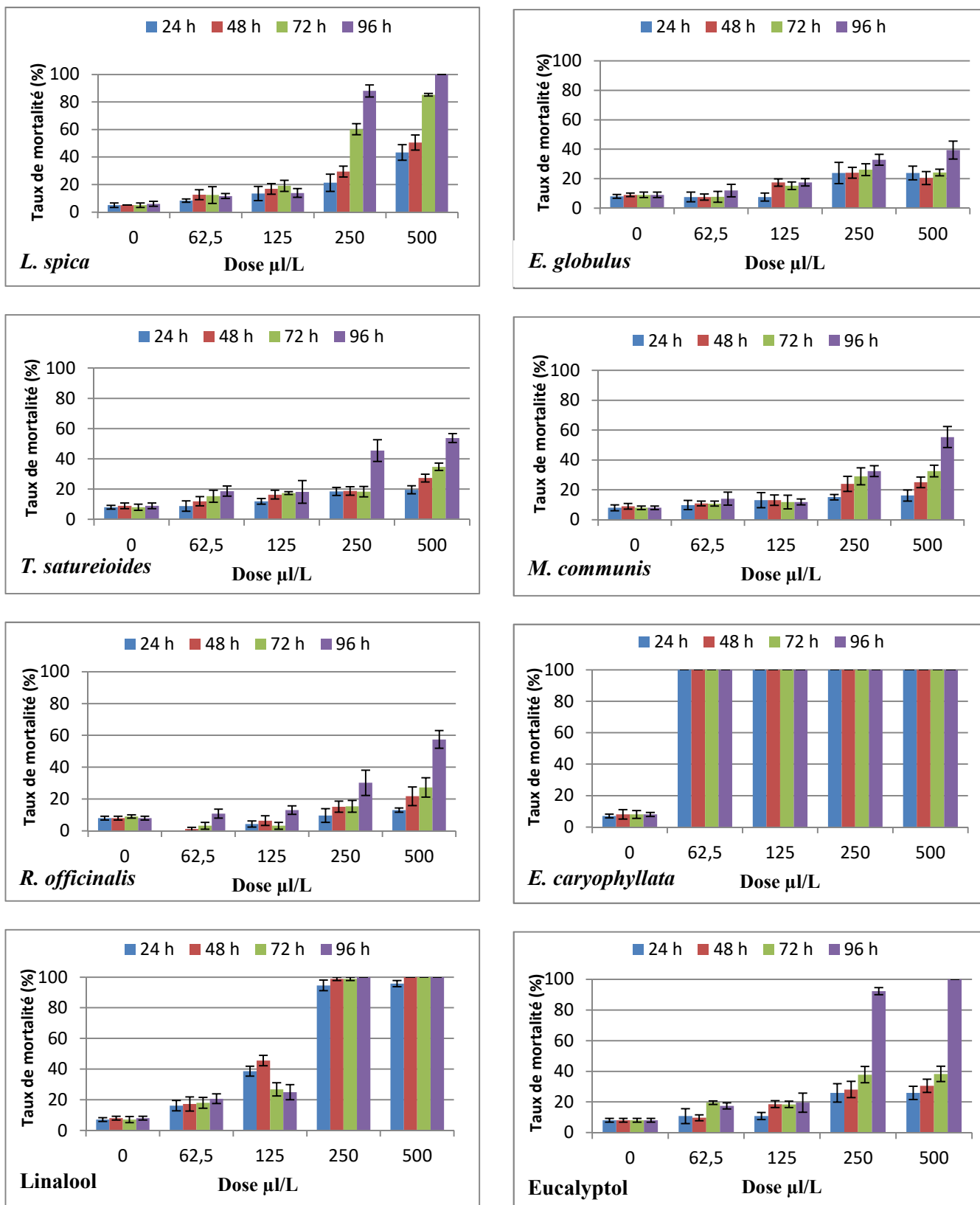


Figure 25. Taux de mortalité corrigée (moyenne \pm SEM) des œufs de *T. confusum* traités par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.

4.3.1. Taux de survie post-embryonnaire des œufs traités

L'émergence des adultes à partir des œufs traités avec les différentes substances naturelles diminue lorsque la dose et le temps d'exposition augmentent, alors que les taux de survie post-embryonnaire des œufs dans le témoin sont proches de 100% (figure 26).

L'analyse de la variance à 3 critères de classification des résultats du taux de survie post-embryonnaire a montré des différences très hautement significatives pour les effets des facteurs : dose ($f=1735,751$, $p<0,001$, $df=4$), temps d'exposition ($f=213,15$, $p<0,001$, $df=3$) et traitement ($f=667,308$, $p<0,001$, $df=7$) ainsi que pour les interactions entre ces facteurs : dose×temps ($f=48,077$, $p<0,001$, $df=12$), dose×traitement ($f=86,104$, $p<0,001$, $df=28$), temps×traitement ($f=15,309$, $p<0,001$, $df=21$), dose×temps×traitement ($f=4,231$, $p<0,001$, $df=84$).

Par ailleurs, le test de Newman et Keuls classe les doses en 5 groupes homogènes. Le groupe A comprend le témoin avec un taux élevé d'adultes qui émergent et dans le dernier groupe est classé la dose la plus élevée de 500 µl/L avec un faible taux d'émergence (tableau 3, annexes). Pour le facteur temps d'exposition, le test a révélé 4 groupes homogènes, le groupe A correspond au temps de 24h avec un taux élevé d'émergence et dans le dernier groupe est classé le temps 96h d'exposition (tableau 4, annexes).

Le test classe également les 8 traitements dans 6 groupes homogènes (tableau 9). Le groupe A comprend l'huile essentielle de romarin avec le taux d'émergence le plus élevé et dans le dernier groupe F est classé l'huile essentielle des clous de girofle ayant le taux le plus faible d'émergence des adultes.

Tableau 9. Résultats du test de Newman et Keuls sur l'action des 8 traitements sur le taux de survie post-embryonnaire des œufs traités de *T. confusum*

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes					
<i>R. officinalis</i>	74,55	A					
<i>E. globulus</i>	69,35		B				
<i>M. communis</i>	65,3			C			
<i>T. satureioides</i>	63,65			C			
Eucalyptol	58,8				D		
<i>L. spica</i>	58,8				D		
Linalool	42,95					E	
<i>E.caryophyllata</i>	17,75						F

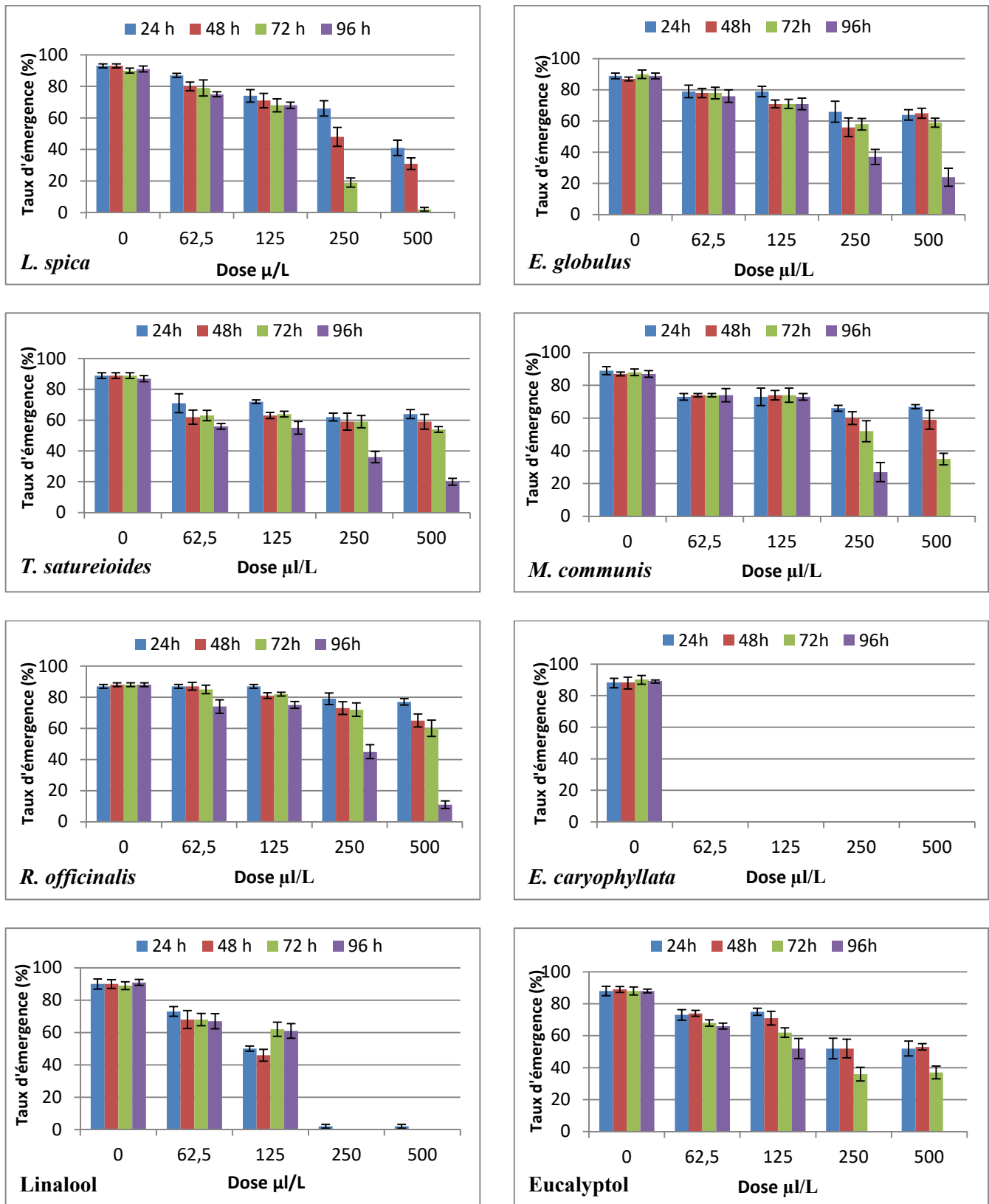


Figure 26. Taux de survie post-embryonnaire (moyenne \pm SEM) des œufs de *T. confusum* traités par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.

4.3.2. Détermination de la CL₅₀, après 24h, dans les traitements des œufs de *T. confusum*

La figure 27 illustre le taux de mortalité moyen corrigé selon les doses pour la détermination de la CL₅₀ de l'huile essentielle des clous de girofle et du linalool. La mortalité augmente au fur et à mesure que la dose augmente.

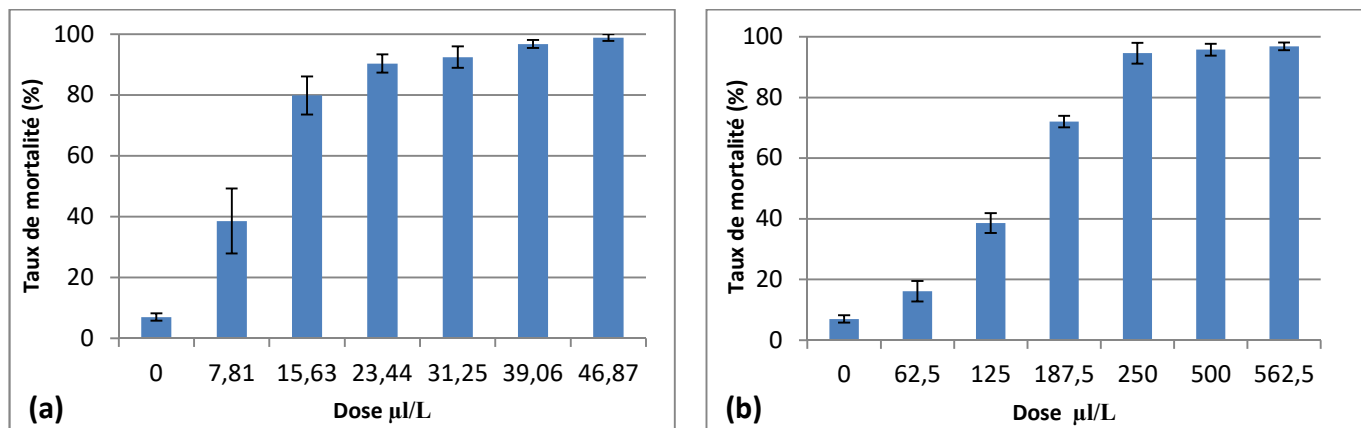


Figure 27. Taux de mortalité moyen corrigé (moyenne±SEM) des œufs de *T. confusum* traités par fumigation avec *E. caryophyllata* (a) et le linalool (b), après 24h

L'analyse des probits a montré que l'huile essentielle des clous de girofle et le linalool sont très toxiques à l'égard des œufs de *T. confusum*. Les autres substances naturelles nécessitent une CL₅₀ supérieure à 500 µl/L (tableau 10).

Tableau 10. Les valeurs de la CL₅₀ des différents traitements à l'égard des œufs de *T. confusum*

Traitements	Dose CL ₅₀ (µl/L)	95% confidence limits	Intercept	Slope	df	Khi-deux
Famille des Lamiacées		-	-	-	-	-
<i>L. spica</i>	> 500	-	-	-	-	-
<i>T. satureioides</i>	> 500	-	-	-	-	-
<i>R. officinalis</i>	> 500	-	-	-	-	-
Famille des Myrtacées		-	-	-	-	-
<i>E. globulus</i>	> 500	-	-	-	-	-
<i>M. communis</i>	> 500	-	-	-	-	-
<i>E. caryophyllata</i>	9,263	(7,838-10,555)	-2,982	3,084	4	2,570 ⁽¹⁾
Monoterpènes						
Linalool	128,404	(90,878-165,494)	-7,094	3,364	4	16,318 ⁽²⁾
Eucalyptol	> 500	-	-	-	-	-

⁽¹⁾ Le niveau de signification étant supérieur à 0,15, aucun facteur d'hétérogénéité n'est utilisé dans le calcul des limites de confiance.

⁽²⁾ Le niveau de signification étant inférieur à 0,15, un facteur d'hétérogénéité est utilisé dans le calcul des limites de confiance.

4.4. Résultats des tests par fumigation sur les jeunes larves de *T. confusum*

D'après les résultats obtenus (figure 28), les huiles essentielles testées ont montré un effet insecticide intéressant vis-à-vis des jeunes larves de *T. confusum*. Nous avons obtenu 100% de mortalité à la plus faible dose de 7,81 µl/L, après 96h, avec l'huile essentielle de romarin et l'eucalyptol.

L'analyse de la variance à 3 critères de classification des résultats de la mortalité a montré des différences très hautement significatives pour les effets des facteurs : dose ($f=4991,816$, $p<0,001$, $df=4$), temps d'exposition ($f=652,789$, $p<0,001$, $df=3$) et traitement ($f=511,76$, $p<0,001$, $df=7$) ainsi que pour les interactions entre ces facteurs : dose×temps ($f=65,288$, $p<0,001$, $df=12$), dose×traitement ($f=71,576$, $p<0,001$, $df=28$), temps×traitement ($f=36,58$, $p<0,001$, $df=21$), dose×temps×traitement ($f=8,201$, $p<0,001$, $df=84$).

Par ailleurs, le test de Newman et Keuls classe les doses en 5 groupes homogènes, la dose la plus élevée (62,5 µl/L) est classée dans le groupe A (tableau 5, annexes). Pour le facteur temps d'exposition, le test a révélé 4 groupes homogènes, le groupe A correspond à 96h et le dernier groupe à 24h d'exposition (tableau 6, annexes).

Le même test classe également les 8 traitements par ordre de toxicité dans 7 groupes homogènes. Le groupe A correspond au traitement le plus toxique qui est l'eucalyptol et dans le dernier groupe l'huile essentielle de myrte qui est la moins toxique à l'égard des jeunes larves (Tableau 11).

Tableau 11. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'efficacité des 8 traitements sur les jeunes larves de *T. confusum*

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes						
Eucalyptol	78,4	A						
<i>R. officinalis</i>	74,7		B					
<i>E. globulus</i>	71,1			C				
Linalool	67,5				D			
<i>E. caryophyllata</i>	65,95				D			
<i>L. spica</i>	63,1					E		
<i>T. satureioides</i>	47,6						F	
<i>M. communis</i>	33,65							G

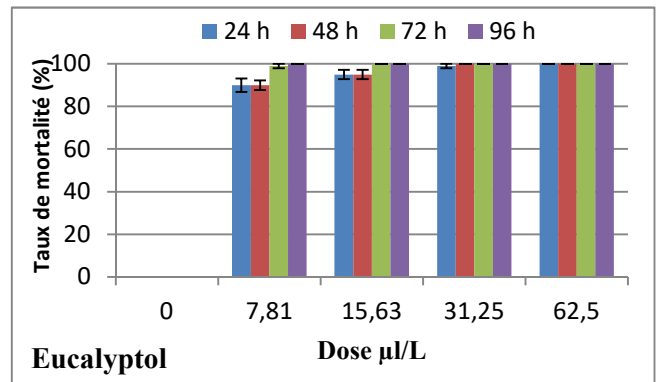
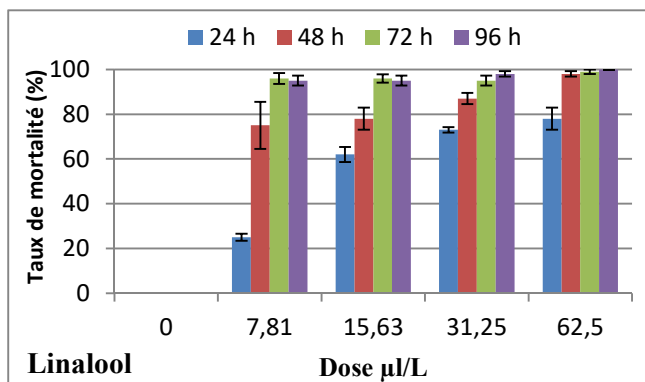
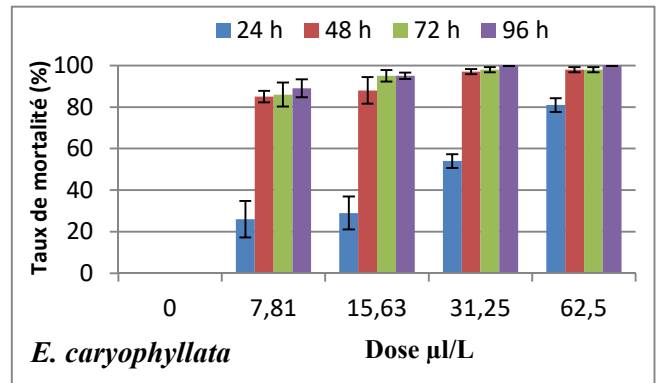
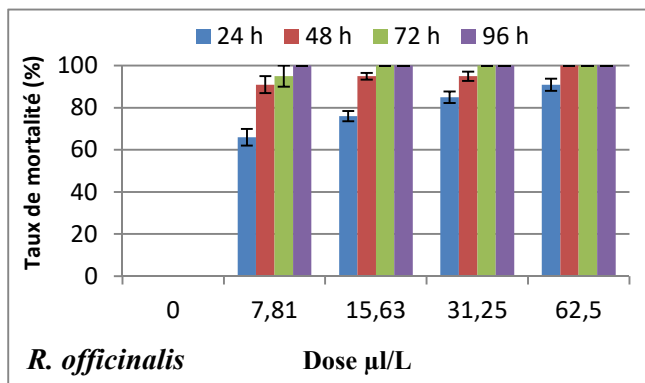
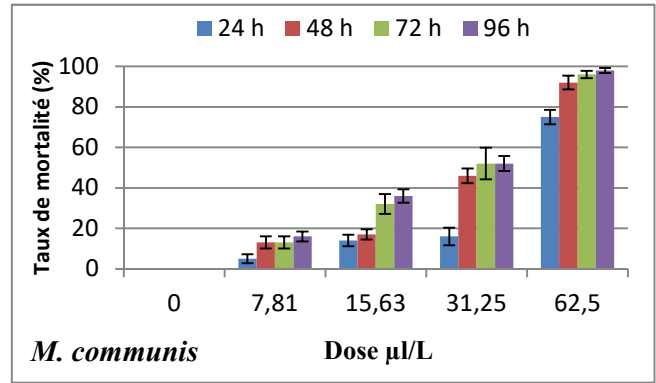
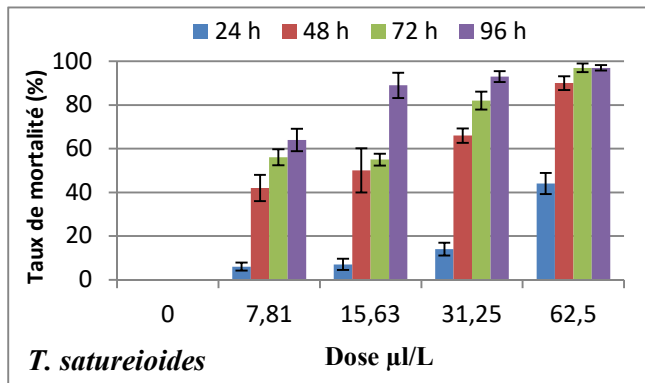
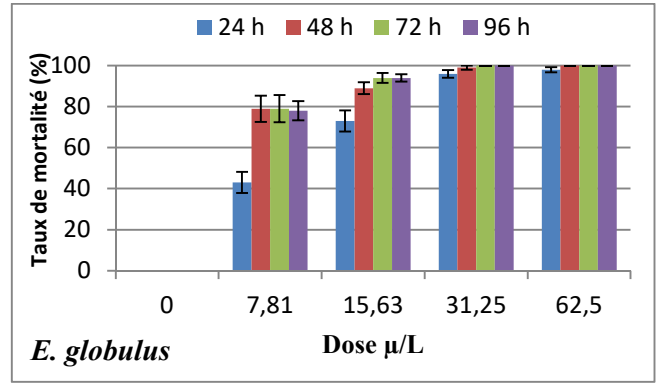
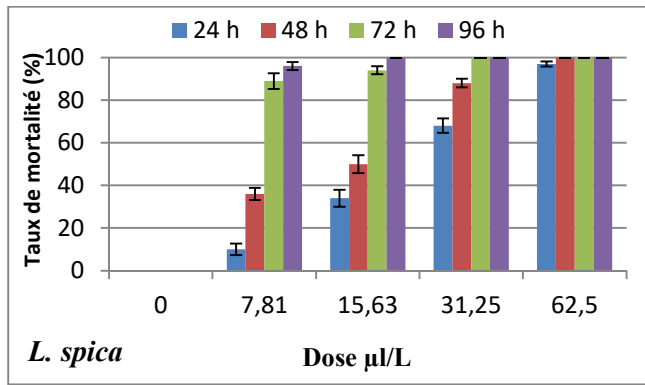


Figure 28. Taux de mortalité moyen (moyenne \pm SEM) des jeunes larves de *T. confusum* traités par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.

4.4.1. Taux d'émergence des adultes à partir des jeunes larves traitées

L'émergence des adultes à partir des jeunes larves traitées avec les différentes substances naturelles diminue lorsque la dose et le temps d'exposition augmentent, alors que les émergences dans le témoin sont proches 100% (figure 29).

L'analyse de la variance à 3 critères de classification des résultats du taux d'émergence a montré des différences très hautement significatives pour les effets des facteurs: dose ($f=5237,439$, $p<0,001$, $df=4$), temps d'exposition ($f=174,908$, $p<0,001$, $df=3$) et traitement ($f=436,891$, $p<0,001$, $df=7$) ainsi que pour les interactions entre ces facteurs : dose×temps ($f=22,779$, $p<0,001$, $df=12$), dose×traitement ($f=66,728$, $p<0,001$, $df=28$), temps×traitement ($f=11,925$, $p<0,001$, $df=21$), dose×temps×traitement ($f=4,192$, $p<0,001$, $df=84$).

Par ailleurs, le test de Newman et Keuls classe les doses en 5 groupes homogènes. Dans le premier groupe est classé le témoin avec un taux élevé d'adultes émergés et dans dernier groupe est classé la dose la plus élevée 500 µl/L avec un faible taux d'émergence (tableau 7, annexes). Pour le facteur temps d'exposition, le test a révélé 3 groupes homogènes, le groupe A comprend le temps de 24h avec un taux élevé d'émergence et dans le dernier groupe sont classés les temps 72h et 96h d'exposition (tableau 8, annexes).

Le même test classe également les 8 traitements dans 5 groupes homogènes. Le premier groupe comprend l'huile essentielle de myrte qui présente le taux d'émergence des adultes le plus élevé et dans le dernier groupe, l'eucalyptol et l'huile essentielle de romarin avec un faible taux d'émergence des adultes (tableau 12).

Tableau 12. Résultats du test de Newman et Keuls sur l'action des 8 traitements sur l'émergence des adultes à partir des jeunes larves traitées de *T. confusum*

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes				
<i>M. communis</i>	61	A				
<i>T. satureioides</i>	38,75		B			
Linalool	28,25			C		
<i>E. caryophyllata</i>	27,95			C		
<i>E. globulus</i>	25,25				D	
<i>L. spica</i>	24,75				D	
Eucalyptol	20,75					E
<i>R. officinalis</i>	20					E

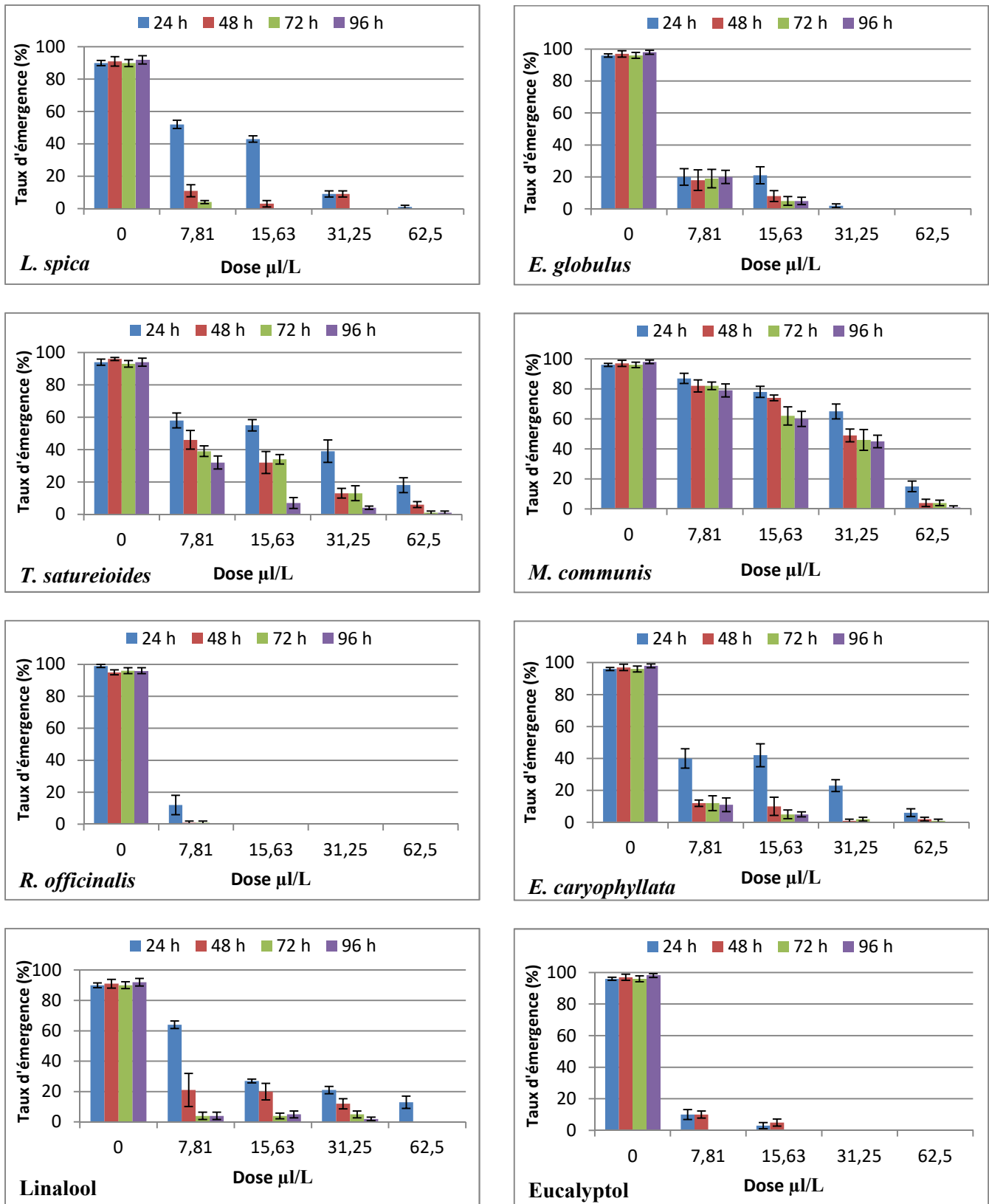


Figure 29. Taux d'émergence (moyenne \pm SEM) des adultes de *T. confusum* à partir des jeunes larves traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.

4.4.2. Détermination de la CL₅₀, après 24h, dans les traitements des jeunes larves de *T. confusum*

La figure 30 illustre les taux de mortalités des jeunes larves qui varient selon les substances et les doses testées.

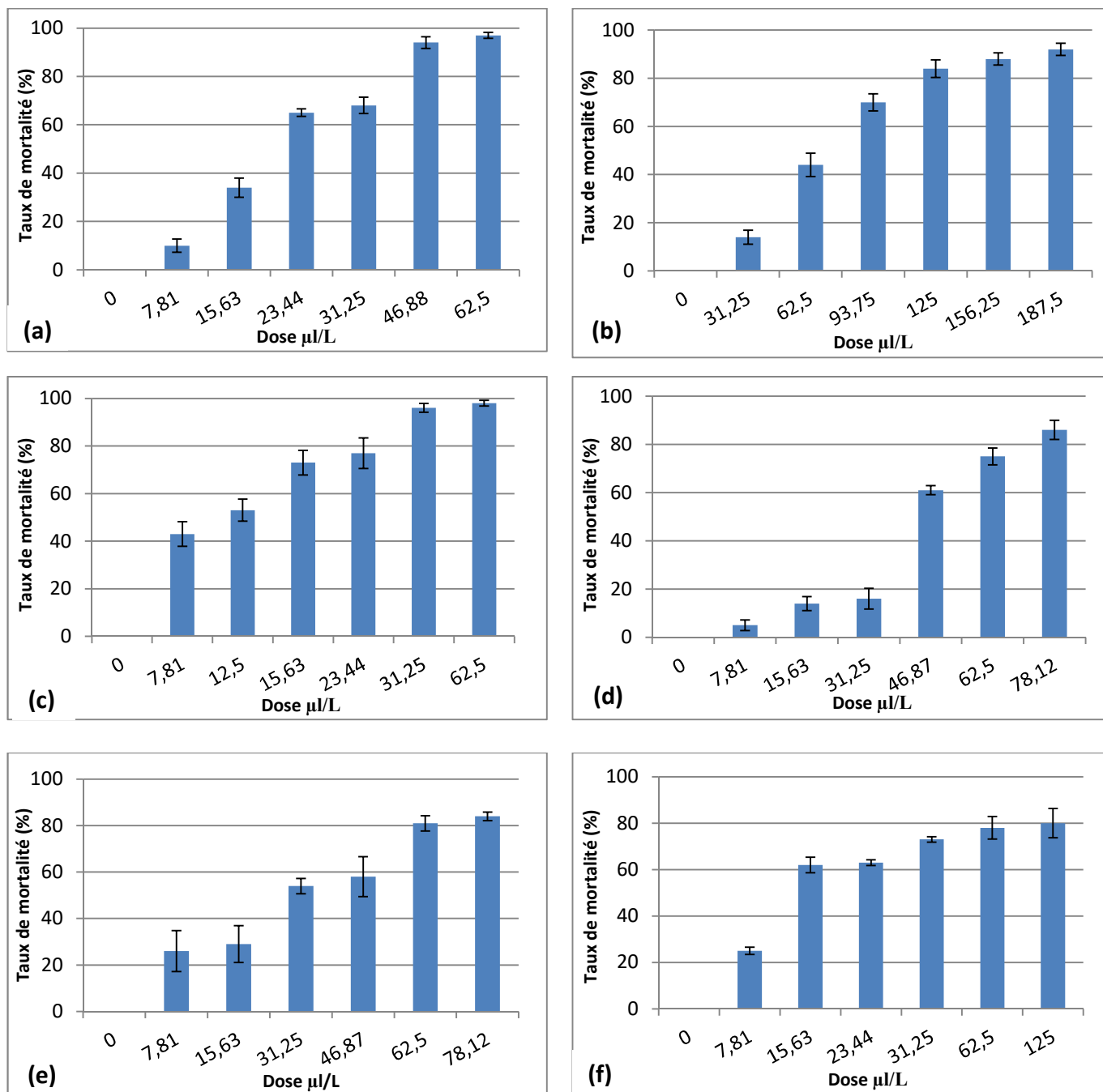


Figure 30. Taux de mortalité moyen (moyenne±SEM) des jeunes larves de *T. confusum* traitées par fumigation avec *L. spica* (a), *T. saturoioides* (b), *E. globulus* (c), *M. communis* (d), *E. caryophyllata* (e) et linalool (f), après 24h.

Les résultats de l'analyse des probits révèlent que l'eucalyptol et l'huile essentielle de romarin sont les plus toxiques vis-à-vis des jeunes larves de *T. confusum* avec une CL_{50} inférieure à 7,81 $\mu\text{l/L}$. Le traitement le moins toxique est l'huile essentielle de *T. saturoioides* avec une $CL_{50}= 66,852 \mu\text{l/L}$, après 24h (tableau 13).

Tableau 13. Les valeurs de la CL_{50} des différents traitements à l'égard des jeunes larves de *T. confusum*

Traitements	Dose CL_{50} ($\mu\text{l/L}$)	95% confidence limits	Intercept	Slope	df	Khi-deux
Famille des Lamiacées						
<i>L. spica</i>	19,535	(17,892 -21,188)	-4,516	3,498	4	6,617 ⁽¹⁾
<i>T. saturoioides</i>	66,852	(60,552-72,925)	-6,021	3,299	4	0,922 ⁽¹⁾
<i>R. officinalis</i>	< 7,81	-	-	-	-	-
Famille des Myrtacées						
<i>E. globulus</i>	10,012	(6,331-12,836)	-2,639	2,638	4	10,105 ⁽²⁾
<i>M. communis</i>	40,215	(26,529-62,558)	-4,759	2,967	4	29,396 ⁽²⁾
<i>E. caryophyllata</i>	25,374	(15,624-36,994)	-2,377	1,692	4	12,591 ⁽²⁾
Monoterpènes						
Linalool	14,198	(1,841–26,500)	-1,355	1,176	4	17,832 ⁽²⁾
Eucalyptol	< 7,81	-	-	-	-	-

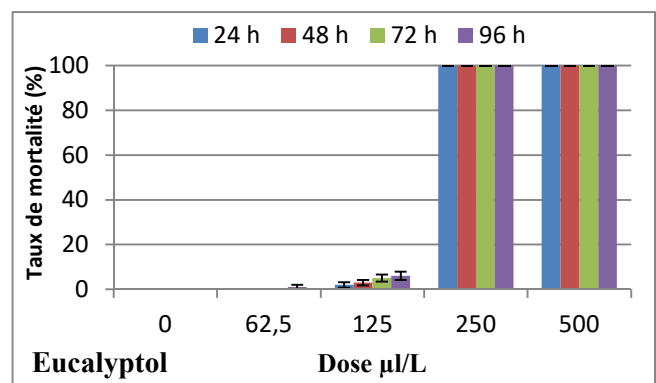
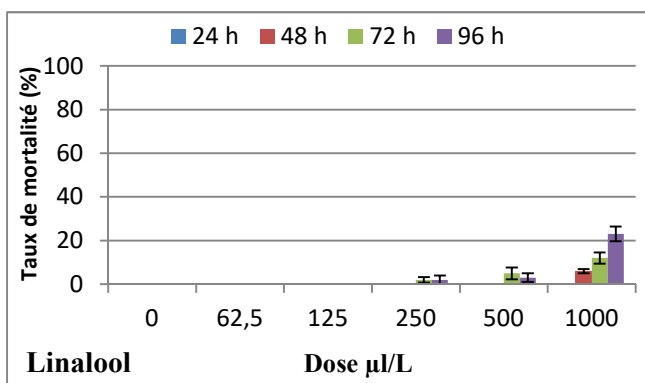
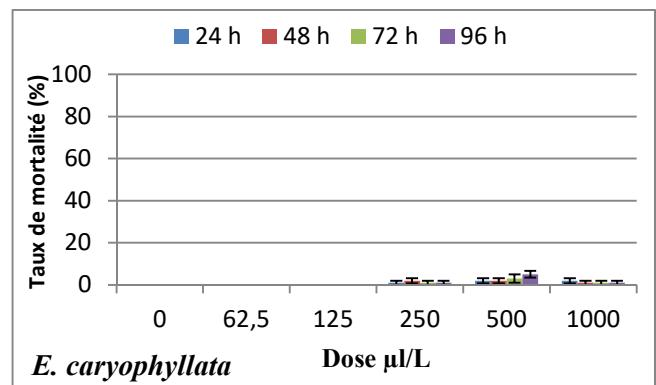
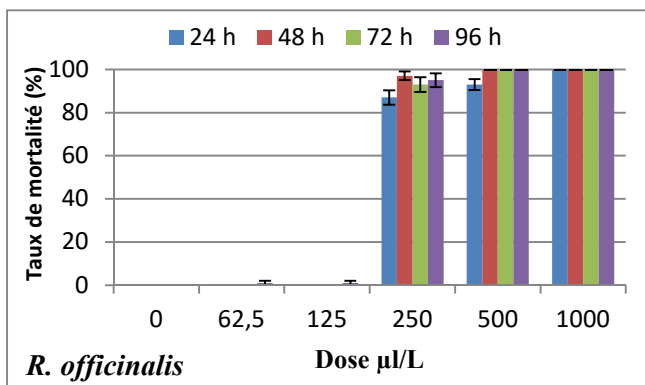
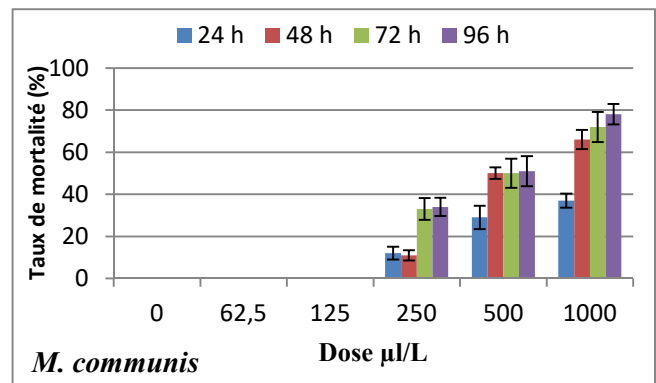
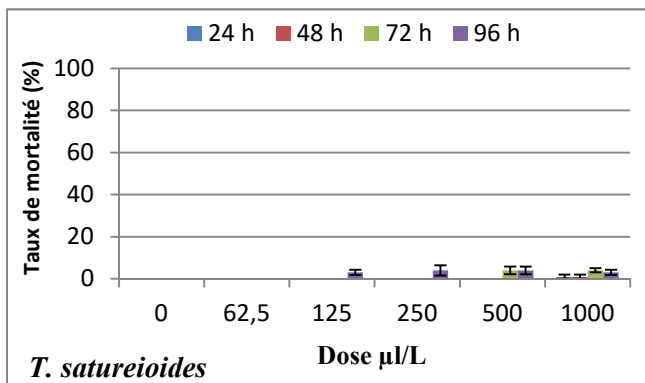
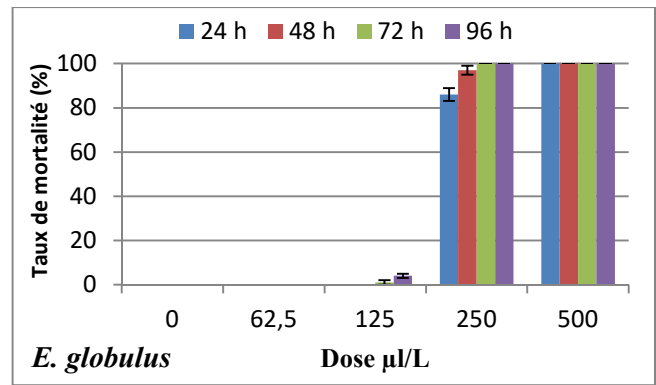
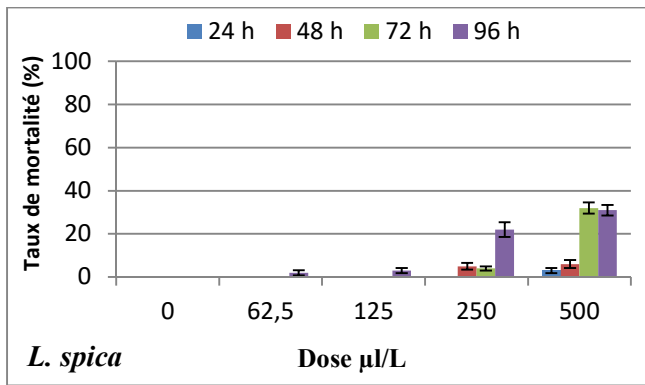
⁽¹⁾ Le niveau de signification étant supérieur à 0,15, aucun facteur d'hétérogénéité n'est utilisé dans le calcul des limites de confiance.

⁽²⁾ Le niveau de signification étant inférieur à 0,15, un facteur d'hétérogénéité est utilisé dans le calcul des limites de confiance.

4.5. Résultats des tests par fumigation sur les larves âgées de *T. confusum*

D'après les résultats obtenus (figure 31), les huiles essentielles d'eucalyptus, de romarin et l'eucalyptol ont montré une efficacité considérable contre les larves âgées de *T. confusum*. En effet, nous avons enregistré 80 à 100% de mortalité aux plus fortes doses et temps d'exposition.

L'analyse de la variance à 3 critères de classification des résultats de mortalité a montré des différences très hautement significatives pour les effets des facteurs : dose ($f=8156,477$, $p<0,001$, $df=4$), temps d'exposition ($f=55,031$, $p<0,001$, $df=3$) et traitement ($f=3238,555$, $p<0,001$, $df=7$) ainsi que pour les interactions entre ces facteurs : dose×temps ($f=15,455$, $p<0,001$, $df=12$), dose×traitement ($f=1192,807$, $p<0,001$, $df=28$), temps×traitement ($f=8,27$, $p<0,001$, $df=21$), dose×temps×traitement ($f=5,623$, $p<0,001$, $df=84$).



Figures 31. Taux de mortalité moyen (moyenne \pm SEM) des larves âgées de *T. confusum* traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.

Par ailleurs, le test de Newman et Keuls classe les doses en 3 groupes homogènes. La dose la plus élevée (500 µl/L) est classée dans le premier groupe, les deux faibles doses et le témoin dans le dernier groupe (tableau 9, annexes). Pour le facteur temps d'exposition, le test a révélé 4 groupes homogènes, le premier groupe comprend le temps de 96h avec le plus fort taux de mortalité (tableau 10, annexes).

Le test classe également les 8 traitements par ordre de toxicité dans 6 groupes homogènes. L'eucalyptol est le traitement le plus toxique à l'égard des larves âgées de *T. confusum* et *E. caryophyllata*, *T. satureioides* et linalool sont les moins toxiques (tableau 14).

Tableau 14. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'efficacité des 8 traitements sur les larves âgées de *T. confusum*

Traitement	Moyennes	Groupes homogènes					
Eucalyptol	40,85	A					
<i>E. globulus</i>	39,4		B				
<i>R. officinalis</i>	38,35			C			
<i>M. communis</i>	13,5				D		
<i>L. spica</i>	5,4					E	
<i>E. caryophyllata</i>	0,85						F
<i>T. satureioides</i>	0,75						F
Linalool	0,6						F

4.5.1. Taux d'émergence des adultes à partir des larves âgées traitées

D'après les résultats obtenus (figure 32), seules les huiles essentielles d'eucalyptus et de romarin ainsi que l'eucalyptol affectent de façon très significative le nombre d'adultes émergents lorsqu'on traite les larves âgées avec la dose de 250 µl/L. Le linalool a révélé également une activité très significative sur ce paramètre mais à la plus forte dose (1000 µl/L) et après 96h. L'huile essentielle de myrte a révélé un effet significatif à partir de la dose 250 µl/L alors que les autres produits utilisés sont sans effet sur les larves âgées de *T. confusum*.

L'analyse de la variance à 3 critères de classification du taux d'émergence a montré des différences très hautement significatives pour les effets des facteurs: dose (f=5074,081, p<0,001, df=4), temps d'exposition (f=57,417, p<0,001, df=3) et traitement (f=1835,022, p<0,001, df=7) ainsi que pour les interactions entre ces facteurs : dose×temps (f=13,714, p<0,001, df=12), dose×traitement (f=641,809, p<0,001, df=28), temps×traitement (f=4,079, p<0,001, df=21), dose×temps×traitement (f=4,71, p<0,001, df=84).

Par ailleurs, le test de Newman et Keuls classe les doses en 5 groupes homogènes. Dans le groupe A est classé le témoin avec un taux élevé d'adultes qui émergent et dans le dernier groupe est classé la dose la plus élevée avec un faible taux d'émergence (tableau 11, annexes). Pour le facteur temps d'exposition, le test a révélé 4 groupes homogènes, le groupe A comprend le temps de 24h, avec un taux élevé d'émergence et dans le dernier groupe, le temps 96h d'exposition avec moins d'adultes émergents (tableau 12, annexes).

Le test classe également les 8 traitements dans 5 groupes homogènes. Le premier groupe comprend les huiles essentielles de thym et des clous de girofle avec un taux d'émergence des adultes le plus élevé et dans le dernier groupe, nous trouvons l'huile essentielle de romarin et l'eucalyptol avec un faible pourcentage d'émergence des adultes (Tableau 15).

Tableau 15. Résultats du test de Newman et Keuls sur l'action des 8 traitements sur l'émergence des adultes à partir des larves âgées de *T. confusum* traitées

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes					
<i>E. caryophyllata</i>	97,75	A					
<i>T. satureioides</i>	97,7	A					
Linalool	95,75		B				
<i>L. spica</i>	92,15			C			
<i>M. communis</i>	84,25				D		
<i>E. globulus</i>	59,95					E	
<i>R. officinalis</i>	58,25						F
Eucalyptol	58,2						F

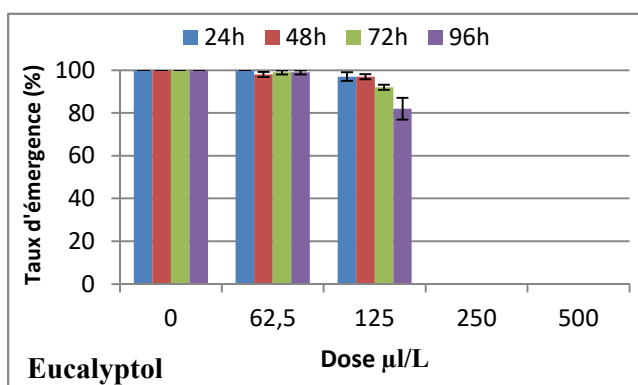
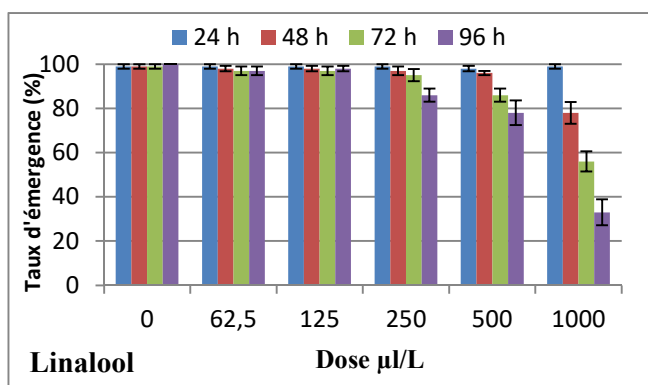
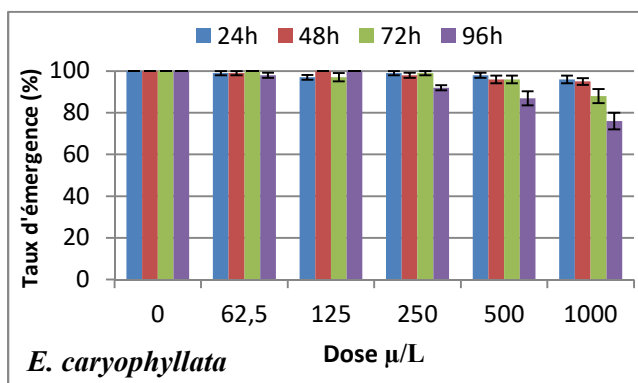
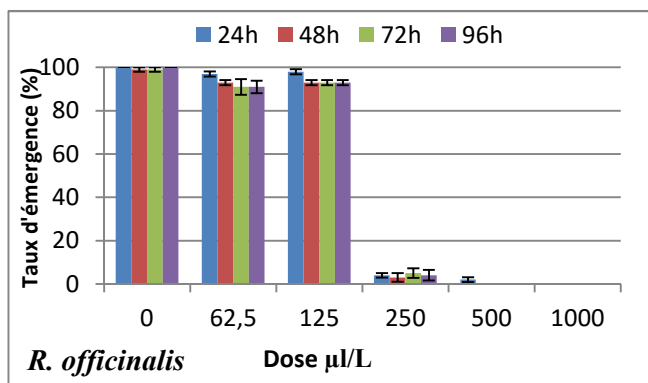
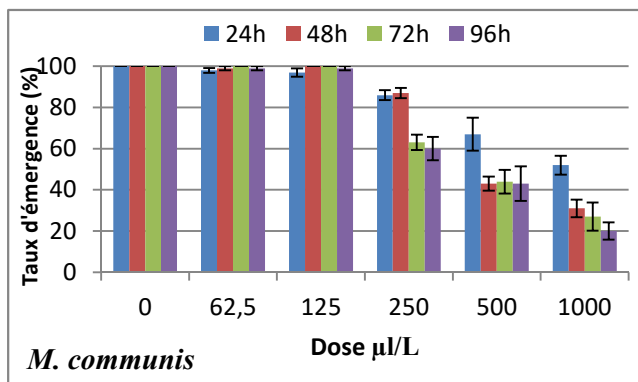
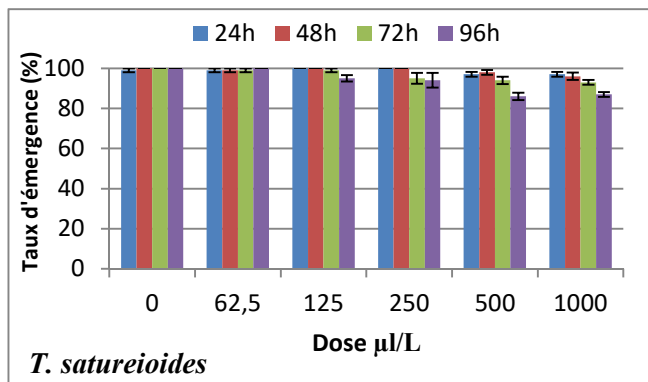
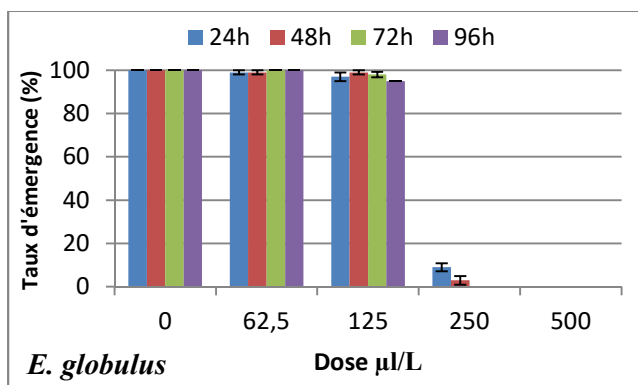
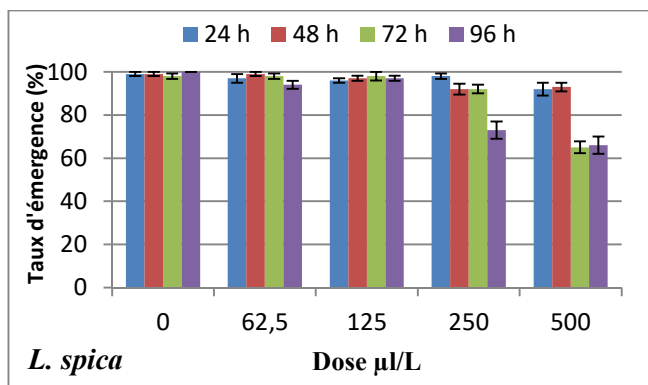


Figure 32. Taux d'émergence (moyenne ±SEM) des adultes de *T. confusum* à partir des larves âgées traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes

4.5.2. Détermination de la CL₅₀, après 24h, dans les traitements des larves âgées de *T. confusum*

La figure 33 montre que le taux de mortalité varie selon les doses utilisées et les substances naturelles testées.

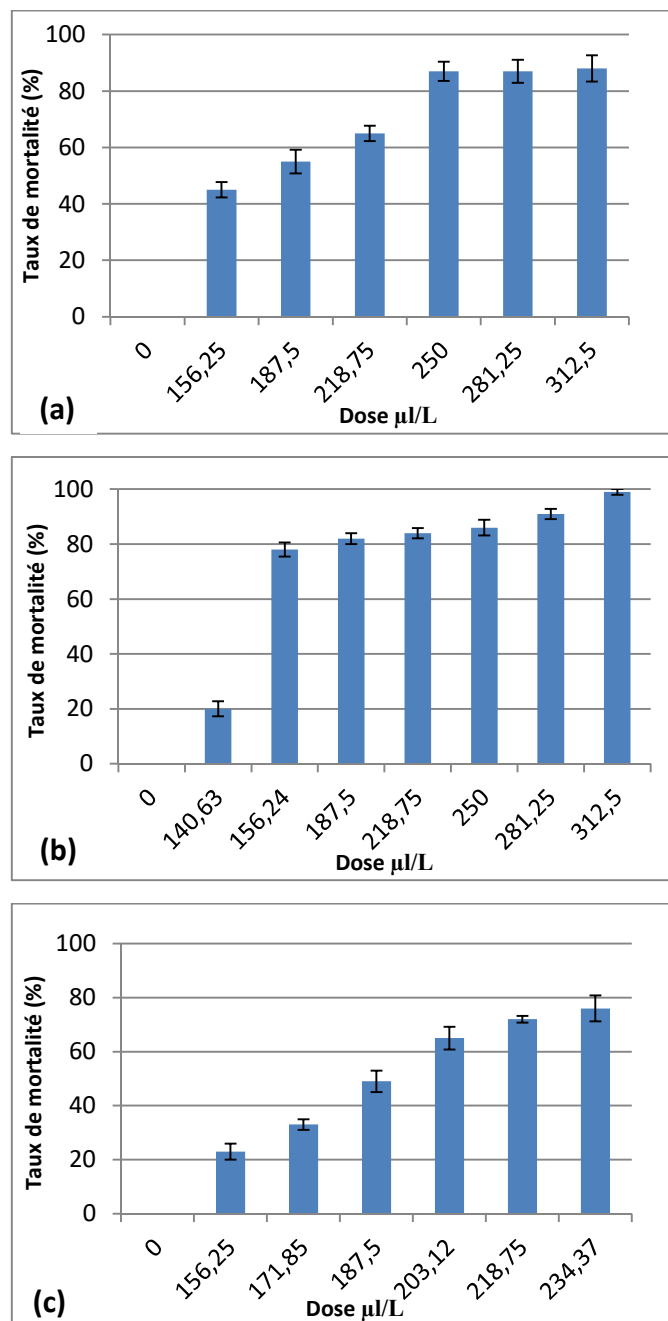


Figure 33. Taux de mortalité moyen (moyenne±SEM) des larves âgées de *T. confusum* traitées par fumigation avec *R. officinalis* (a), *E. globulus* (b) et l'eucalyptol (c), après 24h

Les résultats de l'analyse des probits ont montré que les larves âgées de *T. confusum* sont plus sensibles aux huiles essentielles d'*E. globulus*, de *R. officinalis* ainsi qu'à l'eucalyptol. La CL₅₀ des autres substances naturelles nécessite de fortes doses pour être calculée (tableau 16).

Tableau 16. Les valeurs de la CL₅₀ des différents traitements à l'égard des larves âgées de *T. confusum*

Traitements	Dose CL ₅₀ (µl/L)	95% confidence limits	Intercept	Slope	df	Khi-deux
Famille des Lamiacées						
<i>L. spica</i>	> 500	-	-	-	-	-
<i>T. satureioides</i>	> 1000	-	-	-	-	-
<i>R. officinalis</i>	170,436	(155,575-181,966)	-11,065	4,959	4	6,261 ⁽¹⁾
Famille des Myrtacées						
<i>E. globulus</i>	149,05	(58,128-181,817)	-12,981	5,973	5	57,231 ⁽²⁾
<i>M. communis</i>	> 1000	-	-	-	-	-
<i>E. caryophyllata</i>	> 1000	-	-	-	-	-
Monoterpènes						
Linalool	> 1000	-	-	-	-	-
Eucalyptol	189,399	(183,907-194,712)	-20,036	8,798	4	1,810 ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Le niveau de signification étant supérieur à 0,15, aucun facteur d'hétérogénéité n'est utilisé dans le calcul des limites de confiance.

⁽²⁾ Le niveau de signification étant inférieur à 0,15, un facteur d'hétérogénéité est utilisé dans le calcul des limites de confiance.

4.6. Résultats des tests par fumigation sur les nymphes de *T. confusum*

D'après les résultats obtenus (figure 34), les huiles essentielles d'eucalyptus et de romarin ainsi que l'eucalyptol ont provoqué 100% de mortalité en 24h seulement à la dose 250 µl/L, alors qu'avec l'huile essentielle de myrte, la mortalité totale n'est obtenue qu'après 72h. L'huile essentielle de lavande aspic a également provoqué 100% de mortalité à la plus forte dose de 500 µl/L, après 48h. Par ailleurs, avec le linalool et l'huile essentielle de thym, le plus fort taux de mortalité n'est obtenu qu'à la plus forte dose et au plus fort temps d'exposition.

L'analyse de la variance à 3 critères de classification des résultats de la mortalité a montré des différences très hautement significatives pour les effets des facteurs : dose (f=8453,97, p<0,001, df=4), temps d'exposition (f=328,93, p<0,001, df=3) et traitement (f=1278,779, p<0,001, df=7) ainsi que pour les interactions entre ces facteurs : dose×temps (f=85,044, p<0,001, df=12), dose×traitement (f=415,944, p<0,001, df=28), temps×traitement (f=47,232, p<0,001, df=21), dose×temps×traitement (f=26,991, p<0,001, df=84).

Par ailleurs, le test de Newman et Keuls classe les doses en 5 groupes homogènes, la dose la plus élevée (500 µl/L) est classée dans le groupe A et dans le dernier groupe E est classé le témoin (tableau 13, annexes). Pour le facteur temps d'exposition, le test a révélé 4 groupes homogènes, le groupe A correspond au temps 96h où il y'a plus de mortalité et dans le dernier groupe, le temps de 24h avec le plus faible taux de mortalité (tableau 14, annexes).

Le test classe également les 8 traitements par ordre de toxicité dans 6 groupes homogènes. L'eucalyptol est le traitement le plus toxique à l'égard des nymphes de *T. confusum* et l'huile essentielle des clous de girofle est la moins toxique (tableau 17).

Tableau 17. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'efficacité des 8 traitements sur les nymphes de *T. confusum*

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes					
Eucalyptol	48,45	A					
<i>E. globulus</i>	42,3		B				
<i>R. officinalis</i>	41,55		B				
<i>M. communis</i>	33,25			C			
<i>L. spica</i>	25,35				D		
<i>T. satureioides</i>	14,75					E	
Linalool	14,05					E	
<i>E. caryophyllata</i>	0,95						F

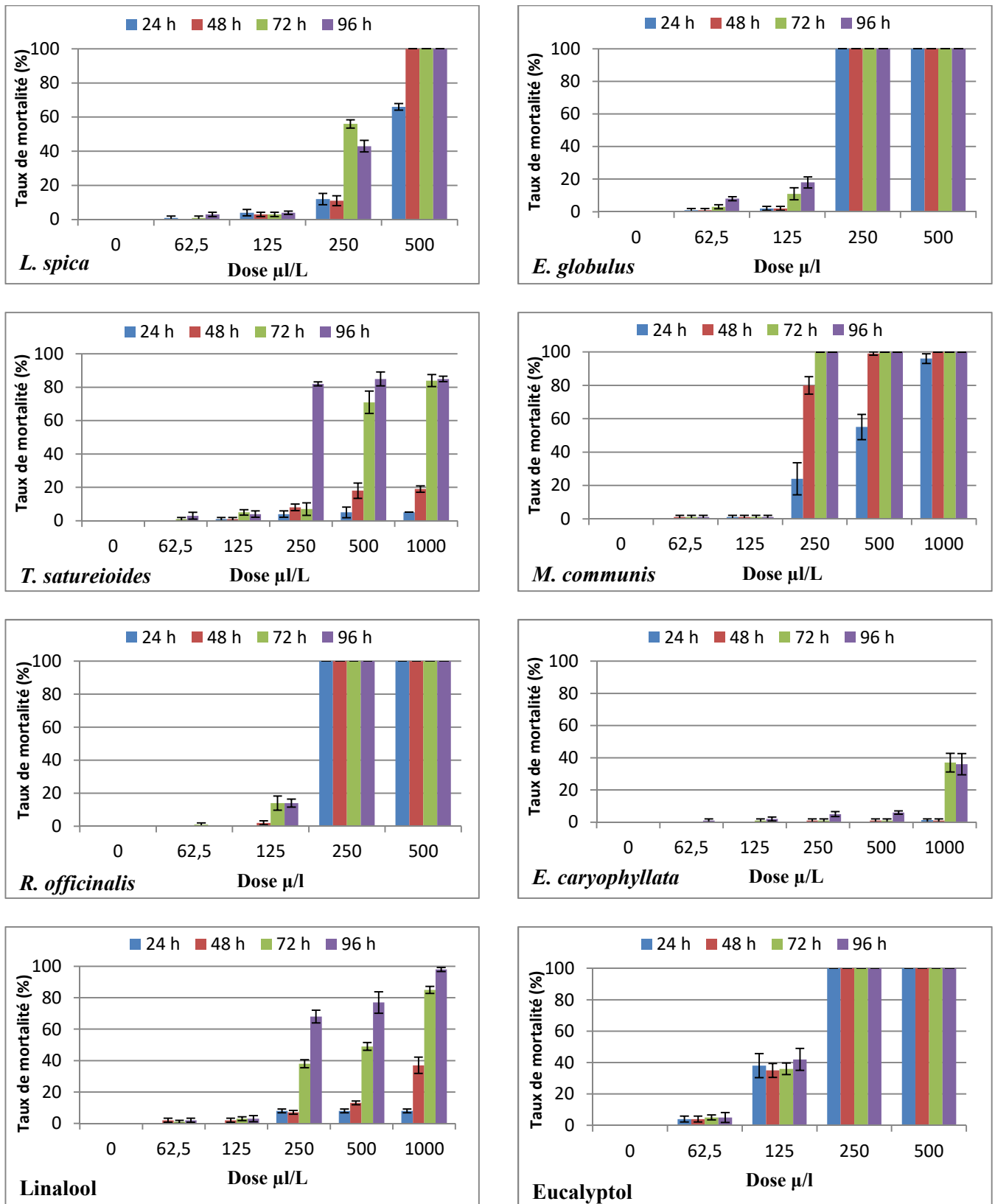


Figure 34. Taux de mortalité moyen (moyenne \pm SEM) des nymphes de *T. confusum* traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.

4.6.1. Taux d'émergence des adultes sains à partir des nymphes traitées

Pour l'ensemble des traitements, le taux d'émergence des adultes à partir des nymphes diminue en fonction de la dose et du temps d'exposition. Pour les huiles essentielles d'eucalyptus et de romarin ainsi que l'eucalyptol, aucun n'adulte n'émerge à la dose 250 µl/L puisqu'aucune nymphe ne survit. En ce qui concerne le linalool ainsi que les huiles essentielles de thym et de lavande aspic, le taux d'émergence reste inférieur à 10% aux fortes doses et aux temps d'exposition les plus longs. Alors que chez l'huile essentielle des clous de girofle, le taux d'émergence reste inférieur à 50% à la plus forte dose de 1000 µl/L, après 96h d'exposition (figure 35).

L'analyse de la variance à 3 critères de classification des résultats du taux d'émergence a montré des différences très hautement significatives pour les effets des facteurs : dose ($f=4817,433$, $p<0,001$, $df=4$), temps d'exposition ($f=360,959$, $p<0,001$, $df=3$) et traitement ($f=586,768$, $p=0,000$, $df=7$) ainsi que pour les interactions entre ces facteurs : dose×temps ($f=36,336$, $p<0,001$, $df=12$), dose×traitement ($f=131,455$, $p<0,001$, $df=28$), temps×traitement ($f=25,594$, $p<0,001$, $df=21$), dose×temps×traitement ($f=15,927$, $p<0,001$, $df=84$).

Par ailleurs, le test de Newman et Keuls classe les doses en 5 groupes homogènes. Le groupe A renferme le témoin avec un taux élevé d'émergence et dans le dernier groupe E est classé la dose la plus élevée avec un faible taux d'émergence (tableau 15, annexes). Pour le facteur temps d'exposition, le test a révélé 4 groupes homogènes, le groupe A comprend le temps de 24h avec un taux élevé d'émergence et dans le dernier groupe, le temps de 96h (tableau 16, annexes).

Le test classe également les 8 traitements dans 7 groupes homogènes. Le groupe A comprend l'huile essentielle des clous de girofle avec un taux d'émergence des adultes le plus élevé, c'est-à-dire la moins toxique et dans le dernier groupe, l'eucalyptol et l'huile essentielle d'eucalyptus avec un faible pourcentage d'émergence des adultes, c'est-à-dire les plus toxiques (tableau 18).

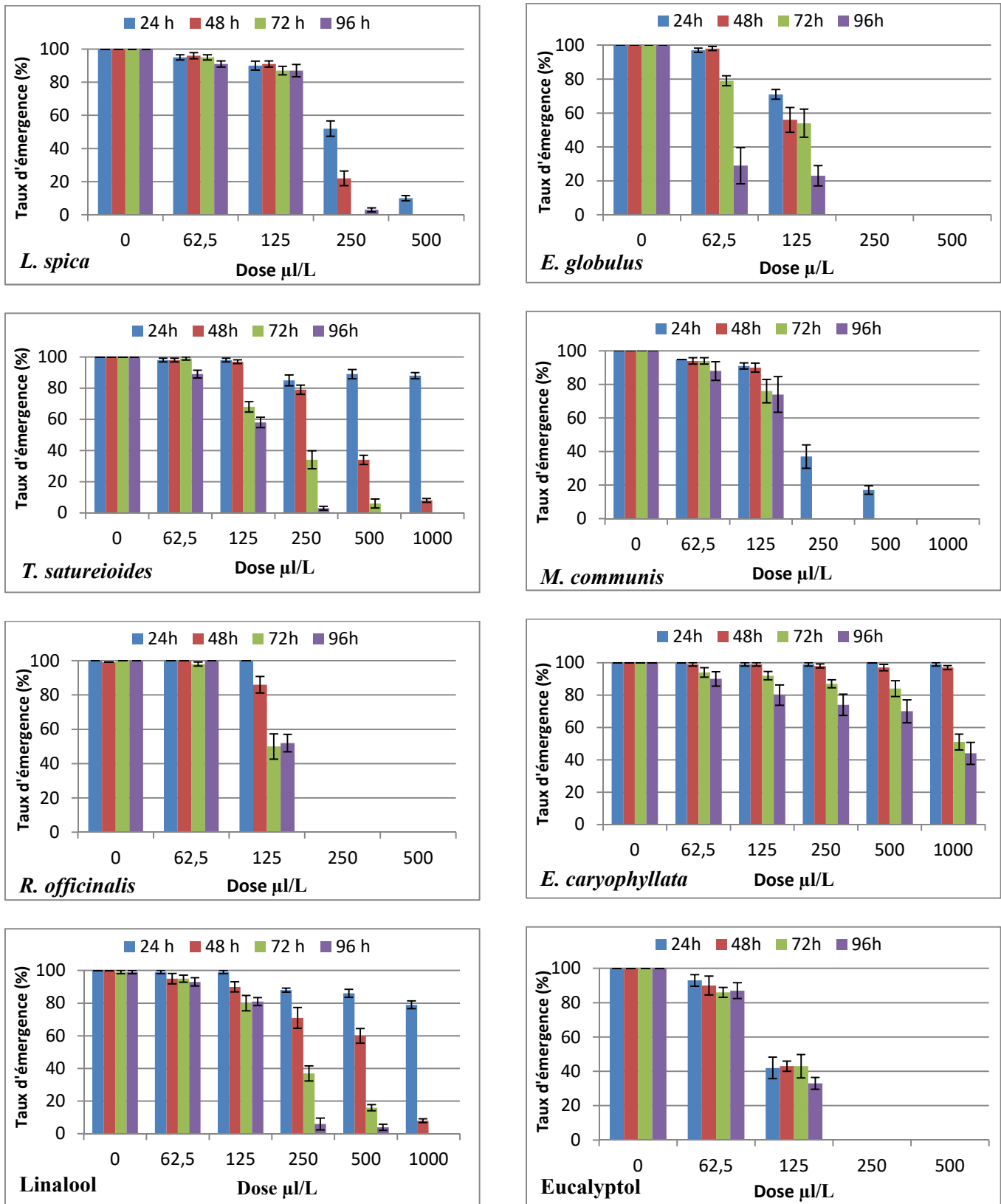


Figure 35. Taux d'émergence (moyenne \pm SEM) des adultes de *T. confusum* à partir des nymphes traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.

Tableau 18. Résultats du test de Newman et Keuls sur l'action des 8 traitements sur l'émergence des adultes à partir des nymphes traitées de *T. confusum*

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes						
<i>E. caryophyllata</i>	93,1	A						
Linalool	74,9		B					
<i>T. satureioides</i>	71,75			C				
<i>L. spica</i>	60,95				D			
<i>M. communis</i>	57,8					E		
<i>R. officinalis</i>	54,3						F	
Eucalyptol	45,85							G
<i>E. globulus</i>	45,35							G

4.6.2. Taux de mosaïques et d'adultes malformés après traitement des nymphes

Nous avons remarqué que nos traitements induisent des mosaïques correspondant à des individus intermédiaires entre les nymphes et les adultes (figure 36) ainsi que des malformations chez les adultes qui émergent et qui affectent particulièrement les élytres (figure 37).



Figure 36. Mosaïques : (a) : vue ventrale, (b) : vue latérale (© L. Kheloul)



Figure 37. Les adultes de *T. confusum* malformés, en particulier les élytres, suite aux traitements par les huiles essentielles et les monoterpènes (© L. Kheloul)

D'après les résultats obtenus (figure 38), le taux de mosaïques le plus élevé est obtenu avec les huiles essentielles de thym avec plus de 60% à la dose 1000 $\mu\text{l/L}$, après 48h, de lavande aspic avec plus de 40% à la dose 250 $\mu\text{l/L}$, aux temps d'exposition les plus longs, de myrte avec plus de 40%, à la dose 1000 $\mu\text{l/L}$, après 24h ainsi que le linalool avec plus de 40% à la dose 1000 $\mu\text{l/L}$, à 48h par rapport aux autres traitements dont le taux est inférieur à 28%.

Le test de Kruskal-Wallis a montré que le taux de mosaïques est significatif en fonction de la dose et du temps d'exposition pour les huiles essentielles de thym (dose : $df=5$, $p<0,001$, temps : $df=3$, $p=0,018$), de myrte (dose : $df=5$, $p=0,003$, temps : $df=3$, $p=0,010$) et le linalool (dose : $df=5$, $p<0,001$, temps : $df=3$, $p=0,003$), alors que pour l'huile essentielle de lavande aspic, le taux de mosaïques varie d'une façon significative en fonction de la dose ($df=4$, $p<0,001$) et non significative en fonction du temps d'exposition ($df=3$, $p=0,680$).

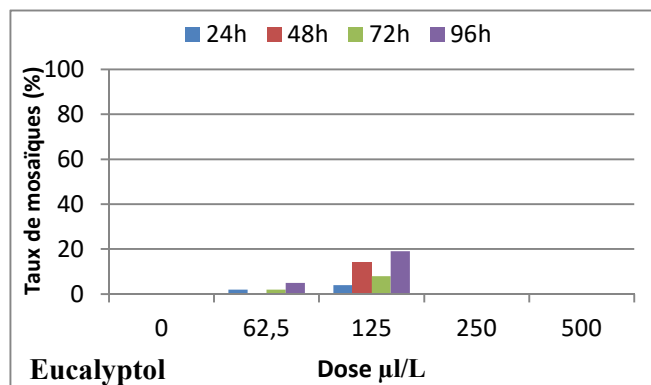
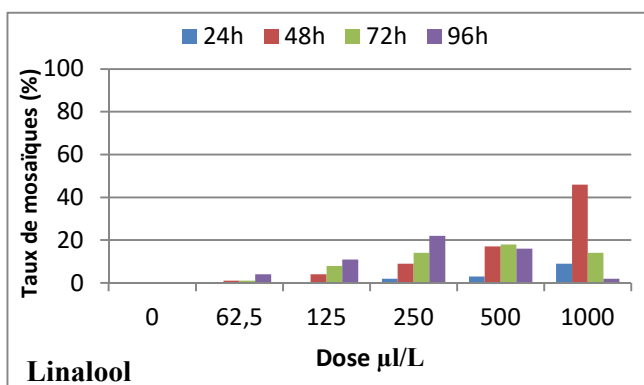
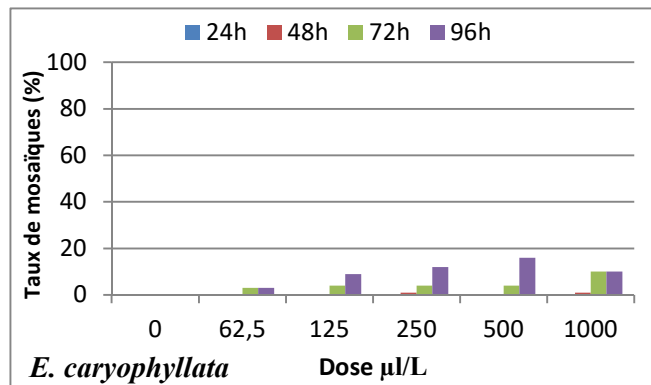
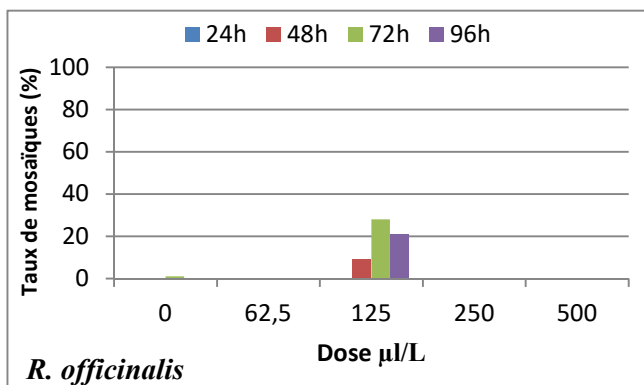
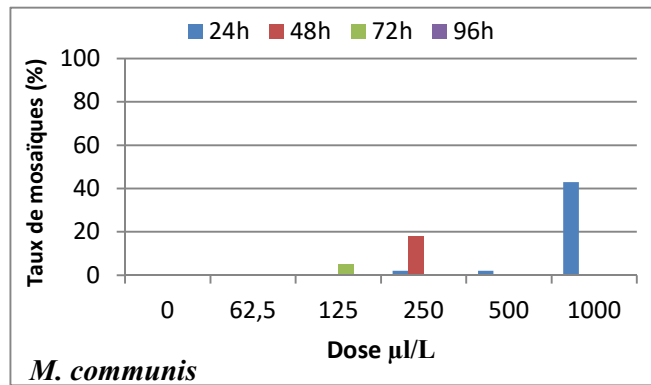
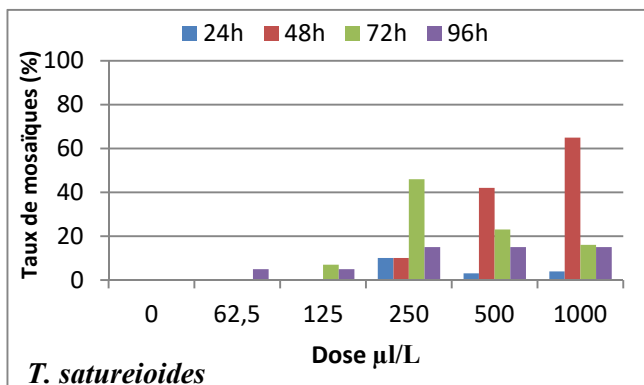
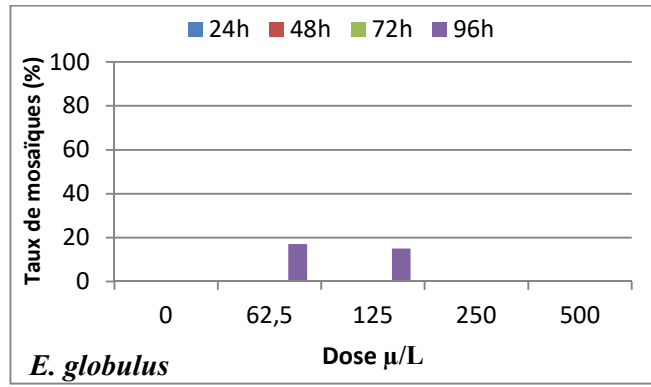
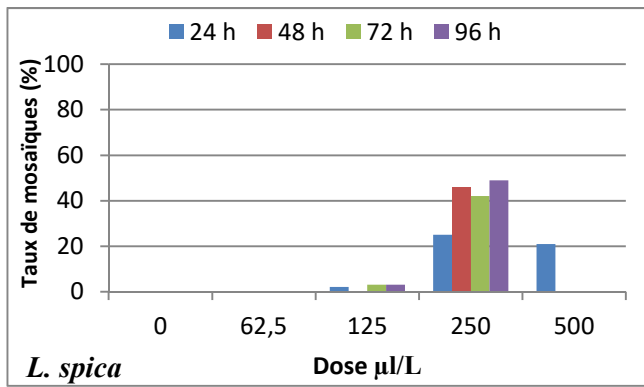


Figure 38. Taux de mosaïques obtenus après le traitement des nymphes de *T. confusum* par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes

Les résultats illustrés par la figure 39 montrent que le taux de malformation est plus important dans les traitements avec les huiles essentielles d'eucalyptus, de thym et de myrte ; en effet, il dépasse 40% aux faibles doses et à 96h et il est proche de 40% à la dose 125 µl/L, après 96h et à la dose 250 µl/L, après 24h, respectivement. Nous remarquons, qu'avec ces huiles essentielles, les faibles doses responsables d'une faible mortalité nymphale, engendrent un taux élevé de malformation des adultes émergents. Pour les autres traitements, le taux de malformation reste inférieur ou égale à 20%.

Le test de Kruskal-Wallis a révélé que le taux de malformation est significatif en fonction de la dose et non significatif en fonction du temps d'exposition pour les huiles essentielles d'eucalyptus (dose : $df=4$, $p<0,001$, temps : $df=3$, $p=0,336$) et de thym (dose : $df=5$, $p=0,001$, temps : $df=3$, $p=0,408$). Alors que pour l'huile essentielle de myrte, le test statistique a montré des différences significatives du facteur dose ($df=5$, $p<0,001$) et du facteur temps ($df=3$, $p=0,002$).

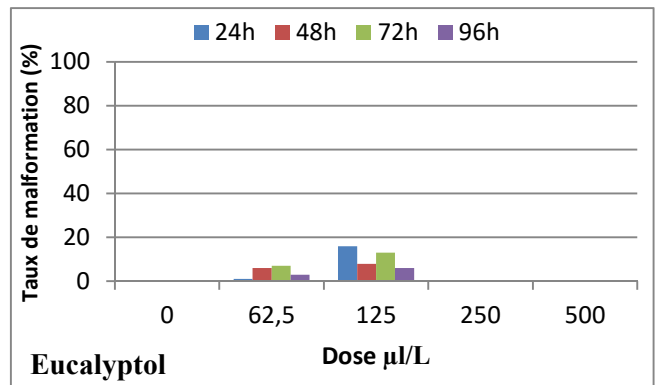
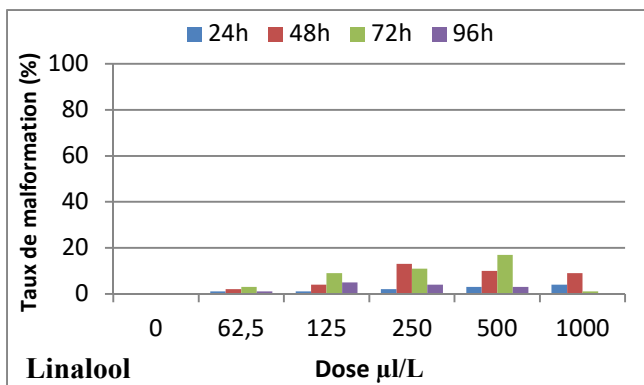
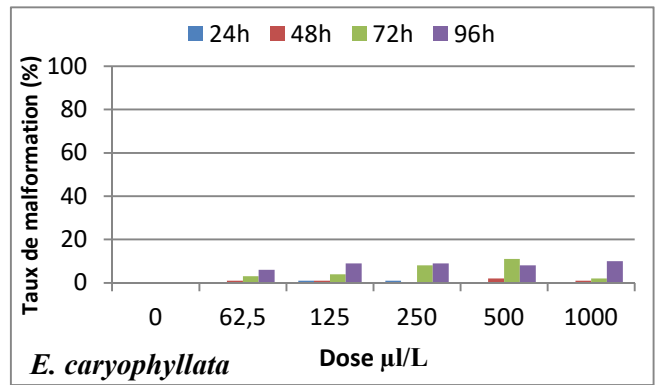
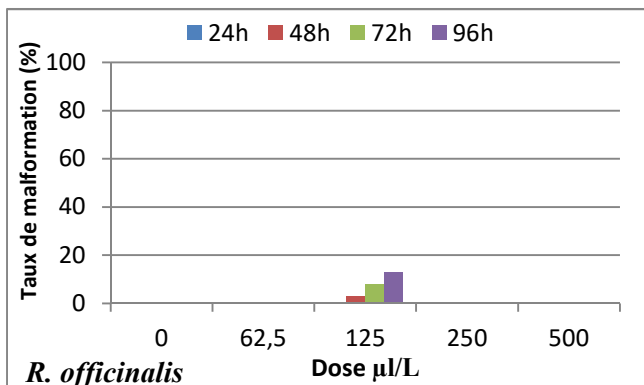
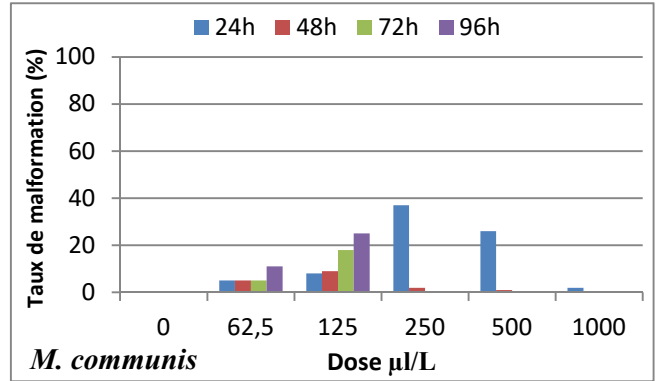
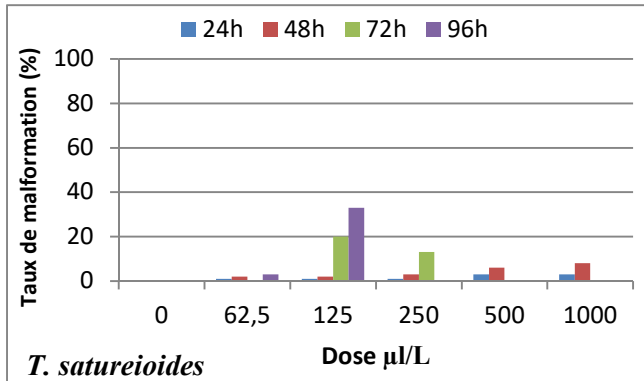
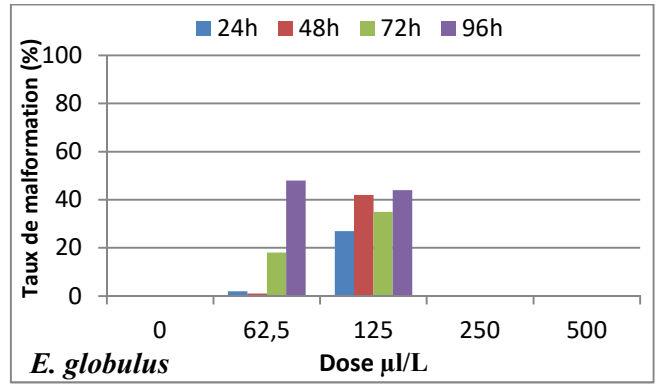
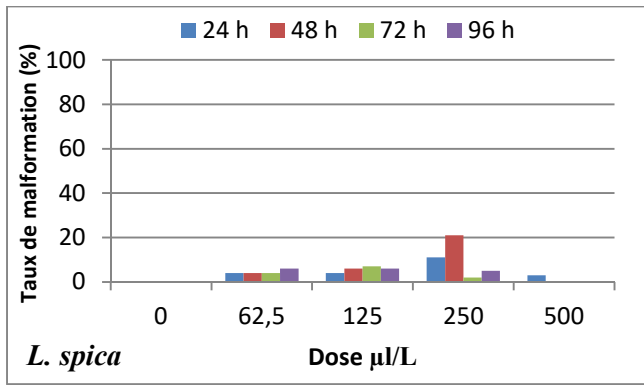


Figure 39. Taux de malformation chez les adultes de *T. confusum* émergés à partir des nymphes traitées par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes

4.6.3. Détermination de la CL_{50} , après 24h, dans les traitements des nymphes de *T. confusum*

La figure 40 montre que le taux de mortalité augmente en fonction de la dose et varie selon les substances naturelles testées.

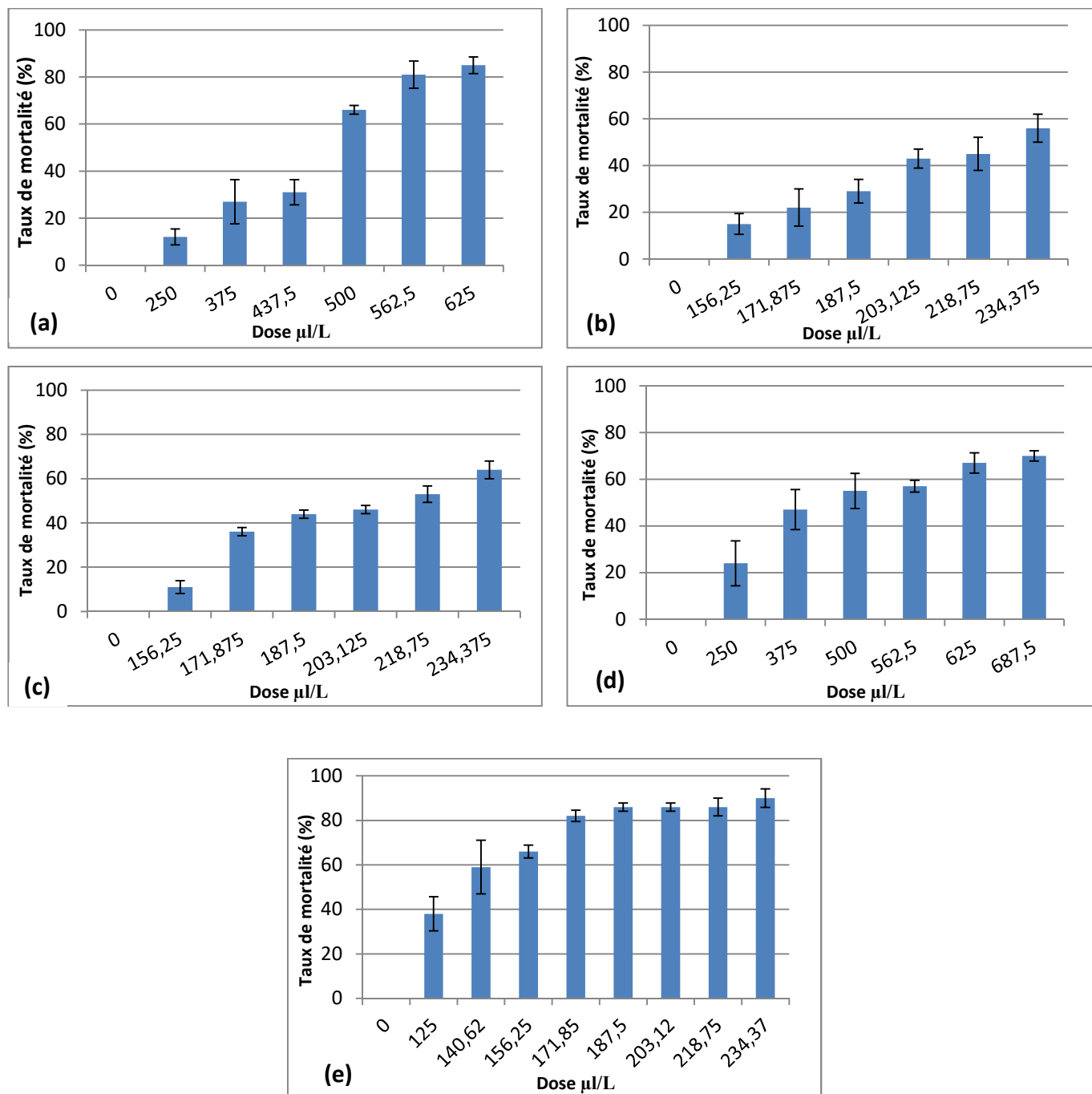


Figure 40. Taux de mortalité moyen (moyenne \pm SEM) des nymphes de *T. confusum* traitées par fumigation avec *L. spica* (a), *R. officinalis* (b), *E. globulus* (c), *M. communis* (d) et l'eucalyptol (e), après 24h.

Les résultats de l'analyse des probits ont montré que les nymphes de *T. confusum* sont plus sensibles à l'eucalyptol et aux huiles essentielles d'*E. globulus*, *R. officinalis*, *M. communis* ainsi qu'à *L. spica*, comparativement aux autres substances naturelles dont la CL₅₀ dépasse les plus fortes doses testées (tableau 19).

Tableau 19. Les valeurs de la CL₅₀ des différents traitements à l'égard des nymphes de *T. confusum*

Traitements	Dose CL ₅₀ (µl/L)	95% confidence limits	Intercept	Slope	df	Khi-deux
Famille des Lamiacées						
<i>L. spica</i>	444,824	(370,903-522,358)	-16,448	6,211	4	23,419 ⁽²⁾
<i>T. satureioides</i>	> 1000	-	-	-	-	-
<i>R. officinalis</i>	223,308	(213,930-237,885)	-15,774	6,715	4	1,024 ⁽¹⁾
Famille des Myrtacées						
<i>E. globulus</i>	207,331	(192,478-235,160)	-16,593	7,162	4	9,631 ⁽²⁾
<i>M. communis</i>	441,362	(398,444-482,894)	-6,995	2,645	4	1,742 ⁽¹⁾
<i>E. caryophyllata</i>	> 1000	-	-	-	-	-
Monoterpènes						
Linalool	> 1000	-	-	-	-	-
Eucalyptol	131,729	(122,370-139,060)	-12,241	5,775	6	8,985 ⁽¹⁾

⁽¹⁾ Le niveau de signification étant supérieur à 0,15, aucun facteur d'hétérogénéité n'est utilisé dans le calcul des limites de confiance.

⁽²⁾ Le niveau de signification étant inférieur à 0,15, un facteur d'hétérogénéité est utilisé dans le calcul des limites de confiance

4.7. Résultats des tests par fumigation sur les adultes de *T. confusum*

D'après nos résultats (figure 41), le taux de mortalité varie d'une substance à une autre, nous avons obtenu 100% de mortalité chez les adultes avec la dose 250 µl/L, en 24h seulement, avec les huiles essentielles d'eucalyptus, de myrte et de romarin ainsi qu'avec l'eucalyptol, composé majoritaire de ces huiles essentielles. L'huile essentielle de lavande aspic, contenant aussi 31,81% d'eucalyptol, a induit une mortalité de 95% à la plus forte dose de 500 µl/L et après 48h d'exposition. Avec le thym, le plus fort taux de mortalité est obtenu avec la dose 1000 µl/L, à 72h d'exposition, avec 92%.

Par contre, l'huile essentielle des clous de girofle et le linalool causent une faible mortalité des adultes. Pendant les tests de fumigation avec l'huile essentielle des clous de girofle, les adultes de *T. confusum* manifestent une forte activité locomotrice. Le comportement de ce ravageur redevient normal après quelques minutes.

L'analyse de la variance à 3 critères de classification des résultats de la mortalité a montré des différences très hautement significatives pour les effets des facteurs : dose ($f=9157,735$, $p<0,001$, $df=4$), temps d'exposition ($f=40,157$, $p<0,001$, $df=3$) et traitement ($f=1938,498$, $p<0,001$, $df=7$) ainsi que pour les interactions entre facteurs : dose×temps ($f=7,298$, $p<0,001$, $df=12$), dose×traitement ($f=601,401$, $p<0,001$, $df=28$), temps×traitement ($f=8,551$, $p<0,001$, $df=21$), dose×temps×traitement ($f=6,502$, $p<0,001$, $df=84$).

Par ailleurs, le test de Newman et Keuls classe les doses en 4 groupes homogènes, la dose la plus élevée (500 µl/L) est classée dans le groupe A, la dose 65,5 µl/L et le témoin sont classés dans le dernier groupe (tableau 17, annexes). Pour le facteur temps d'exposition, le test a révélé 2 groupes homogènes, le groupe A comprend les temps de 96h, 72h et 48h, le temps 24h d'exposition est classé dans le groupe B (tableau 18, annexes).

Le test classe également les 8 traitements par ordre de toxicité dans 7 groupes homogènes. Le groupe A correspond au traitement le plus toxique sur les adultes de *T. confusum* qui est l'eucalyptol et dans le dernier groupe sont classés les traitements les moins toxiques sur les adultes qui sont le linalool et l'huile essentielle des clous de girofle (tableau 20).

Tableau 20. Résultats du test de Newman et Keuls concernant l'efficacité des 8 traitements sur les adultes de *T. confusum*

Traitements	Moyennes	Groupes homogènes					
Eucalyptol	49,3	A					
<i>R. officinalis</i>	42,25		B				
<i>E. globulus</i>	41		B	C			
<i>M. communis</i>	40,55			C			
<i>L. spica</i>	33,15				D		
<i>T. satureioides</i>	13					E	
Linalool	0,8						F
<i>E. caryophyllata</i>	0,2						F

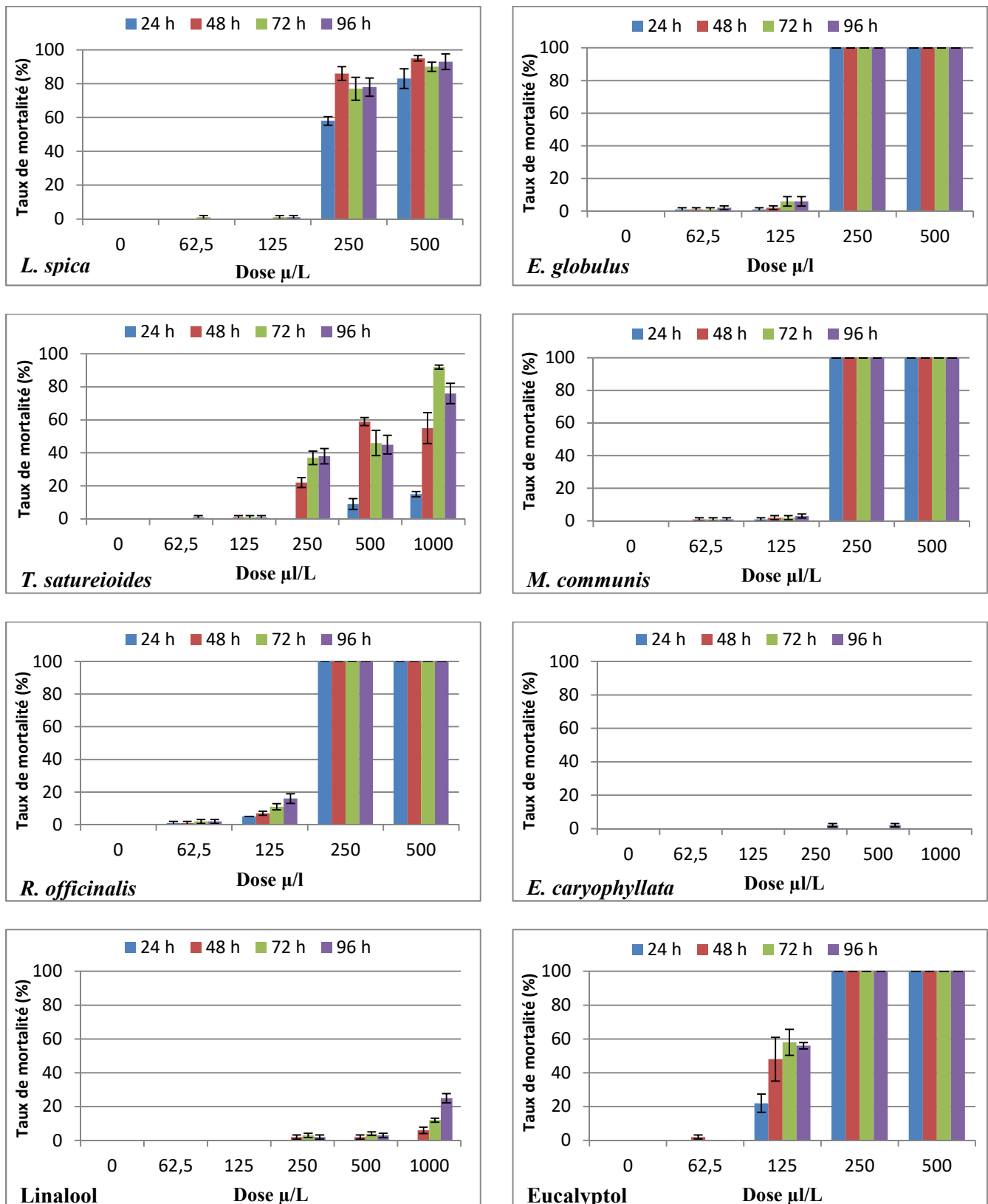


Figure 41. Taux de mortalité moyen (moyenne ±SEM) des adultes de *T. confusum* traités par fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes.

4.7.1. Détermination de la CL₅₀, après 24h, dans les traitements des adultes de *T. confusum*

La figure 42 montre que le taux de mortalité augmente en fonction de la dose et varie selon les substances testées.

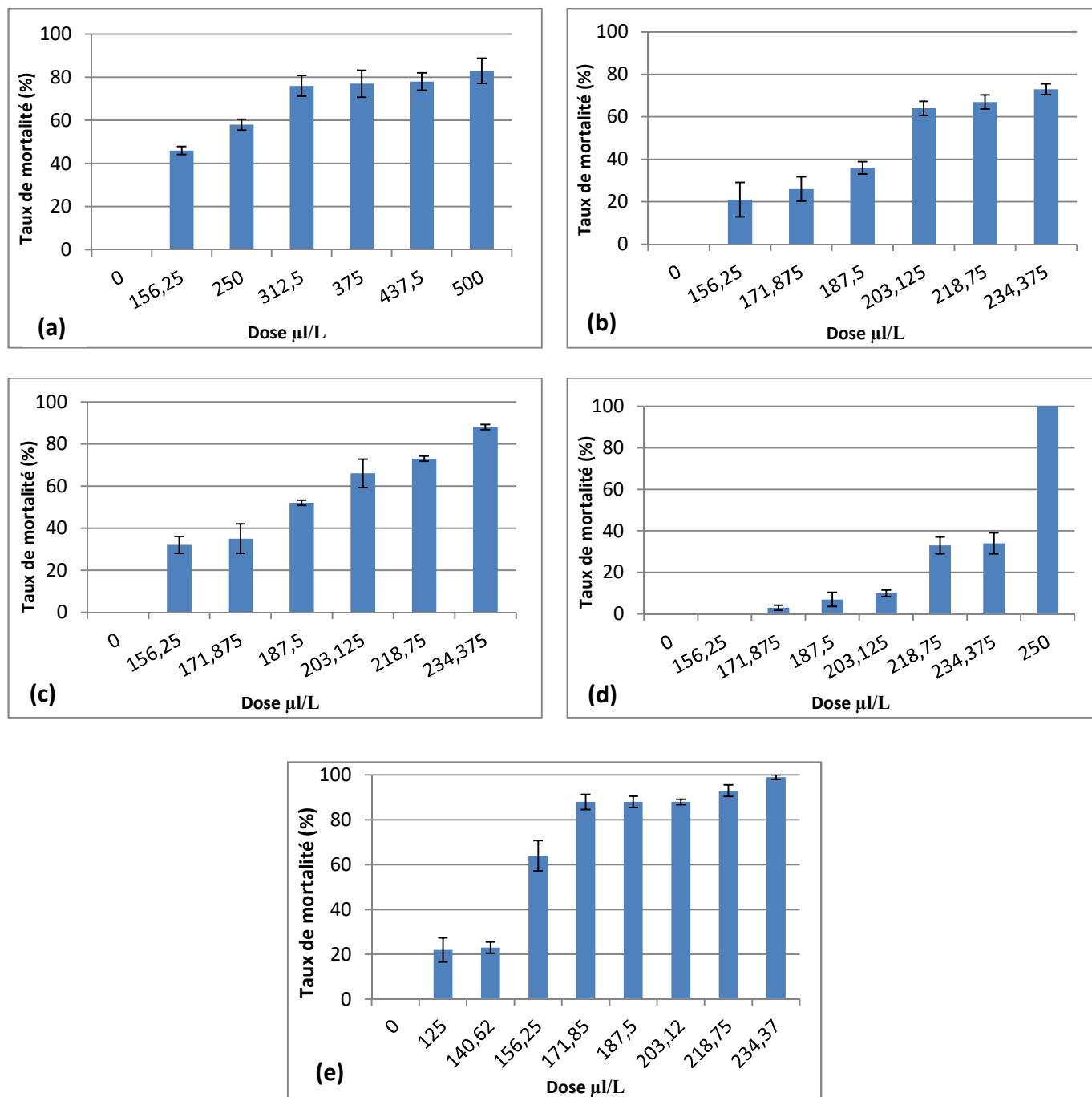


Figure 42. Taux de mortalité moyen (moyenne±SEM) des adultes de *T. confusum* traités par fumigation avec *L. spica* (a), *R. officinalis* (b), *E. globulus* (c), *M. communis* (d) et l'eucalyptol (e), après 24h.

Les résultats de l'analyse des probits ont montré que les adultes de *T. confusum* sont plus sensibles à l'eucalyptol, et aux huiles essentielles de *L. spica*, d'*E. globulus*, de *R. officinalis* et de *M. communis*, comparativement aux autres substances naturelles dont la CL₅₀ dépasse la plus forte dose testée 1000 µl/L (tableau 21).

Tableau 21. Les valeurs de la CL₅₀ des différents traitements à l'égard des adultes de *T. confusum*

Traitements	Dose CL ₅₀ (µl/L)	95% confidence limits	Intercept	Slope	df	Khi-deux
Famille des Lamiacées						
<i>L. spica</i>	176,186	(134,985-207,149)	-4,808	2,141	4	2,895 ⁽¹⁾
<i>T. satureioides</i>	> 1000	-	-	-	-	-
<i>R. officinalis</i>	196,752	(191,515-202,327)	-20,852	9,09	4	6,543 ⁽¹⁾
Famille des Myrtacées						
<i>E. globulus</i>	182,932	(177,351-187,966)	-20,639	9,123	4	4,653 ⁽¹⁾
<i>M. communis</i>	246,990	(237,651-261,885)	-30,358	12,688	4	6,389 ⁽¹⁾
<i>E. caryophyllata</i>	> 1000	-	-	-	-	-
Monoterpènes						
Linalool	> 1000	-	-	-	-	-
Eucalyptol	149,685	(137,230-159,428)	-23,859	10,969	6	28,785 ⁽²⁾

⁽¹⁾ Le niveau de signification étant supérieur à 0,15, aucun facteur d'hétérogénéité n'est utilisé dans le calcul des limites de confiance.

⁽²⁾ Le niveau de signification étant inférieur à 0,15, un facteur d'hétérogénéité est utilisé dans le calcul des limites de confiance

5. Discussion

5.1. Discussion des résultats de l'analyse GC/MS des huiles essentielles

Les résultats de l'analyse chromatographique ont montré que les huiles essentielles de la famille des Lamiacées et des Myrtacées sont riches en monoterpènes et pauvres en sesquiterpènes. Les monoterpènes oxygénés sont les plus représentés par rapport aux monoterpènes hydrocarbonés.

Aprotosoia et al. (2017) rapportent que les monoterpènes oxygénés constituent la majeure partie des huiles essentielles extraites des fleurs des espèces de lavande, chez *L. latifolia*, ils sont entre 85,2 et 94,10%. Nos résultats sont similaires à ceux de Caputo et al. (2018) qui ont trouvé que l'huile essentielle des feuilles de romarin est constituée majoritairement de monoterpènes oxygénés (46,6%).

De même, Alaoui-Jamali et al. (2012) ont rapporté que l'huile essentielle de *T. satureioides* est plus riche en monoterpènes oxygénés avec un taux de 62,6%, qu'en monoterpènes hydrocarbonés (28,6%). Dans l'huile essentielle extraite des rameaux de myrte, les monoterpènes oxygénés sont également plus importants que les monoterpènes hydrocarbonés alors que l'huile essentielle extraite des fleurs ou des feuilles est plutôt riche en monoterpènes hydrocarbonés (Aidi Wannas et al., 2010). Nos résultats concordent aussi avec ceux de Manika et al. (2013) qui ont observé que les monoterpènes oxygénés dominent dans l'huile essentielle des feuilles d'*E. globulus*. D'autres chercheurs comme Bey-Ould Si Said et al. (2016) ont obtenu essentiellement des sesquiterpènes oxygénés dans l'huile essentielle des fruits d'*E. globulus*. Nos résultats se rapprochent aussi de ceux d'Oliveira et al. (2016) qui ont noté un pourcentage important de monoterpènes oxygénés dans l'huile essentielle des clous de girofle.

Nous avons obtenu 25 pics pour chaque huile essentielle de la famille des Lamiacées et des Myrtacées, sauf l'huile essentielle des clous de girofle qui ne présente que 10 pics. Par ailleurs, d'après Regnault-Roger (2008), la composition chimique des huiles essentielles est très variable, plusieurs facteurs influencent leurs profils phytochimiques, notamment génétiques, physiologiques pédologiques, climatiques ainsi qu'analytiques. Ces facteurs influencent la voie de biosynthèse de la plante et, par conséquent, la proportion relative des principaux composés caractéristiques.

Les composés majoritaires de l'huile essentielle de la lavande aspic dont les fleurs proviennent d'Espagne sont le linalool, l'eucalyptol et le camphor, comme l'ont observé plusieurs d'autres auteurs (Guillén et al., 1996; Salido et al., 2004; Muñoz-Bertomeu et al., 2007; Carrasco et al., 2016).

Les composés majoritaires de notre huile essentielle de romarin sont l'eucalyptol (57,91%), l' α -Pinène (11,18%) et le camphor (10,55%). La composition chimique de l'huile essentielle extraite des feuilles de *R. officinalis* d'origine Turque est proche de celle de nos résultats, en effet, ses principaux constituants sont l'eucalyptol (43,12%), l' α -Pinène (11,58%) et le camphor (7,67%) (Isikber et al., 2006), alors que, les travaux de Porte et al. (2000) ont montré que chez l'huile essentielle des feuilles de romarin, de provenance brésilienne, le camphor (26,0%) était le constituant principal, il est suivi par l'eucalyptol (22,1%), le myrcène (12,4%) et l' α -pinène (11,5%). Par ailleurs, Younis et al. (2015) ont trouvé que le

bornéol (16,25%) était le composé dominant dans l'huile essentielle de *R. officinalis* de Syrie, il est suivi par l'eucalyptol (12,69%) et l' α -Pinène (8,5%).

Sur l'ensemble des composés identifiés dans notre huile essentielle de thym, à feuille de sarriette d'origine marocaine, le bornéol (36,51%), l' α -Terpinéol (14,81%) et le thymol (8,40%) sont les composés majoritaires. Nos résultats sont proches de ceux obtenus par Santana et al. (2014) qui ont identifié les mêmes composés majoritaires : le bornéol (26,5%), le thymol (14,9%) et l' α -Terpinéol (9,5%) dans l'huile essentielle des fleurs de *T. satureioides*. Par contre, les travaux d'El Hattabi et al. (2016) ainsi qu'Alaoui-Jamali et al. (2016) révèlent que les constituants majoritaires de l'huile essentielle des parties aériennes de *T. satureioides* d'origine marocaine sont le carvacrol et le bornéol.

Les principaux constituants de l'huile essentielle des boutons floraux d' *E. caryophyllata* testée sont l'eugénol (83,20%), l'acétate d'eugényle (10,96%) et le caryophyllène (4,57%), nos résultats concordent avec ceux trouvés par plusieurs autres auteurs (Pino et al., 2001; Huang et al., 2013; Sohilaït, 2015). D'après Razafimamonjison et al. (2014), l'eugénol est le composé majoritaire de l'huile essentielle des boutons floraux, des feuilles et des tiges du giroflier.

L'huile essentielle de myrte testée qui est extraite à partir des rameaux d'origine marocaine est riche en eucalyptol (44,83%), α -pinène (20,36%) et myrtenyl acétate (19,14%). Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Aidi Wannas et al. (2010) pour l'huile essentielle des mêmes organes du myrte d'origine tunisienne dont les composés majoritaires sont l'eucalyptol (32,84%) et l' α -pinène (10,53%). Akin et al. (2010) rapportent que l'eucalyptol (50,13%) est le composé majoritaire trouvé dans l'huile essentielle extraite des feuilles de myrte d'origine turque, il est suivi par le linalool (12,65%) et l' α -terpinéol (7,57%), alors que celle d'origine algérienne est plutôt riche en limonène (23,4%), linalool (15,4%), geranyl acétate (10,9%) et α -pinène (10,7%) (Hennia et al., 2015).

Notre huile essentielle d'eucalyptus est plutôt riche en eucalyptol (74,68%) et α -pinène (16,21%), comme l'ont observé de nombreux auteurs (Viturro et al., 2003; Vilela et al., 2009; Damjanović-Vratnica et al., 2011; Kumar et al., 2012; Toudert-Taleb et al., 2014; Hamdi et al., 2015).

5.2. Discussion des résultats des tests de fumigation sur les différents stades de développement de *T. confusum*

Nos résultats ont montré qu'une dose de 500 µl/L d'air et un temps d'exposition de 96h, avec l'huile essentielle de *L. spica*, sont nécessaires pour tuer 100% des œufs de *T. confusum*, alors que la moitié de cette concentration (250 µl/L d'air) de linalool seul a le même effet. Cela indique que le linalool pourrait être en grande partie responsable de l'effet ovicide de l'huile essentielle de *L. spica* utilisée qui en contient 43,80%.

En revanche, l'eucalyptol engendre également 100% de mortalité chez les œufs à la dose (500 µl/L) à 96h d'exposition, alors que les huiles essentielles d'eucalyptus, de romarin et de myrte, contenant respectivement 74,68%, 57,91% et 44,83% de ce terpène n'ont pas montré la même efficacité. Cela montre que l'eucalyptol seul est plus efficace sur les œufs de *T. confusum* à forte dose et à 96h d'exposition que lorsqu'il agit en synergie avec les autres constituants des huiles essentielles. Les travaux d'Erler (2005) révèlent d'ailleurs qu'une dose de 184,8 mg/L d'eucalyptol, à 96h d'exposition, induit une mortalité de 86,8% chez les œufs de *T. confusum* par fumigation.

D'après nos résultats, les faibles doses des huiles essentielles d'eucalyptus et de romarin sont inefficaces contre les œufs de *T. confusum*, ils sont similaires à ceux trouvés par Karci et Işikber (2007) qui ont montré qu'une fumigation des œufs de ce ravageur à une dose de 100 µl/L, avec les huiles essentielles de *R. officinalis* et *E. globulus*, pendant 72h, induit une mortalité de 2,19% et 10,86%, respectivement. Tandis que Tunç et al. (2000) rapportent qu'à la plus forte dose de 196,9 µl/L et au temps d'exposition de 96h, les mortalités causées par les huiles essentielles de *R. officinalis* et d'*Eucalyptus camaldulensis*, sur les œufs de *T. confusum*, sont de 65% et 18%, respectivement. L'huile essentielle de romarin exerce également un effet ovicide à l'égard des œufs d'*Ephestia kuehniella*, avec une mortalité de 90%, à la dose 100 µl/L, après 24h (Pandir et Baş, 2016).

Pour l'huile essentielle de thym à feuilles de sarriette, une faible toxicité à l'égard des œufs de *T. confusum* a été observée. A notre connaissance, il n'existe pas de travaux sur la toxicité des huiles essentielles d'espèces de thym sur les œufs de *T. confusum* ou autre Tenebrionidae pour pouvoir comparer nos résultats.

L'huile essentielle des clous de girofle testée a induit 100% de mortalité sur les œufs de *T. confusum* à la dose 62,5 µl/L, en 24h. Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Mondal et Khalequzzaman (2009) qui ont démontré qu'une dose de 5,769 mg/L d'air de l'huile essentielle des clous de girofle est responsable de 100% de mortalité chez les œufs de *T. castaneum*, après 24h d'exposition. Alors que, l'eugénol, composé majoritaire de l'huile essentielle des clous de girofle, élimine seulement 16,7% des œufs de *T. confusum*, à la dose 100 µl/L, en 24h d'exposition (Sağlam et Özder, 2013).

Des études sur d'autres huiles essentielles de plantes, telles que *Allium sativum*, *Betula lenta* et *Cinnamomum zeylanicum* ont montré une meilleure efficacité, tuant 100% des œufs de *T. confusum*, à une dose de 20 µl/L d'air, en 24 h (Işıkber et al., 2009). Par ailleurs, les huiles essentielles d' *Allium cepa* et de *Foeniculum vulgare* causent 100% de mortalité chez les œufs de *T. confusum*, à la dose 100 µl/L, en 72h (Karci et Işıkber, 2007), le même résultat est obtenu avec 196,9 µl/L d'huile essentielle de *Pimpinella anisum*, en 96h d'exposition (Tunç et al., 2000).

Les résultats obtenus de la CL₅₀ après 24h ont montré que les œufs de *T. confusum* sont plus sensibles à l'huile essentielle des clous de girofle (CL₅₀= 9,263 µl/L) et au linalool (CL₅₀= 128,404 µl/L), comparativement aux autres traitements dont la CL₅₀ dépasse 500 µl/L, cela montre la grande tolérance des œufs de ce ravageur.

La différence de vulnérabilité des œufs vis-à-vis des substances naturelles testées et sa résistance généralement élevée à la fumigation pourraient être expliquées par l'absence d'aéropyles et de micropyles dans la structure de l'œuf, ainsi qu'à une épaisse couche d'endochorion et à un plus grand maillage intrachorionique par rapport aux œufs d'autres insectes ravageurs, ce qui empêche la diffusion des vapeurs dans l'œuf (Gautam et al., 2015). De plus, les taux de respiration sont faibles au stade œuf, ce qui réduit les échanges gazeux et, par conséquent, la diffusion de substances volatiles dans l'œuf (Emekci et al., 2002). D'après Gurusubramanian et Krishna (1996) certains composés volatils réussissent à diffuser dans l'œuf et par conséquent affectent les processus physiologiques et biochimiques vitaux associés au développement embryonnaire.

Les résultats des tests de fumigation sur les jeunes larves (L1) ont montré que nos traitements présentent une toxicité importante et variable d'une substance à une autre. La comparaison des CL₅₀ calculées après 24h a montré que l'eucalyptol et l'huile essentielle de romarin sont les plus toxiques.

Papachristos et Stamopoulos (2002) ont constaté également que chez *Acanthoscelides obtectus*, les huiles essentielles de *Lavandula hybrida*, *R. officinalis* et *E. globulus* présentent un effet hautement toxique par fumigation, en particulier contre les larves du premier stade. La toxicité des huiles essentielles testées sur les jeunes larves peut être attribuée à leur richesse en monoterpènes, particulièrement les monoterpènes oxygénés. D'après Regnault-Roger et Hamraoui (1995), les monoterpènes oxygénés sont plus toxiques sur les insectes que les monoterpènes hydrocarbonés. Toutefois, les composants minoritaires sont aussi impliqués dans l'activité insecticide des huiles essentielles.

Alors que sur les larves âgées (L8) de 27 jours, certains traitements ne sont pas efficaces, comme le linalool et les huiles essentielles de lavande aspic, de thym à feuille de sariette et des clous de girofle, le taux de mortalité moyen causé est trop faible, des doses encore plus élevées sont nécessaires pour confirmer les résultats obtenus. D'autres traitements par contre, comme l'eucalyptol et les huiles essentielles d'eucalyptus et de romarin ont montré une meilleure efficacité à l'égard des larves âgées de *T. confusum*, cet effet larvicide peut être attribué à leur composition chimique riche en monoterpènes, notamment à l'eucalyptol. Il a été démontré par Abdelgaleil et al. (2009) que l'eucalyptol est l'inhibiteur le plus puissant de l'activité acétylcholinestérase des larves de *T. castaneum*. Toutefois, le myrte qui contient lui aussi de l'eucalyptol, comme composé majoritaire, n'a pas la même efficacité et sa CL₅₀ en 24h dépasse 1000 µl/L. Ceci est peut être dû à la concentration en eucalyptol de l'huile essentielle de myrte (44,83%) qui est inférieure à celle des huiles essentielles de romarin et d'eucalyptus, contenant respectivement 57,91% et 74,68% de ce monoterpène ou bien à l'action d'autres constituants de l'huile essentielle de myrte absents dans les huiles essentielles de romarin et d'eucalyptus, comme (β-cis-Ocimène, Myrténol, Estragole, 2-hydroxycinéol, etc.).

Nos résultats montrent que les jeunes larves (L1) sont plus sensibles à la fumigation avec les huiles essentielles et les monoterpènes que les larves âgées (L8). Les travaux de Theou et al. (2013) ont révélé également que les larves de *T. confusum*, âgées de 10 jours, sont plus sensibles aux traitements par fumigation avec l'huile essentielle de *Lavandula hybrida* et que les larves âgées de 31 jours, plus tolérantes. Cet effet âge dépendant a également été constaté avec l'huile essentielle d'*Artemisia haussknechtii* par Hashemi et Safavi (2013) sur les larves âgées de 25 jours plus résistantes que les larves âgées de 10 jours, avec des CL₅₀ croissantes selon l'âge des larves de *T. confusum*.

Par ailleurs, Stamopoulos et al. (2007) confirment aussi que les jeunes stades larvaires (L3) de *T. confusum* sont les plus sensibles aux monoterpénoides dont le linalool et l'eucalyptol, que les larves âgées. Cependant, Wang et al. (2006) rapportent que l'âge des larves n'était pas significatif, en testant par fumigation l'huile essentielle d'*Artemisia vulgaris* sur les larves de *T. castaneum* âgées de 12, 14 et 16 jours.

Les résultats des tests de fumigation sur les nymphes de *T. confusum* ont montré un effet bio insecticide important pour l'ensemble des substances naturelles testées sauf pour l'huile essentielle des clous de girofle qui n'a pas manifesté de toxicité aux doses et différents temps d'exposition testés.

Contrairement à nos résultats, Isikber et al. (2006) ont trouvé que les nymphes sont plus résistantes à l'huile essentielle de romarin, la plus forte dose de 431,5 mg/L induit seulement 18,3% de mortalité. Nos résultats ont également révélé que l'huile essentielle de *L. spica* est plus toxique à l'égard des nymphes de *T. confusum* que le linalool qui s'est plutôt montré plus efficace sur les œufs.

L'efficacité des huiles essentielles d'eucalyptus, de romarin et de myrte pourrait être attribuée à leur composé majoritaire l'eucalyptol, qui testé seul sur les nymphes s'est montré très toxique.

Les traitements que nous avons réalisés provoquent non seulement la mortalité des nymphes, mais aussi des malformations des adultes émergents et des mosaïques, ce qui réduit le pourcentage d'émergence d'adultes sains. Cette observation a été également rapportée par Theou et al. (2013) qui ont noté des malformations chez les adultes de *T. confusum* ainsi que des mosaïques en testant par fumigation les huiles essentielles de *L. hybrida*, *Laurus nobilis*, *Thuja orientalis*, *Citrus sinensis*, *Citrus limon* et *Origanum vulgare*.

De même, l'application topique des huiles essentielles de *Heteromera fuscata*, *Coleostephus myconis* et *Mauranthemum paludosum* sur les nymphes de *T. confusum* a provoqué des malformations chez les adultes émergés et le plus fort taux de malformation (18%) a été induit par l'huile essentielle de *C. myconis* (Haouas et al., 2014). Par ailleurs, Liška et al. (2015) ont testé également l'eucalyptol et l'eugénol par fumigation sur les nymphes de *T. castaneum*, ils constatent que ces deux monoterpènes induisent aussi des malformations chez les adultes émergés ainsi que des mosaïques.

L'apparition des mosaïques et des adultes malformés, dont la durée de vie est très courte, peut être expliquée par un effet direct des huiles essentielles et des monoterpènes sur le système hormonal de l'insecte, semblable à celui des régulateurs de croissance des insectes (IGR_S), c'est ainsi qu'Arthur (2003), après avoir exposés les larves âgées de *T. castaneum* et de *T. confusum* à l'hydroprène (IGR), a observé des effets similaires.

Les résultats des tests par fumigation sur les adultes de *T. confusum* ont montré un effet insecticide pour la plupart des substances testées, sauf pour le linalool dont l'efficacité est moindre et l'huile essentielle des clous de girofle dont l'efficacité s'avère très faible dans les conditions expérimentales utilisées.

Lorsque les adultes ont été traités avec l'huile essentielle de *L. spica*, une toxicité marquée dès la dose de 250 µl/L a été notée, avec une CL₅₀ de 176,19 µl/L, après 24h d'exposition. Le linalool, cependant, n'a provoqué qu'un faible pourcentage de mortalité chez les adultes. Une étude réalisée sur *T. confusum*, en appliquant par fumigation une dose de 100 µl/L de linalool pendant 24h, a provoqué de faibles taux de mortalité chez les œufs, les larves âgées, les nymphes et les adultes, alors que les jeunes larves n'avaient pas été testées (Sağlam et Özder, 2013). De même, une faible toxicité du linalool par fumigation a été constatée chez les adultes de *T. castaneum* (Rozman et al., 2007). Ainsi, d'autres composés présents dans l'huile essentielle de *L. spica* peuvent être responsables de l'effet toxique observé et différents composés peuvent agir en synergie. La forte toxicité par fumigation du linalool sur d'autres insectes ravageurs des grains stockés a été observée par d'autres auteurs, comme Ajayi et al. (2014) qui rapportent que les adultes de *C. maculatus* subissent 100% de mortalité, à la dose 20 µl/L, en 24h, alors que chez *Oryzaephilus surinamensis*, ce taux est obtenu à la dose 50µg/ml, après 14h d'exposition (Lee et al., 2003).

Il a été également démontré que les huiles essentielles de différentes espèces de lavande varient considérablement dans leur toxicité sur les adultes de *T. castaneum*. Alors que l'huile essentielle de *Lavandula stoechas* a montré une CL₅₀ inférieure à 40 µl/L, après 24h (Ebadollahi et al., 2010a), *Lavandula angustifolia* n'a eu que des effets toxiques très mineurs (Pugazhvendan et al., 2012). Cependant, *L. angustifolia* s'est révélée hautement toxique sur *Sitophilus granarius* (L.) (Germinara et al., 2017).

L'huile essentielle des clous de girofle testée ne présente aucun effet insecticide sur les adultes de *T. confusum*, même à plus forte dose. Nos résultats sont similaires à ceux de Mondal et Khalequzzaman (2006) qui observent que les adultes et les larves de *T. castaneum*, âgées de 10, 14 et 18 jours, sont très résistants à l'huile essentielle des clous de girofle, par contact et par fumigation. Par contre, les extraits de plantes d'*E. caryophyllata* sont très répulsifs sur les adultes de *T. castaneum* avec un pourcentage de répulsivité de 76,54% (Sagheer et al., 2014).

L'huile essentielle de thym à feuille de sariette testée n'a donné des mortalités élevées qu'à la dose 1000 µl/L, après 48h. L'huile essentielle de cette espèce de thym n'a pas été testée par fumigation par d'autres chercheurs à l'égard de *T. confusum*. Son effet toxique a été évalué seulement par contact à l'égard des adultes de *T. castaneum* par Kasrati et al. (2015), et Alaoui-Jamali et al. (2016). Les huiles essentielles d'autres espèces de thym ont manifesté plus d'efficacité que l'huile essentielle testée dont la $CL_{50} > 1000$ µl/L. En effet, la toxicité par fumigation de l'huile essentielle de *Thymus persicus* a été démontrée chez les adultes de *T. castaneum* ($CL_{50} = 236,9$ µl/L, en 24h) et elle est encore plus importante chez ceux de *S. oryzae* ($CL_{50} = 3,34$ µl/L, en 24h) (Saroukolai et al., 2010). Par ailleurs, *Thymus capitatus* présente aussi une toxicité par fumigation à l'égard des adultes de *T. castaneum*, avec une $CL_{50} = 377,34$ µl/L, après 24h (Mohamed et al., 2018).

Nos résultats révèlent que les huiles essentielles de romarin, d'eucalyptus et de myrte, ainsi que leur composé majoritaire, l'eucalyptol, ont un effet insecticide à l'égard des adultes de *T. confusum*, avec 100 % de mortalité, à la dose 250 µl/L, en 24h. La toxicité de l'huile essentielle de romarin, à l'égard des adultes de *T. confusum* a été démontrée par (Demirel et al. 2009; Sener et al. 2009) avec 100% de mortalité à la dose 320 µl/L, après 72h, ainsi que Saeidi et Moharrampour (2013) qui ont obtenu le même taux de mortalité avec la dose 370,4 µl/L, en 24h. L'huile essentielle de romarin a également prouvé son efficacité sur d'autres insectes ravageurs des grains stockés, comme *R. dominica*, *O. surinamensis* et *Sitophilus oryzae*, causant 100% de mortalité, à la dose 15 µl/L, après 24h (Shaaya et al., 1991).

Avec l'huile essentielle d'*E. globulus*, nous avons obtenu une $CL_{50} = 182,932$ µl/L, après 24h. Ebadollahi et al. (2010_b) ont également constaté une forte toxicité de cette même substance naturelle sur les adultes de *T. castaneum*, avec une CL_{50} , après 24h de 30,602 µl/L. L'étude menée par Hamdi et al. (2015) a mis en évidence la toxicité des huiles essentielles

d'*Eucalyptus lehmani* et *Eucalyptus astingens* sur *R. dominica*, *C. maculatus* et *T. castaneum*.

Par ailleurs, Khani et Basavand (2012) ont également enregistré une forte activité insecticide avec l'huile essentielle de myrte, par fumigation à l'égard des adultes de *C. maculatus* et de *T. confusum*, avec des CL_{50} , respectives de 9,5 $\mu\text{l/L}$ et 260,7 $\mu\text{l/L}$. Par contre, l'huile essentielle de myrte testée par Senfi et al. (2014) s'est avérée plus toxique, une concentration de 68,54 $\mu\text{l/L}$, proche de la plus faible dose que nous avons testée, cause 68,88% de mortalité chez les adultes de *T. castaneum*, avec une CL_{50} = 56,11 $\mu\text{l/L}$, après 24h.

L'activité insecticide des huiles essentielles testées est probablement due à leur composé majoritaire l'eucalyptol. L'eucalyptol est le fumigant le plus toxique sur les adultes de *T. confusum* avec une CL_{50} =149,685 $\mu\text{l/L}$, après 24h. La CL_{50} rapporté par Lee et al. (2002) sur *T. castaneum* est beaucoup plus inférieure à celle que nous avons obtenue (CL_{50} =7,4 $\mu\text{l/L}$), ce qui illustre bien la toxicité de ce monoterpène. Tripathi et al. (2001) rapporte que le 1,8-cinéole est toxique aussi bien par contact que par fumigation, vis à vis des larves et des adultes de *T. castaneum*. D'autres travaux réalisés par Shaaya et al. (1991) ont prouvé la toxicité de l'eucalyptol sur d'autres insectes ravageurs des grains stockés, comme *T. castaneum*, *R. dominica* et *O. surinamensis*, avec 100% de mortalité, ainsi que *S. oryzae*, avec 75% de mortalité à la dose 15 $\mu\text{l/L}$, après 24h.

Les effets très variables des huiles essentielles et des composés monoterpéniques sur différents insectes et même sur différents stades de développement d'un même insecte peuvent s'expliquer par de fortes différences dans l'activité métabolique et l'importance des cibles des composés actifs. Certains constituants des huiles essentielles aromatiques sont connus pour avoir des effets neurotoxiques qui interfèrent avec le neurotransmetteur octopamine spécifique aux arthropodes (Isman, 2000; Isman (2008); Tandon et al., 2008; Regnault-Roger et al., 2012).

6. Conclusion

L'activité insecticide des huiles essentielles de la famille des Lamiacées et des Myrtacées ainsi que de deux monoterpènes (linalool et eucalyptol) a été évaluée par fumigation contre les différents stades de développement de *T. confusum*. Celle-ci dépend de la substance naturelle testée, du stade de développement de l'insecte ravageur, de la dose appliquée et de la durée d'exposition. Parmi tous les traitements testés, l'eucalyptol est le produit le plus toxique par fumigation à l'égard de tous les stades.

*Chapitre V : Comportement de T.
confusum en réponse aux stimuli
olfactifs*

1. Introduction

T. confusum est une espèce qui vit essentiellement dans des lieux fermés avec peu de stimuli visuels disponibles pour s'orienter. C'est pour cela, que les signaux chimiques ont une grande importance dans la communication intra- et interspécifique. Afin de développer des stratégies de lutte alternatives efficaces contre *T. confusum*, il est important d'acquérir une meilleure connaissance sur cette communication chimique. L'analyse comportementale nous permet d'identifier l'influence d'une ou plusieurs molécule(s) odorante(s) sur l'insecte étudié, et permet par exemple de démontrer l'effet attractif ou répulsif d'un composé sur un insecte.

Les mâles de *T. confusum* produisent une phéromone d'agrégation très complexe, contenant notamment des quinones, qui ont une forte odeur altérant ainsi les produits alimentaires (Timothy, 2009; Verheggen et al., 2007). D'après Arnaud et al. (2000), la phéromone d'agrégation n'est pas produite uniquement par les mâles, en effet les larves, les nymphes ainsi que les femelles en produisent également mais dans des quantités beaucoup plus faibles. La phéromone d'agrégation contient également du 4,8-diméthyldécane et du 1-tétradécène, induisant des réponses périphériques antennaires et comportementales des conspécifiques mâles et femelles (Ryan et O'Ceallachain 1976; Suzuki et Sugawara 1979; Suzuki 1980; Suzuki 1981; Verheggen et al. 2007). Verheggen et al. (2007) ont montré que chacun des deux composés seuls attire mâles et femelles dans un test avec des groupes de 10 coléoptères dans une arène ouverte.

Athanassiou et al. (2006) rapportent également que ces phéromones d'agrégation pourraient éventuellement être utiles dans le piégeage des coléoptères, mais aussi, elles peuvent être combinées avec des composés toxiques dans les pièges qu'on appelle méthode « lure and kill » qui est utilisée pour de nombreux insectes ravageurs (El-Sayed et al., 2009).

Plusieurs études ont montré que les substances volatiles d'origine végétale peuvent interférer avec la détection des phéromones et leur attraction chez des insectes ravageurs (Dickens et al., 1992). Par exemple chez les scolytes, des volatiles de plantes non-hôtes réduisent l'attraction des mâles et des femelles, ainsi que de leurs ennemis naturels vers les phéromones d'agrégation, un autre moyen d'interférer avec la communication olfactive des ravageurs (Zhang et al., 1999; Zhang et Schlyter, 2010).

La pré-exposition aux substances volatiles peut également modifier l'attraction pour le même composé ou d'autres composés odorants, en influençant le développement et les fonctions des circuits neuronaux (Devaud et al., 2001; Grubb et Thompson, 2004; Minoli et al., 2012). Comprendre les effets des interactions volatiles attractives et répulsives et de la pré-exposition sur le comportement des insectes nuisibles, en réponse aux odeurs, permettra de mieux comprendre les mécanismes potentiels à explorer pour la protection des produits stockés.

Nous avons étudié les effets de l'huile essentielle de lavande aspic et de son principal constituant, le linalool, à différentes doses, sur le comportement des adultes de *T. confusum*. Pour cela, nous avons utilisé un olfactomètre à quatre voies pour étudier les effets répulsifs de l'huile essentielle de *L. spica* et du linalool et l'interférence avec l'attraction des phéromones d'agrégation émises par le coléoptère.

Nous avons testé l'effet de la pré-exposition avec l'huile essentielle de *L. spica* sur l'attraction par cinq conspécifiques ou au 1-tétradécène, un composant de la phéromone d'agrégation. Par ailleurs, la réponse comportementale de *T. confusum* à l'exposition simultanée à diverses doses d'huile essentielle de *L. spica* ou de linalool et à cinq conspécifiques ou le 1-tétradécène, a été également évaluée.

2. Matériels et méthodes

2.1. Insectes

Les insectes ont été élevés en masse dans des récipients en verre contenant de la semoule moyenne, dans une étuve réglée aux mêmes conditions de laboratoire citées auparavant. Les individus utilisés pour les tests comportementaux ne sont pas sexés et sont âgés de moins de 3 mois. Les insectes vivent naturellement tout au long de leur vie dans un environnement uniforme et nous nous n'attendons pas à ce qu'ils changent leur comportement guidé par les odeurs avec l'âge. Les insectes fraîchement éclos, moins mobiles et pas sclérotinisés, ne sont pas utilisés dans nos tests. De plus, les études antécédentes n'avaient pas montré de différences majeures de comportement et de réponses électrophysiologiques entre les sexes (Suzuki et Sugawara, 1979; Verheggen et al., 2007).

Les expériences de comportement se sont déroulées à Agrocampus Ouest, Angers, France. Avant le début des expériences, nous avons retiré jusqu'à 10 adultes de l'élevage de masse dans une boîte de Pétri avec quelques grains de semoule.

2.2. Huile essentielle et composés

Nous avons testé l'huile essentielle de lavande aspic ainsi que le linalool déjà utilisés dans les tests de fumigation et un composé de la phéromone d'agrégation, le 1-tétradécène à 97% fourni par Sigma-Aldrich (France).

2.3. Test en olfactomètre

Un olfactomètre à quatre voies de Pettersson (1970) pour les petits insectes a été utilisé pour tous les tests des choix comportementaux, placé dans une cage en bois pour éviter le plus possible l'influence de l'environnement (figure 43). Il se compose de trois pièces en plexiglass assemblées pour former quatre zones avec un trou central pour l'introduction de l'insecte et la connexion à la pompe. Un papier filtre est déposé au fond de l'étage inférieur de l'olfactomètre et les zones sont dessinées et numérotées de 1 à 4, les zones 2 et 4 correspondent au témoin, les zones 1 et 3 correspondent au stimulus testé. Chaque sortie d'olfactomètre est connectée à des seringues de 5ml dans lesquelles sont placées des pipettes Pasteur contenant du papier filtre imprégné de la dose de la substance testée (figure 44) ou des tubes en silicone contenant des coléoptères ou du papier filtre.

Un débit d'air total de 500 ml par minute, contrôlé par un débitmètre, est appliqué, entraînant un débit d'air de 125 ml/min dans chaque zone de l'olfactomètre. L'air ambiant, chargé en molécules odorantes, en traversant la zone de stimulus est aspiré par le trou central de l'olfactomètre par une pompe à membrane, permettant une distribution bien définie des odeurs dans les 4 zones. L'air odorant est évacué à travers un tube en silicone vers l'extérieur. La température durant l'expérimentation est maintenue entre 22 et 25 °C, la pression de l'air et le taux d'humidité sont notées (Humidité 35 à 55 % ; Pression de l'air 995-1015 hPa).

Les *Tribolium* ont été testés individuellement pendant 15 min, à faible lumière du jour (150–300 lux) et à chaque nouvel individu testé, l'olfactomètre est changé et l'emplacement des zones est tourné à 90°, pour éviter une éventuelle influence du positionnement sur le comportement. Les olfactomètres utilisés sont lavés avec un détergent et séchés pour une nouvelle utilisation.

Chaque stimulus a été utilisé pour 3 coléoptères, ensuite le stimulus est renouvelé. Au moins 30 individus ont été testés pour chaque traitement et pour chaque dose, chaque changement de zone a été noté et le temps total passé dans chaque zone a été calculé.

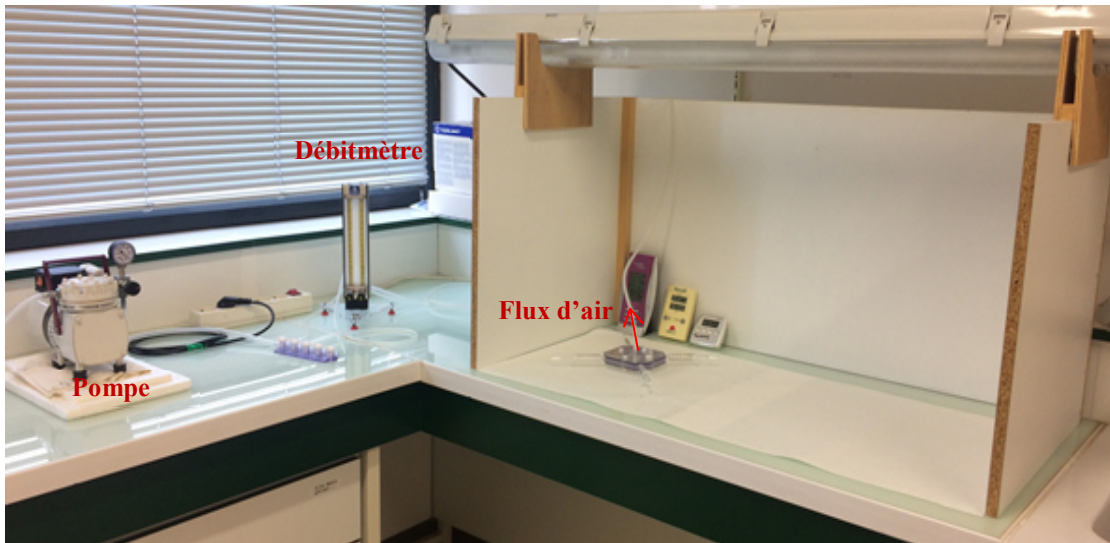


Figure 43. Olfactomètre à 4 voies placé dans une cage en bois

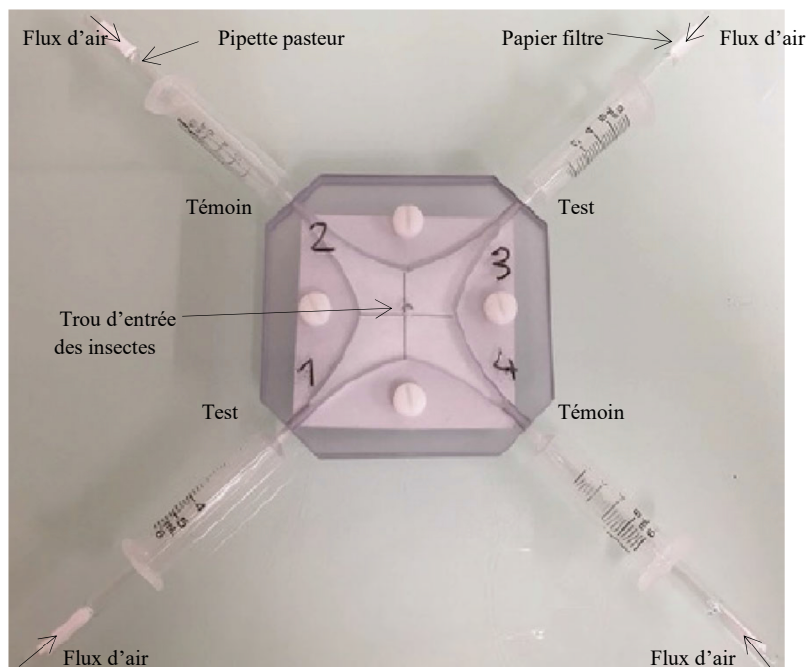


Figure 44. Olfactomètre à 4 voies

2.3.1. Design expérimental pour tests avec les odeurs individuelles

2.3.1.1. Expérience 1 : Effets répulsifs de l'huile essentielle de la lavande et du linalool

L'huile essentielle de lavande aspic (1A, Tableau 22) et le linalool (1B, Tableau 22) à des dilutions décadiques dans de l'huile minérale, donnant des quantités finales comprises entre 10 µg et 10 mg pour l'huile essentielle de *L. spica* et 1 µg et 10 mg pour le linalool dans 10 µl de solution, étaient appliqués sur du papier filtre à une pipette Pasteur. Pour les tests de la lavande et du linalool, nous avons utilisé 10 µl d'huile minérale comme témoin.

2.3.1.2. Expérience 2 : Attraction de *T. confusum* par les conspécifiques et par le 1-tétradécène

L'attraction de *T. confusum* a été testée sur un composant de la phéromone d'agrégation, le 1-tétradécène, dilué dans de l'hexane de 1 ng à 1 µg, appliqué sur un papier filtre (2A, Tableau 22) dans une pipette Pasteur. Le choix de ce composé de la phéromone d'agrégation est dû aux résultats de Verheggen et al. (2007) qui avaient déjà démontré que ce composé seul induit une attraction chez *T. confusum*.

Lors des essais préliminaires, nous avons également évalué l'attractivité de la méthyl-1,4-benzoquinone à des doses démontrées par Verheggen et al. (2007) comme attractives, mais aucune attraction n'a été observée dans notre dispositif.

Etant donné que seule une faible attraction au 1-tétradécène a été observée, nous avons également testé 1, 5 ou 10 adultes de *T. confusum* placés dans un tube en silicone avec des grilles en téflon aux deux extrémités, comme stimuli (2B, Tableau 22) (figure 45). Des tubes en silicone ont été insérés dans des seringues jetables (5ml) montées aux entrées de l'olfactomètre. Pour les tests au 1-tétradécène et aux insectes, 10 µl d'hexane sur un papier filtre ou un tube de silicone vide ont été utilisés, respectivement comme témoin.

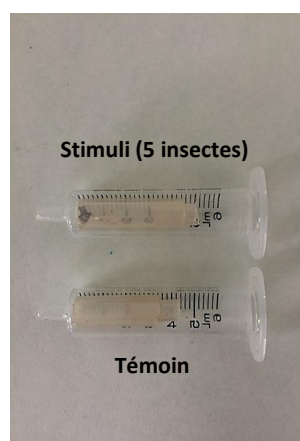


Figure 45. Stimuli dans des tubes de silicone introduits dans des seringues

2.3.2. Design expérimental pour tests avec les odeurs combinées

2.3.2.1. Expérience 3 : Effets de la pré-exposition des insectes à la lavande aspic sur l'attractivité de la phéromone d'agrégation

Pour l'expérience de pré-exposition, 20 insectes ont été placés dans un bocal en verre d'un volume de 250 ml, rempli à 1/4 de farine. Un morceau de papier filtre a été fixé sur le couvercle du bocal sur lequel nous avons déposé une dose sub létale de 10 μ l d'huile essentielle de lavande aspic (correspondant à une dose de 40 μ l/L) pendant une durée d'exposition de 24 à 28 heures. Les coléoptères ont été retirés de la farine juste avant les tests de comportement avec cinq conspécifiques (3A, Tableau 22) ou 10 ng de 1-tétradécène (3B, Tableau 22) comme stimuli. Pour ces tests, des tubes vides et des tubes contenant un papier filtre avec 10 μ l d'hexane ont été utilisés, respectivement comme témoins.

2.3.2.2. Expérience 4 : Effets d'application simultanée de stimuli répulsifs et attractifs

Pour l'application simultanée de l'huile essentielle de lavande aspic ou de linalool et de la phéromone d'agrégation, un papier filtre imprégné d'une dose comprise entre 10 μ g et 10 mg d'huile essentielle de lavande (4A, Tableau 22) ou entre 1 μ g et 10 mg de linalool (4B, Tableau 22) a été placé dans un morceau de tube en silicone, dans une seringue en plastique. Un deuxième tube de silicone fermé, avec des grilles en téflon à mailles fines et contenant cinq conspécifiques, a été placé derrière le tube contenant l'huile essentielle de lavande (figure 46). De cette façon, les coléoptères utilisés comme source de phéromone d'agrégation n'étaient pas en contact avec l'huile essentielle de lavande. Ceci pour éviter un effet de l'huile ou du linalool sur l'émission de la phéromone d'agrégation. Des tubes vides et des tubes contenant un papier filtre avec 10 μ l d'huile minérale ont été insérés dans une seringue comme témoins.

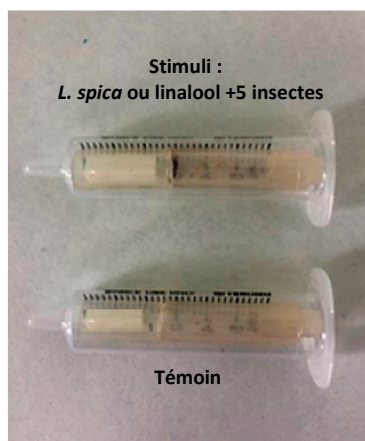


Figure 46. Stimuli dans des tubes de silicone introduits dans des seringues

Pour les expériences associant le 1-tétradécène et une stimulation à l'huile essentielle de lavande (4C, Tableau 22), deux papiers filtres ont été insérés dans une pipette Pasteur et imprégnés avec des doses comprises entre 10 µg et 10 mg de l'huile essentielle de *L. spica* et 10 ng de solution de 1-tétradécène, respectivement. Des pipettes Pasteur, avec deux papiers filtres contenant 10 µl d'huile minérale et d'hexane, ont été utilisées comme témoins (figure 47).

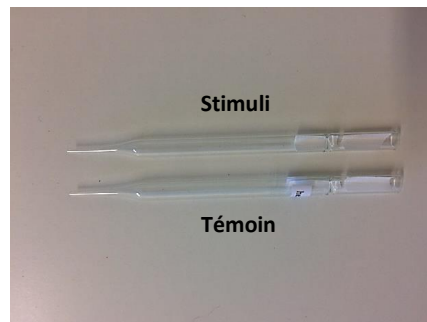


Figure 47. Stimuli dans des pipettes Pasteur qui seront placées dans des seringues

Tableau 22. Aperçu du design expérimental et de l'analyse statistique des tests olfactométriques (tests t appariés pour la répulsion). PE, pré-exposition

Expérience	Design expérimental			Analyse statistique		
	Odeur 1+3	Dose/no. insectes	Control 2+4	n	t (d.f. = n-1)	P
1A	<i>L. spica</i>	0,01mg	Huile minérale	32	-0,406	0,69
		0,1 mg		33	-2,077	0,046
		1 mg		32	-3,306	0,002
		10 mg		30	-29,153	<0,0001
1B	Linalool	0,001 mg	Huile minérale	30	0,105	0,92
		0,01 mg		30	-2,124	0,042
		0,1 mg		30	-2,503	0,018
		1 mg		30	-17,130	<0,0001
		10 mg		30	-18,106	<0,0001
2A	1-Tetradecene	1 ng	Hexane	30	-0,015	0,99
		10 ng		30	2,091	0,045
		100 ng		30	0,241	0,82
		1000 ng		30	-1,449	0,16
2B	No. insectes	1	Tube vide	33	1,776	0,085
		5		36	6,385	<0,0001
		10		30	3,194	0,004
3A	PE <i>L. spica</i> / no. insectes	10 mg / 5	Tube vide	36	2,276	0,029
3B	PE <i>L. spica</i> / 1tetradecene	10 mg / 10 ng	Hexane	30	-1,429	0,16
4A	<i>L. spica</i> + no. insectes	0,01 mg + 5	Huile minérale + Tube vide	33	1,866	0,071
		0,1 mg + 5		33	0,185	0,85
		1 mg + 5		34	0,422	0,68
		10 mg + 5		36	-5,666	<0,0001
		10 mg + 5		30	-0,654	0,52
4B	Linalool + no. insectes	0,001 mg + 5	Huile minérale + Tube vide	30	-0,233	0,82
		0,01 mg + 5		30	-0,053	0,05
		0,1 mg + 5		30	-1,197	0,05
		1 mg + 5		30	-5,055	<0,0001
		10 mg + 5		30	0,745	0,46
4C	<i>L. spica</i> oil + 1-Tetradecene	0,01 mg + 10 ng	Huile minérale + hexane	30	0,745	0,46
		0,1 mg + 10 ng		30	-2,535	0,017
		1 mg + 10 ng		30	-9,387	<0,0001
		10 mg + 10 ng		30	-17,802	<0,0001
Control	Huile minérale		Huile minérale	30	0,449	0,66

3. Analyse statistique des données

Pour les expériences comportementales, le temps moyen passé par les coléoptères dans les deux zones odorantes a été comparé au temps moyen passé dans les zones de contrôle, en utilisant un test t apparié avec le logiciel XLSTAT (Addinsoft, New York, NY, États-Unis) pour évaluer la répulsivité ou l'attractivité des stimuli testés. Les données ont été préalablement vérifiées pour la normalité avec les tests de Lilliefors et de Jarque-Bera, révélant dans tous les cas une distribution normale. Pour la comparaison des réponses entre les traitements, les temps moyens dans le contrôle ont été soustraits des temps moyens dans le traitement pour chaque insecte de chaque traitement. Les valeurs obtenues des paires de traitements ont ensuite été comparées à l'aide d'un test de Mann-Whitney dans le logiciel XLSTAT. Les astérisques indiquent des différences significatives entre le traitement et le contrôle pour chaque paire de données (test t apparié: * 0,01 <P <0,05, ** 0,001 <P <0,01, *** P <0,001; ns: P > 0,05).

4. Résultats

4.1. Expérience 1 : effets répulsifs de la lavande et du linalool

Nos tests comportementaux montrent que les adultes de *T. confusum* fuient les zones de l'olfactomètre stimulées avec *L. spica* et linalool, dépendamment de la dose. Les Tribolium sont répartis également dans les zones de l'olfactomètre lorsque de l'huile minérale a été appliquée sur les quatre zones (figure 48A, tableau 22, témoin), cela veut dire qu'il n'y a pas de biais dans le dispositif expérimental.

Les doses d'huile essentielle de lavande aspic variant de 0,1 à 10 mg sont significativement répulsives (figure 48A, tableau 22, expérience 1A), les insectes ont passé 59, 64 et 88% de leur temps dans les zones témoins, alors qu'avec la dose 0,01 mg, les coléoptères n'ont pas fait de choix entre les zones stimulées et le témoin. Pour le linalool, des doses allant de 0,01 à 10 mg sont significativement répulsives (figure 48B, tableau 22, expérience 1B), les insectes ont passé respectivement 61, 65, 89 et 88% de leur temps dans les zones de témoins.

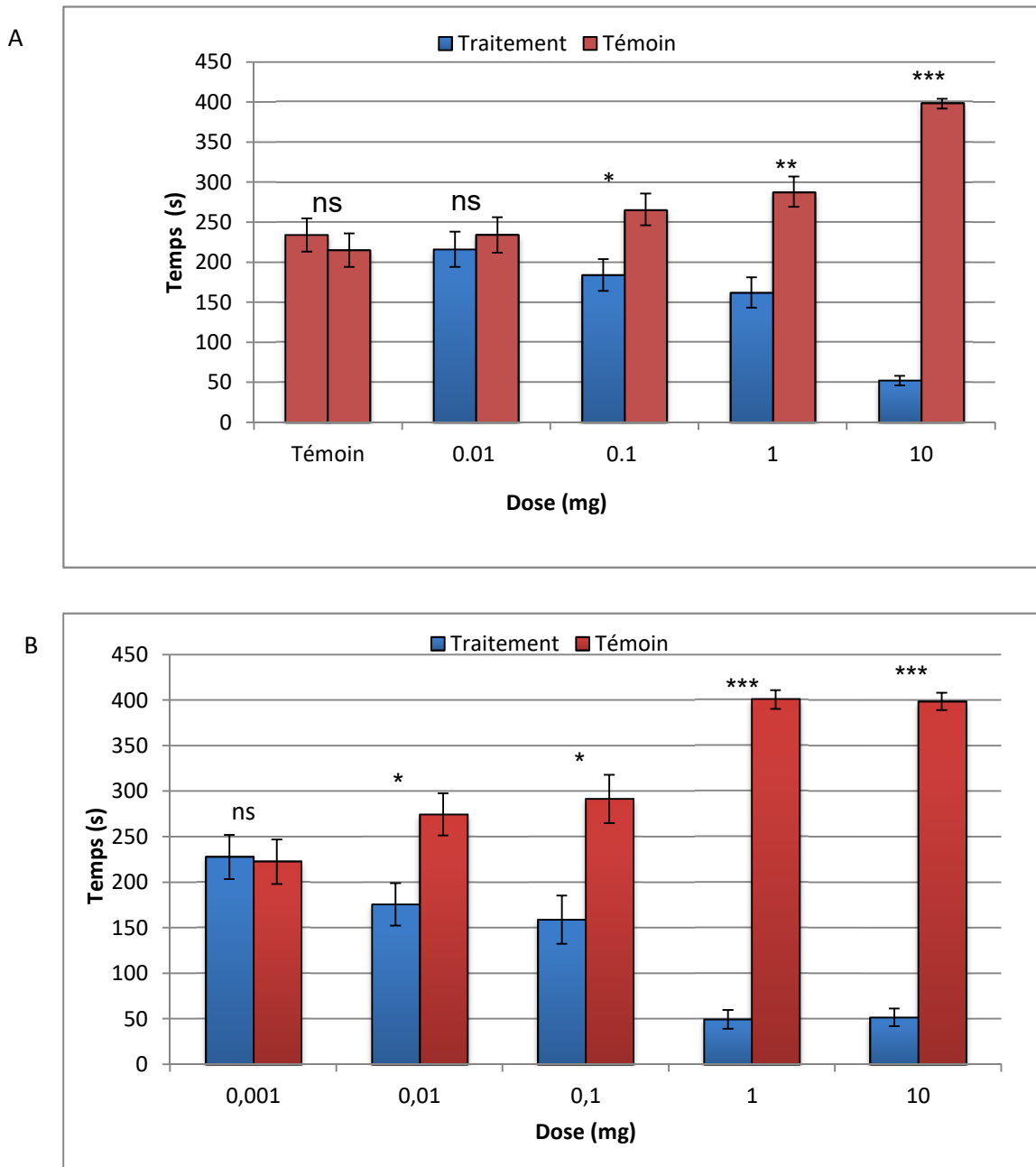


Figure 48. Effet comportemental de l'huile essentielle de lavande aspic (A) et du linalool (B) sur les adultes de *T. confusum*. Moyenne \pm SEM; n=30-32 individus par dose/témoin. Temps (s) est le temps moyen passé dans les zones traitées et témoins de l'olfactomètre à 4 voies.

4.2. Expérience 2 : attraction de *T. confusum* par les conspécifiques et le 1-tétradécène

Des adultes de *T. confusum* dans un tube en silicone ont été utilisés comme source de phéromone d'agrégation. Alors qu'un seul adulte n'est pas significativement attractif, cinq et 10 coléoptères le sont (figure 49A, tableau 22, expérience 2B), les insectes passaient 72 et 65% de leur temps dans les zones contenant cinq et 10 coléoptères, respectivement.

Le 1-tétradécène n'est significativement attractif qu'à une dose de 10 ng (figure 49B, tableau 22, expérience 2A), les insectes passaient 62% de leur temps dans les zones traitées. La plus faible dose et les doses les plus élevées n'ont pas eu d'effet significatif sur le comportement d'orientation de l'insecte.

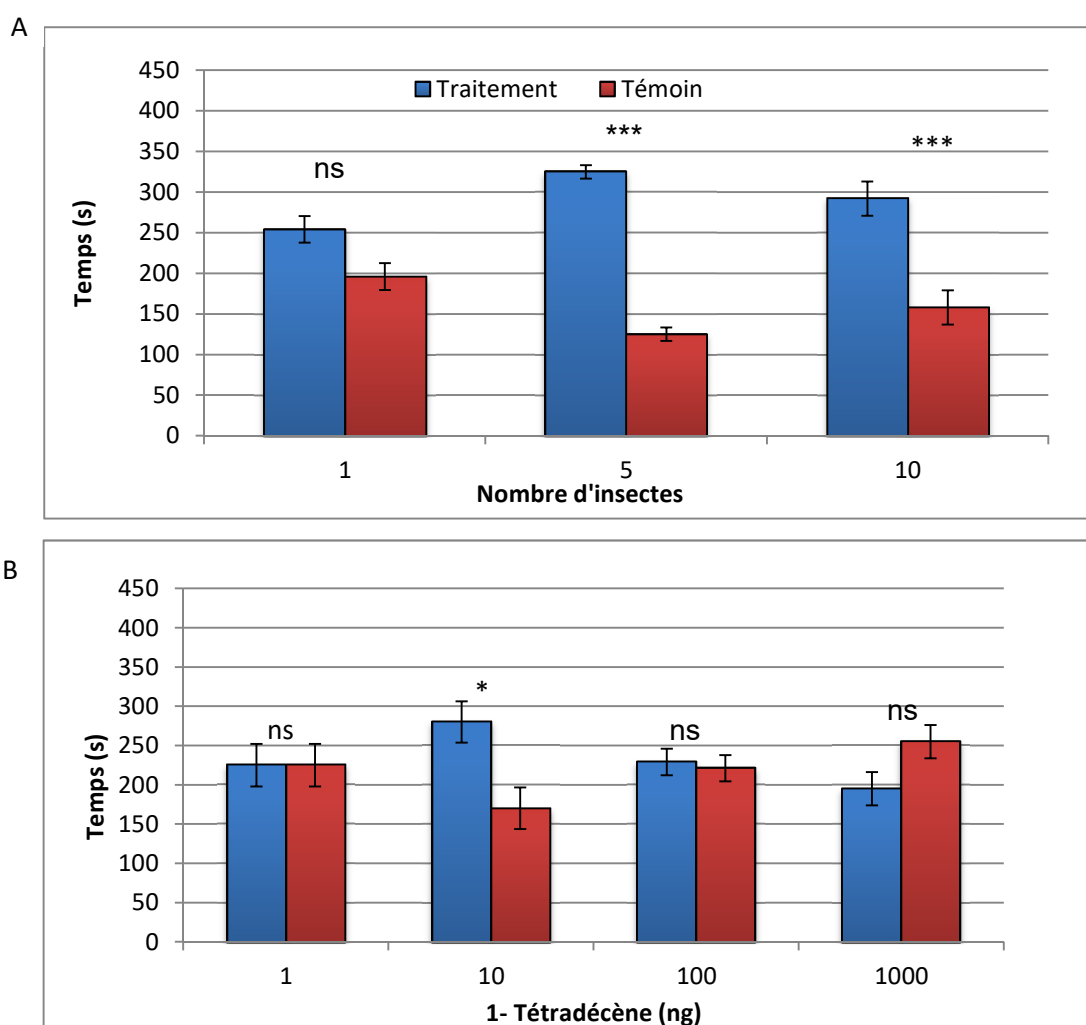


Figure 49. Effet comportemental du nombre de conspécifiques (A) et de différentes doses de 1-tétradécène (B) sur les adultes de *T. confusum*. Moyenne±SEM; n=30-36 individus par dose/témoin. Temps (s) est le temps moyen passé dans les zones traitées et témoins de l'olfactomètre à 4 voies.

4.3. Expérience 3 : effets de la pré-exposition des insectes à la lavande aspic sur l'attraction de la phéromone d'agrégation

Le traitement préalable par fumigation, à la dose sublétales de 10 µl de l'huile essentielle de *L. spica*, pendant 24-28 h, a réduit considérablement l'attraction de l'insecte ravageur pré-exposé aux cinq congénères (test de Mann-Whitney: $U=435$, $P= 0,017$) qui, en revanche, est considérablement attiré par ses conspécifiques (figure 50, tableau 22, expérience 3A); *T. confusum* reste 59% de son temps dans les zones odorisées avec la phéromone d'agrégation.

Cependant, l'attractivité de 10 ng de 1-tétradécène a été abolie après une pré-exposition à 10 µl de l'huile essentielle de *L. spica*, puisque les coléoptères utilisés ont passé des temps similaires dans les zones témoins et odorisées de l'olfactomètre (figure 50, tableau 22, expérience 3B).

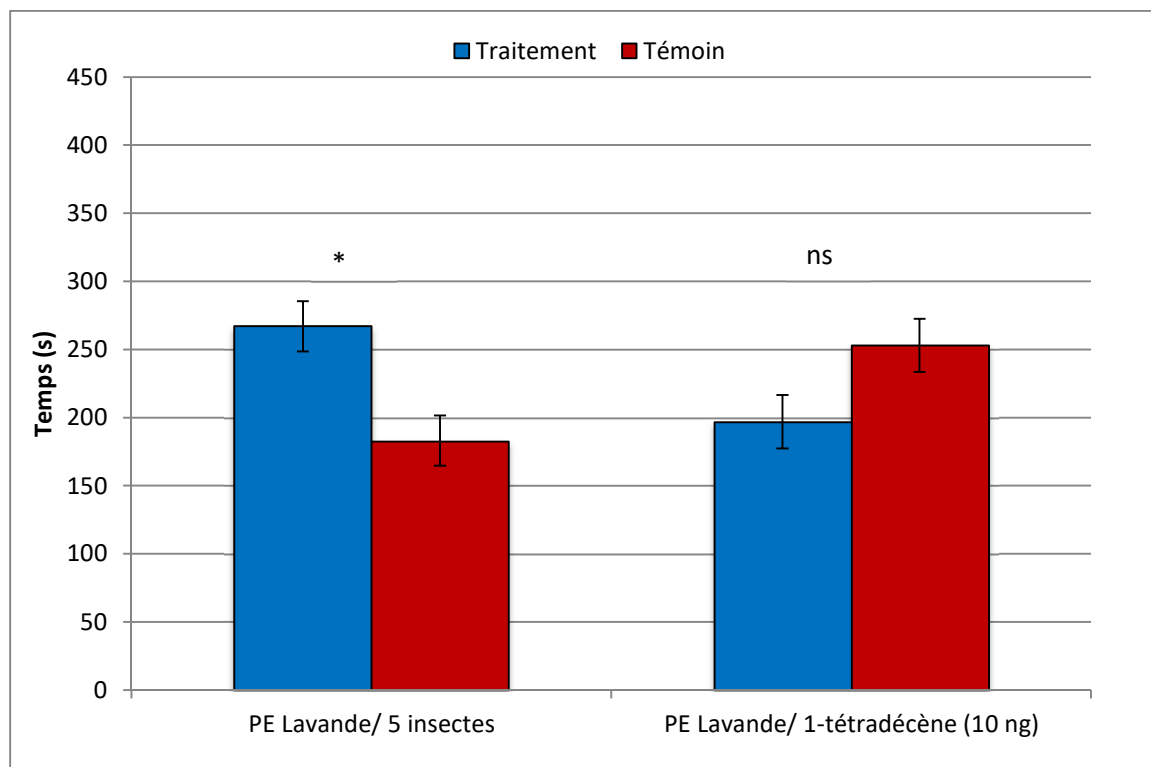


Figure 50. Effet de la pré-exposition à l'huile essentielle de lavande aspic sur l'attraction des adultes de *T. confusum* par 5 conspécifiques ou du 1-tétradécène. Moyenne±SEM; n=30-36 par dose/témoin. Temps (s) est le temps moyen passé dans les zones traitées et témoins de l'olfactomètre à 4 voies.

4.4. Expérience 4 : effets de l'application simultanée de stimuli répulsifs et attractifs

L'action simultanée de l'huile essentielle de *L. spica* et de cinq conspécifiques a supprimé l'attractivité de la phéromone d'agrégation, à toutes les doses testées. Sauf à la dose la plus élevée (10mg), un effet significativement répulsif, mais réduit de l'huile essentielle de *L. spica*, a été observé (test de Mann-Whitney: $U= 832$, $P <0,001$; figure 51A, tableau 22, expérience 4A). Les insectes n'ont passé que 70% de leur temps dans les zones témoins, contre 88% dans les zones traitées avec l'huile essentielle de lavande seule, à cette dose. Par ailleurs, les coléoptères n'ont pas fait de choix entre les zones traitées avec des doses plus faibles de l'huile essentielle de *L. spica* combinées à cinq conspécifiques et celles du témoin. Ainsi, l'effet répulsif de 0,1 et 1 mg de l'huile essentielle de *L. spica* a été contrebalancé par l'application de la phéromone d'agrégation, émise par les conspécifiques, et même à une dose non répulsive en soi, les coléoptères n'étaient pas attirés par les congénères (figure 51A).

Lors de la combinaison du linalool avec cinq conspécifiques, ni attraction pour la phéromone d'agrégation, ni effet répulsif du linalool, n'ont été observés avec les quatre premières doses testées, par contre, à la dose 10 mg, un effet répulsif réduit du linalool (test de Mann-Whitney: $U=684$, $P <0,001$) a été observé (figure 51B, tableau 22, expérience 4B), les insectes ont passé 70% de leur temps dans les zones témoins, contre 88% dans celles du linalool seul. Ainsi, l'effet répulsif du linalool a été réduit par la présence de cinq conspécifiques. Néanmoins, même une dose de linalool non répulsive à elle seule, a supprimé l'attractivité des conspécifiques (figure 51B).

En combinant la dose attractive de 1-tétradécène (10 ng) avec diverses doses de l'huile essentielle de *L. spica*, l'attractivité du 1- tétradécène a été abolie et le fort effet répulsif de l'huile essentielle de *L. spica* est resté presque toujours inchangé par l'ajout du 1-tétradécène (figure 51C, tableau 22, expérience 4C).

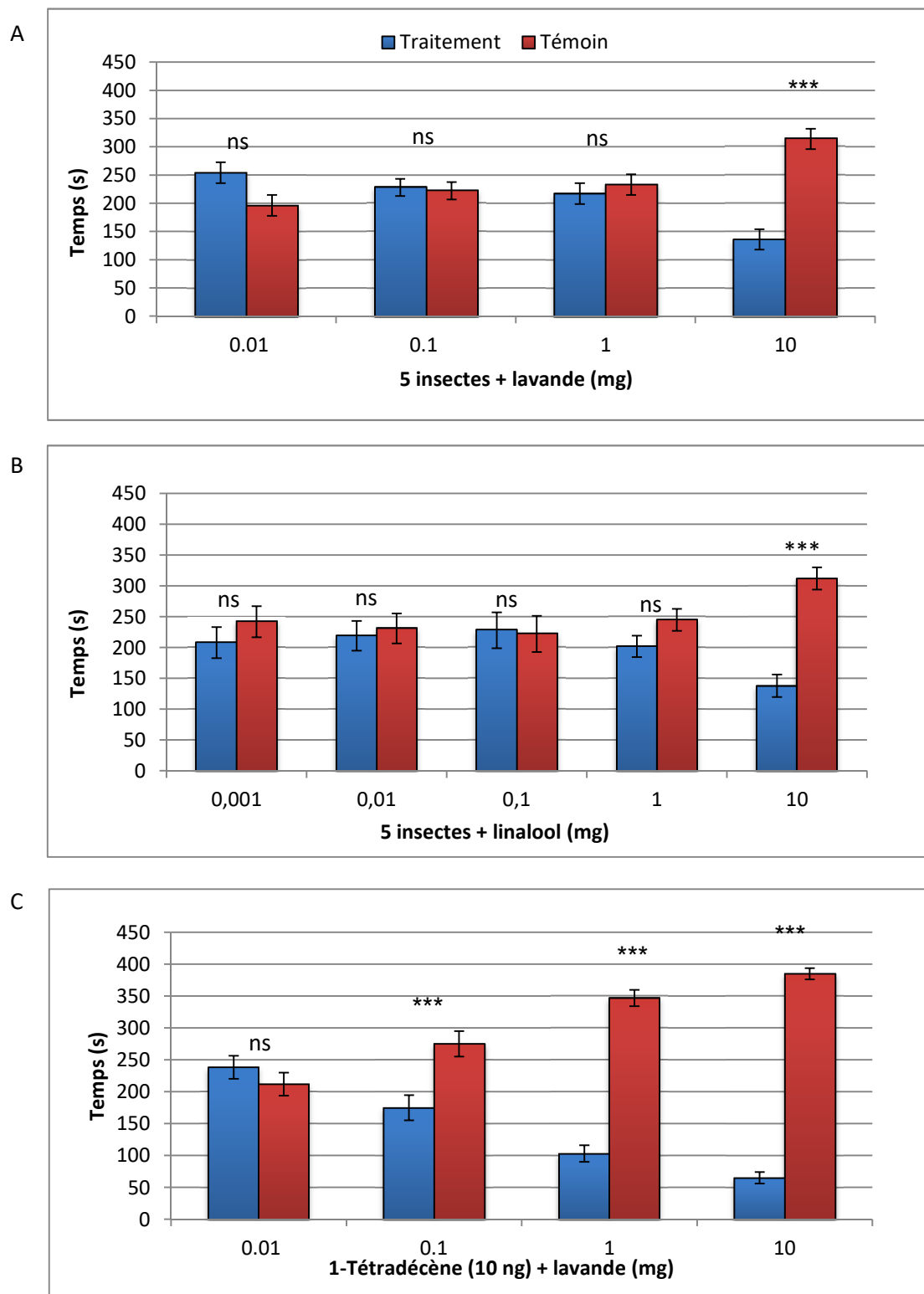


Figure 51. Effet comportemental de l'application simultanée de différentes doses (A) de l'huile essentielle de *L. spica* et de la présence de cinq conspécifiques, (B) du linalool et de cinq congénères, et (C) de l'huile essentielle de *L. spica* et du 1-tétradécène sur les adultes de *T. confusum*. Moyenne±SEM; n= 30-36 par dose/témoin. Temps (s) est le temps moyen passé dans les zones traitées et témoins de l'olfactomètre à 4 voies.

5. Discussion

Nous avons démontré dans cette étude que l'huile essentielle de *L. spica* et son composant majeur, le linalool, présentent un effet répulsif sur les adultes de *T. confusum*. De plus, des interactions importantes entre l'huile essentielle de *L. spica* ou le linalool et la phéromone d'agrégation émise par les conspécifiques ou le 1-tétradécène, ont été révélées et ceci pendant l'application simultanée et après la pré-exposition.

Les fortes doses testées de l'huile essentielle de *L. spica* étaient fortement répulsives à l'égard de *T. confusum*. Il a été démontré que les huiles essentielles et plusieurs de leurs constituants ont un effet répulsif sur plusieurs insectes, y compris les ravageurs des denrées stockées (Sendi et Ebadollahi, 2013). Nous avons confirmé que le linalool seul a également un effet fortement répulsif sur les adultes de *T. confusum*, même à des doses légèrement inférieures à celles de l'huile essentielle de *L. spica*. Cela suggère que dans l'huile essentielle de *L. spica*, le linalool contribue de manière importante à l'effet répulsif, car il constitue près de 50% du volume de l'huile. Les principaux constituants des huiles essentielles ont été utilisés individuellement dans la protection des plantes, mais des expériences avec des mélanges de composés et de l'huile essentielle complète révèlent que même les composants mineurs peuvent agir en synergie et contribuer à la spécificité des traitements, spécialement les effets répulsifs (Nerio et al., 2010). Une méta-analyse des réponses d'insectes herbivores aux substances volatiles, mettant l'accent sur l'attraction des herbivores par les composés de plantes, a également révélé une augmentation de l'attraction avec l'augmentation du nombre de composants attractifs (Szendrei et Rodriguez-Saona, 2010).

Suivant l'observation que les individus de *T. confusum* s'attirent mutuellement, des études ont montré que les mâles de *T. confusum* et *T. castaneum* produisent du 4,8-diméthyl-décane-1-al, une phéromone d'agrégation, qui attire les mâles et les femelles (Suzuki, 1981). Des travaux plus récents indiquent que la phéromone d'agrégation est un mélange plus complexe de composés (Verheggen et al., 2007). Nous avons observé également que les adultes de *T. confusum* sont fortement attirés par les substances volatiles émises par de petits groupes de conspécifiques et moins fortement attirés par une seule dose de 1-tétradécène, composant de la phéromone d'agrégation. La faible attractivité du 1-tétradécène correspond à la constatation générale selon laquelle les composants individuels des phéromones sont beaucoup moins attractifs que les mélanges (Baker, 1989). Une autre explication pour l'attraction pour une seule dose de 1-tétradécène pourrait être expliquée par le fait que les

individus testés n'ont pas été sexés, bien que des expériences avec des coléoptères sexés, testant diverses doses de ce composé, ont révélé une grande variabilité des réponses et seulement de légères différences entre les mâles et les femelles (Verheggen et al., 2007). Chez l'espèce apparentée *T. castaneum*, une grande variation des réponses aux appâts à base de phéromones et kairomones a également été révélée entre les différentes souches de l'insecte, dans divers tests comportementaux et aucun effet du sexe n'a été observé (Gerken et al., 2018).

Nous avons également montré que la pré-exposition à une dose sublétales de l'huile essentielle de *L. spica*, pendant 24 à 28 h, réduit l'attractivité des conspécifiques et supprime l'attraction du 1-tétradécène. Ces résultats peuvent être comparés aux effets de la pré-exposition à des phéromones de valence positive ou négative chez les insectes sociaux, qui modulent les réponses ultérieures aux signaux aversifs ou appétitifs. Par exemple, un composé de la phéromone appétitive (géraniol) réduit les réponses aversives à une série de chocs électriques et les odeurs florales appétitives ce qui entraîne une baisse des réponses défensives chez les abeilles (Hotier et al., 2015; Rossi et al., 2018). Potentiellement, l'exposition à un répulsif puissant pourrait moduler la sensibilité du système olfactif, via des amines biogènes, c'est le cas d'une augmentation des attaques des abeilles après une exposition à la phéromone d'alarme (Nouvian et al., 2018).

L'application simultanée de répulsifs et de signaux attractifs intraspécifiques a annulé le choix pour la plupart des doses testées de l'huile essentielle de lavande et du linalool, les insectes n'ont manifesté ni attraction, ni répulsion. Correspondant à l'efficacité des signaux répulsifs seuls, un effet répulsif en présence d'un stimulus attractif n'a été rétabli que lors de l'utilisation de fortes doses de répulsifs, indiquant un compromis pondéré dans les réponses aux stimuli combinés d'attractifs et de répulsifs. L'effet répulsif était plus facilement rétabli, si l'effet attractif du signal intraspécifique était plus faible, comme dans le cas du 1-tétradécène. Les plus faibles doses de l'huile essentielle de lavande et du linalool qui ne présentent pas d'effet répulsif, inhibent par contre l'attraction des conspécifiques.

Par ailleurs, les réponses comportementales de *Drosophila melanogaster* Meigen à une combinaison de composés répulsifs et attractifs ont révélé que l'attraction est systématiquement réduite par les composés répulsifs, et que pour la plupart des combinaisons d'odeurs, un effet répulsif est maintenu même en présence d'un composé attractif (Thoma et al., 2014).

Bien qu'il soit difficile de comparer les données comportementales obtenues avec des composés individuels de valence connue avec celles obtenues pour les mélanges complexes, la géosmine, un composé répulsif produit par des microbes pathogènes, réduit également l'attractivité pour l'odeur complexe du vinaigre, chez *D. melanogaster* (Becher et al., 2010). Les mécanismes neuronaux des interactions complexes de mélanges doivent encore être étudiés. Cependant, il a été démontré que plusieurs niveaux de la voie olfactive, y compris le centre olfactif primaire, le lobe antennaire, et les centres d'intégration supérieurs, étaient impliqués dans les interactions de mélange d'odeurs, par exemple, les mélanges de phéromones, les mélanges d'odeurs de plantes ou de fleurs chez les papillons de nuit et les abeilles et les mélanges de phéromones et d'odeurs d'origine végétale (Deisig et al., 2014, 2006; Lei and Vickers, 2008).

6. Conclusion

En conclusion, nos travaux révèlent les réponses comportementales de *T. confusum* vis-à-vis d'une huile essentielle et de son composant majeur ainsi que leur interaction avec des signaux attractifs. Un compromis entre les réponses aux odeurs attractives et répulsives dépend des concentrations utilisées, avec une inhibition de l'attraction des conspécifiques même avec des doses de substances ne présentant pas d'effet répulsif. Bien qu'il ne soit pas réaliste d'appliquer directement les huiles essentielles ou les composés à forte odeur utilisés ici aux produits stockés, le traitement des surfaces de stockage peut être faisable (Arthur et al., 2011). Sur la base de nos résultats, les effets répulsifs de l'huile essentielle ou du linalool, ainsi que leur effet de réduction de l'attraction intraspécifique par les phéromones d'agrégation, peuvent contribuer à une stratégie alternative de lutte contre les insectes ravageurs des denrées stockées. Nos résultats illustrent les mécanismes à prendre en compte lors de tests ultérieurs avec de nouvelles substances destinées à lutter contre *T. confusum* et potentiellement d'autres insectes ravageurs des produits stockés.

Conclusion générale

Les travaux de recherche entrepris dans cette thèse ont permis d'apporter une contribution à la connaissance de la bio écologie d'un redoutable insecte ravageur des denrées stockées, *T. confusum*, et de proposer une alternative à l'utilisation massive des insecticides dans les entrepôts de stockage par l'utilisation de substances naturelles d'origine végétale qui sont les huiles essentielles et les monoterpènes.

Les résultats des expérimentations menées sur la biologie de *T. confusum* ont montré que le Tribolium est capable de se développer sur tous les substrats alimentaires testés (farine de blé, semoule et grains de blé concassés) et que son cycle de développement varie selon le type de substrat; il est plus long sur la semoule ($43,07 \pm 2,09$ jours) et plus court sur la farine de blé ($34,82 \pm 1,20$ jours). L'insecte se développe en 8 stades larvaires sur la semoule et en 7 stades sur la farine de blé et les grains de blé concassés. Le deuxième et le dernier stade larvaire sont les plus longs du cycle de développement de l'insecte. La durée de la nymphose varie significativement selon le substrat, elle plus longue sur la semoule et les grains de blé concassés avec $6,55 \pm 0,50$ jours et $6,47 \pm 0,50$ jours, respectivement. Le poids moyen des femelles et celui des mâles ne varie pas significativement sur la semoule et la farine de blé, nous avons noté également que le poids moyen des femelles est plus élevé que celui des mâles pour chaque type de substrat testé.

Concernant la longévité des adultes de *T. confusum*, l'analyse de la variance ne révèle pas de différence significative selon le substrat alimentaire et le sexe.

Par ailleurs, les femelles mettent environ 5 à 7 jours pour commencer à pondre, la durée de la pré-oviposition varie selon le type de substrat alimentaire. Le nombre d'œufs pondus est aussi fonction du substrat alimentaire, il est plus important sur les grains de blé concassés, tenant compte du nombre élevé de larves observées sur ce substrat.

Le taux de survie post-embryonnaire varie également en fonction du substrat alimentaire, il est plus important sur les grains de blé concassés et la semoule. Par contre, les résultats du sex-ratio n'ont pas montré de différences significatives entre les différents substrats, la valeur de ce paramètre est proche de l'équilibre.

Les résultats de l'analyse GC/MS ont montré que les huiles essentielles de la famille des Lamiacées et des Myrtacées, que nous avons testées, sont très riches en monoterpènes, particulièrement les monoterpènes oxygénés qui jouent un rôle important dans la toxicité de ces substances.

En ce qui concerne les résultats des tests de toxicité des huiles essentielles et des monoterpènes, par fumigation sur les différents stades de développement de *T. confusum*, nous pouvons déduire que leur efficacité varie selon le stade de développement de l'insecte, la dose et le temps d'exposition. Le stade œuf chez beaucoup d'insectes comme *C. maculatus* par exemple est le plus sensible aux traitements avec les huiles essentielles (Toudert-Taleb et al., 2014; Hedjal-Chebheb et al., 2015); dans le cas du *Tribolium*, ce stade a montré une résistance aux traitements, même à forte dose, en revanche, l'huile essentielle des clous de girofle, le linalool, l'huile essentielle de lavande aspic et l'eucalyptol ont induit jusqu'à 100% de mortalité.

Le stade larvaire L1 est le plus sensible aux traitements, nous avons obtenu des mortalités assez importantes même avec les faibles doses et aux différents temps d'exposition. Alors que le stade larvaire L8 a révélé une forte résistance à certains traitements, même à la plus forte dose de 1000 µl/L. L'eucalyptol et les huiles essentielles d'eucalyptus et de romarin ont prouvé leur efficacité à l'égard des larves âgées de *T. confusum*. Sur le stade nymphal, tous les traitements ont révélé une certaine toxicité, mise à part l'huile essentielle des clous de girofle.

Le stade adulte semble résister également au linalool et à l'huile essentielle des clous de girofle, même à forte dose et à 96 h d'exposition. Les autres traitements par contre ont montré une toxicité importante sur les adultes, particulièrement l'eucalyptol qui agit même à faible dose.

La concentration létale 50 permet de classer les biopesticides en fonction de leur toxicité. Le calcul de la CL_{50} après 24h pour tous les traitements et pour les différents stades de développement ont montré que sur les œufs, l'huile essentielle des clous de girofle est la plus toxique avec une valeur de 9,263 µl/L. Pour le premier stade larvaire, l'eucalyptol est le plus toxique avec une $CL_{50} < 7,81$ µl/L. Pour le stade larvaire L8, l'huile essentielle d'eucalyptus est plus toxique avec une CL_{50} de 149,05 µl/L. C'est également l'eucalyptol qui s'est montré le plus toxique à l'égard des nymphes ($CL_{50} = 131,729$ µl/L) et des adultes ($CL_{50} = 149,685$ µl/L).

Nos traitements réduisent le taux d'émergence des adultes à partir des œufs, des larves et des nymphes qui ont survécu aux tests de fumigation, en fonction de la dose et du temps d'exposition. Nous avons remarqué qu'en traitant les œufs, aucune émergence des adultes n'a été observée avec l'huile essentielle des clous de girofle (100% de mortalité chez les œufs de

T. confusum). Nous avons constaté également que tous les traitements réduisent le taux d'émergence, lorsque les L1 sont ciblées, particulièrement l'eucalyptol et l'huile essentielle d'eucalyptus. Concernant le stade larvaire L8, le taux d'émergence est surtout affecté par les huiles essentielles d'eucalyptus, de myrte, de romarin ainsi que l'eucalyptol. Le stade nymphal est surtout affecté par les fortes doses et les temps d'exposition les plus longs (72h et 96h) des différents traitements.

La fumigation des nymphes avec les huiles essentielles et les monoterpènes a provoqué des malformations chez les adultes et l'apparition des mosaïques, ce qui réduit davantage le succès reproducteur. Le taux de malformation le plus élevé a été enregistré avec l'huile essentielle d'eucalyptus, plus de 40%, et pour les mosaïques, le taux le plus élevé a été obtenu avec les huiles essentielles de lavande aspic, de thym, de myrte et le linalool. Des recherches complémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes intervenant dans l'activité de ces substances naturelles sur la morphogenèse, sachant que les processus à l'origine de l'apparition des mosaïques et des adultes malformés sont, à notre connaissance, peu étudiés.

L'étude du comportement des adultes de *T. confusum*, en réponses aux stimuli olfactifs par l'utilisation d'un olfactomètre à 4 voies, nous a permis de montrer que la lavande aspic présente une action répulsive à l'égard de *T. confusum*, à partir de la dose 0,1 mg, de même pour le linalool qui s'est révélé répulsif à partir de la dose 0,01mg.

Le test d'attraction des adultes de *T. confusum*, en utilisant le 1-tétradécène et un nombre de congénères variant de 1 à 10, a montré qu'une seule dose de 1-tétradécène ainsi que 5 et 10 conspécifiques, sont significativement attractifs.

La pré-exposition des adultes de *T. confusum* à une dose sub létale de l'huile essentielle de lavande aspic annule l'attraction de la phéromone d'agrégation (1-tétradécène) et réduit celle de 5 congénères.

Les résultats des tests de combinaison d'odeur ont montré que l'huile essentielle de lavande aspic inhibe l'attraction des phéromones d'agrégation émises par les conspécifiques et celle du 1-tétradécène, lorsqu'elles sont appliquées simultanément. Le linalool inhibe également l'attraction des phéromones d'agrégation émise par les 5 conspécifiques. Nous concluons que l'huile essentielle de lavande aspic et le linalool exercent une action répulsive qui inhibe l'attractivité de la phéromone d'agrégation.

Ainsi, nous avons démontré que les substances volatiles testées pourraient représenter une alternative potentielle à l'utilisation des insecticides de synthèse dans la lutte contre *T. confusum*. En raison des problèmes de volatilité et d'instabilité des huiles essentielles, l'encapsulation de ces dernières est une stratégie appropriée pour améliorer leur stabilité et leur persistance et les protéger des effets indésirables de la lumière, de l'humidité et de l'oxygène (Ziaee et al., 2014).

Il serait intéressant de réaliser des essais pilotes, à plus grande échelle, pour déterminer les possibilités d'application de ces biopesticides dans les entrepôts de stockage. Il est également indispensable d'évaluer, au préalable, l'impact de ces traitements sur la qualité des produits alimentaires, la santé des consommateurs ainsi que sur l'environnement.

Références bibliographiques

1. **Abbasipour, H., Mahmoudvand, M., Rastegar, F., Hosseinpour, M.H., 2012.** Chemical composition, fumigant toxicity and oviposition deterrence of *Cinnamomum zeylanicum* essential oil to three stored product insects. *Arch. Sci.* 65, 533–542.
2. **Abbott, W.S., 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* 18, 265–267.
3. **Abd El-Aziz, S.E., 2011.** Control strategies of stored products pests. *J. Entomol.* 8, 101–122.
4. **Abdelgaleil, S.A.M., Mohamed, M.I.E., Badawy, M.E.I., El-arami, S.A.A., 2009.** Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. *J. Chem. Ecol.* 35, 518–525.
5. **Abdelsamad, R.M., Elhag, E.A., Eltayeb, Y.M., 1988.** Studies on the phenology of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) in the Sudan Gezira. *J. Stored Prod. Res.* 24, 101–105.
6. **Ahmad, F., Walter, G.H., Raghu, S., 2012.** Comparative performance of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) across populations, resource types and structural forms of those resources. *J. Stored Prod. Res.* 48, 73–80.
7. **Ahmady, A., Hazim, Z., Rahmatzai, N., Mousa, M.A., Zaitoun, A.A., 2017.** Effect of temperature on the biology of flour beetle, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) in the laboratory. *Int. J. Zool. Stud.* 2, 39–42.
8. **Aidi Wannes, W., Mhamdi, B., Sriti, J., Ben Jemia, M., Ouchikh, O., Hamdaoui, G., Kchouk, M.E., Marzouk, B., 2010.** Antioxidant activities of the essential oils and methanol extracts from myrtle (*Myrtus communis* var. *italica* L.) leaf, stem and flower. *Food Chem. Toxicol.* 48, 1362–1370.
9. **Ainane, A., Khammour, F., Charaf, S., Elabboubi, M., Bennani, L., El Kouali, M., Talbi, M., Cherroud, S., Abba, E.H., Ainane, T., 2018.** Chemical composition and anti-insecticidal activity of the essential oils of Thymus of Morocco: *Thymus capitates*, *Thymus bleicherianus* and *Thymus satureioides*. *Org. Med. Chem. Int. J.* 6, 1–6.
10. **Ajayi, F.A., Rahman, S.A., 2006.** Susceptibility of some staple processed meals to red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Pak. J. Biol. Sci.* 9, 1744–1748.
11. **Ajayi, O.E., Appel, A.G., Fadamiro, H.Y., 2014.** Fumigation toxicity of essential oil monoterpenes to *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae). *J. Insects* 1–7.
12. **Akin, M., Aktumsek, A., Nostro, A., 2010.** Antibacterial activity and composition of the essential oils of *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. and *Myrtus communis* L. growing in Northern Cyprus. *Afr. J. Biotechnol.* 9, 531–535.
13. **Alabi, T., Marion-Poll, F., Danho, M., Mazzucchelli, G.D., Pauw, E.D., Haubruge, E., Francis, F., 2014.** Identification of taste receptors and proteomic characterization of the antenna and legs of *Tribolium brevicornis*, a stored food product pest. *Insect Mol. Biol.* 23, 1–12.

14. Alabi, T., Michaud, J.P., Arnaud, L., Haubruge, E., 2008. A comparative study of cannibalism and predation in seven species of flour beetle. *Ecol. Entomol.* 33, 716–726.
15. Alanko, K., Tuomi, T., Vanhanen, M., Pajari-Backas, M., Kanerva, L., Havu, K., Saarinen, K., Bruynzeel, D.P., 2000. Occupational IgE-mediated allergy to *Tribolium confusum* (confused flour beetle). *Allergy* 55, 879–882.
16. Alaoui-Jamali, C., El Bouzidi, L., Bekkouche, K., Lahcen, H., Markouk, M., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A., 2012. Chemical composition and antioxidant and anticandidal activities of essential oils from different wild Moroccan Thymus species. *Chem. Biodivers.* 9, 1188–1197.
17. Alaoui-Jamali, C., Kasrati, A., Leach, D., Abbad, A., 2016. Étude comparative de l'activité insecticide des huiles essentielles des espèces de thym originaires du Sud-Ouest marocain. *Phytothérapie* 1–7.
18. Ali, A., Sarwar, M., Khanzada, S., Abro, G.H., 2011. Evaluating resistance of wheat germplasm to attack by red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera). *Pak. J. Zool.* 43, 793–797.
19. Ali-Delille, L., 2010. *Les plantes médicinales d'Algérie*, 2^{ème} édition Berti, Alger, pp.114–210.
20. Al-Jabr, A.M., 2006. Toxicity and repellency of seven plant essential oils to *Oryzaephilus surinamensis* (Coleoptera: Silvanidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Sci. J. King Faisal Univ. Basic Appl. Sci.* 7, 49–60.
21. Almaši, R., Poslončec, D., 2014. Reproduction of confused flour beetle *Tribolium confusum* Du Val (Coleoptera: Tenebrionidae) on common and spelt wheat and their products. *Pestic. Phytomed. Belgrade* 29, 197–204.
22. AL-Younis, F., Al, Z., Al-Hakim, W., 2015. Chemical composition of *Lavandula angustifolia* Miller and *Rosmarinus officinalis* L. essential oils and fumigant toxicity against larvae of *Ephestia kuehniella* Zeller. *Int. J. Chem.Tech. Res.* 8, 1382–1390.
23. Angelini, D.R., Jockusch, E.L., 2008. Relationships among pest flour beetles of the genus *Tribolium* (Tenebrionidae) inferred from multiple molecular markers. *Mol. Phylogenet. Evol.* 46, 127–141.
24. Anwar, S., Ahmed, N., Al Awwad, N., Ansari, S.Y., Wagih, M.E., 2016. Myrtle (*Myrtus communis* L.) oils. In: Preedy V.R. (ed.). *Essential oils in food preservation, flavor and safety*, Elsevier, United States of America, pp. 581–582.
25. Aoues, K., Boutoumi, hocine, Benrima, A., 2017. Etat phytosanitaire du blé dur local stocké en Algérie. *Rev. Agrobiol.* 7, 286–296.
26. Aprotosoiaie, A.C., Gille, E., Trifan, A., Luca, V.S., Miron, A., 2017. Essential oils of *Lavandula* genus: a systematic review of their chemistry. *Phytochem. Rev.* 16, 761–799.
27. Aprotosoiaie, A.C., Hăncianu, M., Costache, I.-I., Miron, A., 2014. Linalool: a review on a key odorant molecule with valuable biological properties. *Flavour Fragr. J.* 29, 193–219.

28. **Arnaud, L., Lognay, G., Gaspar, C., Haubruge, E., 2000.** La communication chimique chez *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae): connaissances et perspectives. *Integr. Prot. Stored Prod. IOBC Bull.* 23, 195–209.
29. **Arthur, F.H., 1996.** Grain protectants: Current status and prospects for the future. *J. Stored Prod. Res.* 32, 293–302.
30. **Arthur, F.H., 2003.** Efficacy of a volatile formulation of hydroprene (Pointsourcet) to control *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* 39, 205–212.
31. **Arthur, F.H., Fontenot, E.A., Campbell, J.F., 2011.** Evaluation of catmint oil and hydrogenated catmint oil as repellents for the flour beetles, *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum*. *J. Insect Sci. Online* 11 (128), 1-9.
32. **Arthur, F.H., Puterka, G.J., 2002.** Evaluation of kaolinite-based particle films to control *Tribolium* species (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* 38, 341–348.
33. **Athanassiou, C.G., Kavallieratos, N.G., Trematerra, P., 2006.** Responses of *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) to traps baited with pheromones and food volatiles. *EJE* 103, 371–378.
34. **Ayinde, B.A., 2016.** Eucalyptus (*Eucalyptus citriodora* Hook., Myrtaceae) Oils. In: Preedy V.R. (ed.). *Essential oils in food preservation, flavor and safety*, Elsevier, United States of America, p. 413.
35. **Ayvaz, A., Ozturk, F., Yaray, K., Karahasioglu, E., 2002.** Effects of the gamma radiations and malathion on confused flour beetle, *Tribolium confusum* J. du Val. *Pak. J. Biol. Sci.* 5, 560–562.
36. **Baker, T.C., 1989.** Sex pheromone communication in the lepidoptera: New research progress. *Experientia* 45, 248–262.
37. **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M., 2008.** Biological effects of essential oils—A review. *Food Chem. Toxicol.* 46, 446–475.
38. **Balachowsky, A.S., 1962.** *Entomologie appliquée à l'agriculture*, Masson, Paris, pp.392.
39. **Baldassari, N., Prioli, C., Martini, A., Trotta, V., Baronio, P., 2008.** Insecticidal efficacy of a diatomaceous earth formulation against a mixed age population of adults of *Rhyzopertha dominica* and *Tribolium castaneum* as function of different temperature and exposure time. *Bull. Insectology* 61, 355–360.
40. **Becher, P.G., Bengtsson, M., Hansson, B.S., Witzgall, P., 2010.** Flying the fly: Long-range flight behavior of *Drosophila melanogaster* to Attractive Odors. *J. Chem. Ecol.* 36, 599–607.
41. **Bell, C.H., 2000.** Fumigation in the 21st century. *Crop Prot.* 19, 563–569.
42. **Bey-Ould Si Said, Z., Haddadi-Guemghar, H., Boulekbache-Makhlouf, L., Rigou, P., Remini, H., Adjaoud, A., Khoudja, N.K., Madani, K., 2016.** Essential oils composition, antibacterial and antioxidant activities of hydrodistilled extract of *Eucalyptus globulus* fruits. *Ind. Crops Prod.* 89, 167–175.

43. **Bouchonnet, S., 2009.** *La spectrométrie de masse en couplage avec la chromatographie en phase gazeuse*, Tec & Doc, Paris, pp.5-11.
44. **Boukhatem, M.N., Ferhat, M.A., Kameli, A., Mekarnia, M., 2017.** *Eucalyptus globulus* (Labill.): un arbre à essence aux mille vertus. *Phytothérapie* 1-12.
45. **Bounechada, M., Arab, R., 2011.** Effet insecticide des plantes. *Agronomie* (1), 1-6.
46. **Bounoua-Fraoucene, S., Kellouche, A., Debras, J.F., 2019.** Toxicity of four essential oils against two insect pests of stored grains, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) and *Sitophilus oryzae* (Coleoptera: Curculionidae). *Afr. Entomol.* 27, 344–359.
47. **Bourarach, K., Sekkat, M., Lamnaouer, D., 1994.** Activité insecticide de quelques plantes médicinales du Maroc. *Actes Inst. Agron. Vet.* 14, 31–36.
48. **Bousquet, Y., 1990.** *Beetles associated with stored products in Canada: an identification guide*, illustrée, Canada, pp.189.
49. **Breitmaier, E., 2006.** Terpenes, Wiley, Germany, pp.1-19.
50. **Brette, C., 2001.** *Contrôle de la qualité des céréales et des protéagineux: Guide pratique*, 2^{ème} édition Arvalis, Paris, pp. 71.
51. **Brindley, T.A., 1930.** The growth and development of *Ephestia Kuehniella* Zeller (Lepidoptera) and *Tribolium Confusum* Duval (Coleoptera) under controlled conditions of temperature and relative humidity. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 23, 741–757.
52. **Brown, S.J., Shippy, T.D., Miller, S., Bolognesi, R., Beeman, R.W., Lorenzen, M.D., Bucher, G., Wimmer, E.A., Klingler, M., 2009.** The red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Coleoptera): a model for studies of development and pest biology. *Cold Spring Harb. Protoc.* 4, 1–9.
53. **Bruneton, J., 2009.** *Pharmacognosie Phytochimie Plantes médicinales*, 4^{ème} édition Lavoisier, Paris, pp. 570-588.
54. **Buckle, J., 2015.** Basic plant taxonomy, basic essential oil chemistry, extraction, biosynthesis, and analysis. In: Buckle, J. (Ed.), *Clinical Aromatherapy (Third Edition)*, Elsevier, Churchill Livingstone, pp. 37–72.
55. **Buronzo, A.M., 2008.** *Grand guide des huiles essentielles*, Hachette, France, pp. 17.
56. **Caldas, G.F.R., Oliveira, A.R. da S., Araújo, A.V., Lafayette, S.S.L., Albuquerque, G.S., Silva-Neto, J. da C., Costa-Silva, J.H., Ferreira, F., Costa, J.G.M. da, Wanderley, A.G., 2015.** Gastroprotective mechanisms of the monoterpene 1,8-Cineole (Eucalyptol). *Plos One* 10 (8), 1-17.
57. **Calmont, B., Soldati, F., 2008.** Découverte de *Tribolium madens* (Charpentier, 1825) dans le département du Puy-de-Dôme (France) ; clé de détermination et distribution des espèces du genre *Tribolium* en France (Coleoptera, Tenebrionidae). *R.A.R.E., T. XVII* (2), 1–7.

- 58. Campbell, J.F., Toews, M.D., Arthur, F.H., Arbogast, R.T., 2010.** Long-term monitoring of *Tribolium castaneum* in two flour mills: seasonal patterns and impact of fumigation. *J. Econ. Entomol.* 103, 991–1001.
- 59. Caputo, L., Trotta, M., Romaniello, A., De Feo, V., 2018.** Chemical composition and phytotoxic activity of *Rosmarinus officinalis* essential oil. *Nat. Prod. Commun.* 13 (10), 1367-1370.
- 60. Carrasco, A., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V., Tudela, J., 2016.** *Lavandula angustifolia* and *Lavandula latifolia* essential oils from Spain: aromatic profile and bioactivities. *Planta Med.* 82, 163–170.
- 61. Chaddick, P.R., Filce Leek, F., 1972.** Further specimens of stored products insects found in ancient Egyptian tombs. *J. Stored Prod. Res.* 8, 83–86.
- 62. Chafai, E.A., Boukil, A., Bachar, M., Driss, L., Guermal, A., Aafi, A., 2014.** *Manuel des bonnes pratiques de collecte du thym « Thymus satureioides »*, Projet PAM, Rabat, pp.6.
- 63. Chapman, R.N., Baird, L., 1934.** The biotic constants of *Tribolium confusum* Duval. *J. Exp. Zool.* 68, 293–304.
- 64. Chiasson, H., Beloin, N., 2007.** Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre ». *Rev. Litt. "Antennae"* 14, 3–6.
- 65. Chomchalow, N., 2003.** Protection of stored products with special reference to Thailand. *AU J.T.* 7 (1), 31–47.
- 66. Cissokho, P.S., Gueye, M.T., Sow, E.H., Diarra, K., 2015.** Substances inertes et plantes à effet insecticide utilisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des céréales et légumineuses au Sénégal et en Afrique de l’Ouest. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 9, 1644-1653.
- 67. Conti, B., Benelli, G., Flamini, G., Cioni, P.L., Profeti, R., Ceccarini, L., Macchia, M., Canale, A., 2012.** Larvicidal and repellent activity of *Hyptis suaveolens* (Lamiaceae) essential oil against the mosquito *Aedes albopictus* Skuse (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.* 110, 2013–2021.
- 68. Cruz, J.F., Diop, A., 1989.** *Génie agricole et développement: techniques d’entreposage*, FAO, Rome, pp. 1-2.
- 69. Da Porto, C., Decorti, D., 2008.** Analysis of the volatile compounds of flowers and essential oils from *Lavandula angustifolia* cultivated in Northeastern Italy by headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry. *Planta Med.* 74, 182–187.
- 70. Damjanović-Vratnica, B., Đakov, T., Šuković, D., Damjanović, J., 2011.** Antimicrobial effect of essential oil isolated from *Eucalyptus globulus* Labill. from Montenegro. *Czech J. Food Sci.* 29, 277–284.
- 71. Dawson, P.S., 1964.** Age at sexual maturity in female flour beetles, *Tribolium castaneum* and *T. confusum*. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 57, 1–3.
- 72. Dawson, P.S., 1977.** Life history strategy and evolutionary history of *Tribolium* flour beetles. *Evolution* 31, 226–229.

73. De Oliveira, M.S., da Costa, W.A., Pereira, D.S., Botelho, J.R.S., de Alencar Menezes, T.O., de Aguiar Andrade, E.H., da Silva, S.H.M., da Silva Sousa Filho, A.P., de Carvalho, R.N., 2016. Chemical composition and phytotoxic activity of clove (*Syzygium aromaticum*) essential oil obtained with supercritical CO₂. *J. Supercrit. Fluids* 118, 185–193.
74. Deisig, N., Dupuy, F., Anton, S., Renou, M., 2014. Responses to pheromones in a complex odor world: sensory processing and behavior. *Insects* 5, 399–422.
75. Deisig, N., Giurfa, M., Lachnit, H., Sandoz, J.-C., 2006. Neural representation of olfactory mixtures in the honeybee antennal lobe. *Eur. J. Neurosci.* 24, 1161–1174.
76. Delobel, A., Tran, M., 1993. *Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes*, Orstom, Paris, pp. 278-280.
77. Demirel, N., Sener, O., Arslan, M., Uremis, I., Uluc, F.T., Cabuk, F., 2009. Toxicological responses of confused flour beetle, *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrinoidea) to various plant essential oils. *Asian J. Chem.* 21, 6403–6410.
78. Devaud, J.M., Acebes, A., Ferrús, A., 2001. Odor exposure causes central adaptation and morphological changes in selected olfactory glomeruli in *Drosophila*. *J. of Neurosci.* 21, 6274–6282.
79. Dickens, J.C., Billings, R.F., Payne, T.L., 1992. Green leaf volatiles interrupt aggregation pheromone response in bark beetles infesting southern pines. *Experientia* 48, 523–524.
80. Djermoun, A., 2009. La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Rev. Nat. Technol.* (1), 45–53.
81. Drees, B.M., Jackman, J.A., 1998. *A field guide to common Texas insects*, Gulf publishing company, houston, pp. 114.
82. Ebadollahi, A., 2013. Essential oils isolated from Myrtaceae family as natural insecticides. *Annu. Rev. Res. Biol.* 3, 148–175.
83. Ebadollahi, A., Safalizadeh, M.H., Pourmirza, A.A., Nouri-Ganbalani, G., 2010a. Comparison of fumigant toxicity of *Eucalyptus globulus* Labill and *Lavandula stoechas* L. oils against different stages of *Tribolium castaneum* Herbst. *Indian J. Agric. Res.* 44, 26–31.
84. Ebadollahi, A., Safaralizadeh, M., Pourmirza, A., 2010b. Fumigant toxicity of *Lavandula stoechas* L. oil against three insect pests attacking stored products. *J. Plant Prot. Res.* 50, 56–60.
85. Ebadollahi, A., Sendi, J.J., 2015. A review on recent research results on bio-effects of plant essential oils against major coleopteran insect pests. *Toxin Rev.* 34, 76–91.
86. Edde, P.A., Phillips, T.W., 2006. Longevity and pheromone output in stored-product Bostrichidae. *Bull. Entomol. Res.* 96, 547–554.

87. El Hattabi, L., Talbaoui, A., Amzazi, S., Bakri, Y., Harhar, H., Costa, J., Desjobert, J.M., Tabyaoui, M., 2016. Chemical composition and antibacterial activity of three essential oils from south of Morocco. (*Thymus saturooides*, *Thymus vulgaris* and *Chamaelum nobilis*). *J. Mater. Env. Sci.* 7 (9), 3110-3117.
88. El-Sayed, A.M., Suckling, D.M., Byers, J.A., Jang, E.B., Wearing, C.H., 2009. Potential of “Lure and Kill” in long-term pest management and eradication of invasive species. *J. Econ. Entomol.* 102, 815–835.
89. Emekci, M., Navarro, S., Donahaye, E., Rindner, M., Azrieli, A., 2002. Respiration of *Tribolium castaneum* (Herbst) at reduced oxygen concentrations. *J. Stored Prod. Res.* 5, 413–425.
90. Erler, F., 2005. Fumigant activity of six monoterpenoids from aromatic plants in Turkey against the two stored-product pests confused flour beetle, *Tribolium confusum*, and Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. *J. Plant Dis. Prot.* 112, 602–611.
91. Fardisi, M., Mason, L.J., Iteleji, K.E., 2013. Development and fecundity rate of *Tribolium castaneum* (Herbst) on distillers dried grains with solubles. *J. Stored Prod. Res.* 52, 74–77.
92. Faustini, D.L., Burkholder, W.E., Laub, R.J., 1981. Sexually dimorphic setiferous sex patch in the male red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae): Site of aggregation pheromone production. *J. Chem. Ecol.* 7, 465–480.
93. Fedina, T.Y., Lewis, S.M., 2008. An integrative view of sexual selection in *Tribolium* flour beetles. *Biol. Rev.* 83, 151–171.
94. Fleurat-Lessard, F., 1982. Les insectes et les acariens. In: Multon J.L. (ed.). *Conservation et stockage des grains et graines et produits dérivés: céréales, oléagineux, protéagineux, aliments pour animaux*, Tec. & Doc., Paris, pp. 396-417.
95. Flinn, P.W., Hagstrum, D.W., Reed, C.R., Phillips, T.W., 2007. Stored Grain Advisor Pro: Decision support system for insect management in commercial grain elevators. *J. Stored Prod. Res.* 43, 375–383.
96. Gautam, S.G., Opit, G.P., Margosan, D., Hoffmann, D., Tebbets, J.S., Walse, S., 2015. Comparative egg morphology and chorionic ultrastructure of key stored-product insect pests. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 108, 43–56.
97. Gerken, A.R., Scully, E.D., Campbell, J.F., 2018. Red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae) response to volatile cues varies with strain and behavioral assay. *Environ. Entomol.* 47, 1252–1265.
98. Germinara, G.S., Distefano, M.G., De Acutis L, S, P., S, D., De Cristofaro, A., G, R., 2017. Bioactivities of *Lavandula angustifolia* essential oil against the stored grain pest *Sitophilus granarius*. *Bull. Insectol.* 70, 129–138.
99. Goñi, M.G., Roura, S.I., Ponce, A.G., Moreira, M.R., 2016. Clove (*Syzygium aromaticum*) oils. In: Preedy V.R. (ed.). *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, Elsevier, United States of America, pp. 349–350.
100. Good, N.E., 1933. Biology of the flour beetles, *Tribolium confusum* Duv. and *T. ferrugineum* Fab. *J. Agric. Res.* 46, 327–334.

- 101. Good, N.E., 1936.** The flour beetles of the Genus *Tribolium*. *Tech. Bull.* 498, 1–58.
- 102. Govindarajan, M., Benelli, G., 2016.** α -Humulene and β -elemene from *Syzygium zeylanicum* (Myrtaceae) essential oil: highly effective and eco-friendly larvicides against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). *Parasitol. Res.* 115, 2771–2778.
- 103. Grubb, M., Thompson, I., 2004.** The influence of early experience on the development of sensory systems. *Curr. Opin. Neurobiol.* 14, 503–512.
- 104. Gueye, A.C., Diome, T., Thiaw, C., Sembene, M., 2015.** Évolution des paramètres biodémographiques des populations de *Tribolium castaneum* H. (Coleoptera, Tenebrionidae) inféodé dans le mil (*Pennisetum glaucum* Leek) et le maïs (*Zea mays* L.). *J. Appl. Biosci.* 90, 8361–8376.
- 105. Guèye, T.M., Seck, D., Wathelet, J.-P., Lognay, G., 2011.** Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : synthèse bibliographique. *Biotechnol. Agron. Soc. Env.* 15, 183–194.
- 106. Guillén, M.D., Cabo, N., Burillo, J., 1996.** Characterisation of the essential oils of some cultivated aromatic plants of industrial interest. *J. Sci. Food Agric.* 70, 359–363.
- 107. Gurusubramanian, G., Krishna, S.S., 1996.** The effects of exposing eggs of four cotton insect pests to volatiles of *Allium sativum* (Liliaceae). *Bull. Entomol. Res.* 86, 29–31.
- 108. Haider, S.Z., Mohan, M., Pandey, A.K., Singh, P., 2015.** Repellent and fumigant activities of *Tanacetum nubigenum* Wallich. ex DC essential oils against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Oleo Sci.* 64, 895–903.
- 109. Hallman, G.J., 2013.** Control of stored product pests by ionizing radiation. *J. Stored Prod. Res.* 52, 36–41.
- 110. Halstead, D.G.H., 1963.** External sex differences in stored-products Coleoptera. *Bull. Entomol. Res.* 54, 119–134.
- 111. Hamdi, S.H., Hedjal-Chebheb, M., Kellouche, A., Khouja, M.L., Boudabous, A., Ben Jemâa, J.M., 2015.** Management of three pests' population strains from Tunisia and Algeria using Eucalyptus essential oils. *Ind. Crops Prod.* 74, 551–556.
- 112. Haouas, D., Cioni, P.L., Ben Halima-Kamel, M., Flamini, G., Ben Hamouda, M.H., 2012.** Chemical composition and bioactivities of three *Chrysanthemum* essential oils against *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Pest Sci.* 85, 367–379.
- 113. Haouas, D., Luigi, C.P., Ben Halima-Kamel, M., Guido, F., Mohamed-Habib, B.H., 2014.** Chemical constituents and toxicity of essential oils from three Asteraceae plants against *Tribolium confusum*. *Tunis. J. Plant Proy.* 9, 67–82.
- 114. Haron, N.W., Moore, D.M., 1996.** The taxonomic significance of leaf micromorphology in the genus *Eugenia* L. (Myrtaceae). *Bot. J. Linn. Soc.* 120, 265–277.

- 115. Hashemi, S.M., Safavi, S.A., 2013.** Toxicity of essential oil from *Artemisia haussknechtii* (Boiss), to larvae and adults of *Tribolium confusum* (Jacquelin du Val). *Biharean Biol.* 7, 57–60.
- 116. Hedjal-Chehheb, M., Toudert-Taleb, K., Khoudja, M.L., Benabdesselam, R., Mellouk, M., Kellouche, A., 2013.** Essential oils compositions of six conifers and their biological activity against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus* Fabricius, 1775 (Coleoptera: Bruchidae) and *Vigna unguiculata* seeds. *Afr. Entomol.* 21, 243–254.
- 117. Hedjal-Chehheb, M., Kellouche, A., Mohamed, L.K., 2015.** Essential oils composition of four Myrtaceae of Tunisia origin and their biological activity against the cowpea weevil, *Callosobruchus maculatus*, 1775 (Coleoptera: Bruchidae) and *Vigna unguiculata* seeds. *Integr. Prot. Stored Prod.* 111, 321–328.
- 118. Hennia, A., Brada, M., Nemmiche, S., Fauconnier, M.-L., Lognay, G., 2015.** Chemical composition and antibacterial activity of the essential oils of Algerian *Myrtus communis* L. *J. Essent. Oil Res.* 27, 324–328.
- 119. Hernandez, M.D., Sotomayor, J.A., Hernandez, A., Jordan, M.J., 2016.** Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) oils. In: Preedy V.R. (ed.). *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, Elsevier, United States of America, pp. 678.
- 120. Hikal, W.M., Baeshen, R.S., Said-Al Ahl, H.A.H., 2017.** Botanical insecticide as simple extractives for pest control. *Cogent Biol.* 3, 1–16.
- 121. Hill, D.S., 2002.** *Pests of stored foodstuffs and their control*, Springer, Malaysia, pp. 216-217.
- 122. Hinton, H.E., 1942.** Secondary sexual characters of *Tribolium*. *Nature* 149, 500–501.
- 123. Ho, F.K., 1969.** Identification of pupae of six species of *Tribolium* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* 62, 1232–1237.
- 124. Hotier, L., Claudianos, C., Nouvian, M., Giurfa, M., Reinhard, J., 2015.** Appetitive floral odours prevent aggression in honeybees. *Nat. Commun.* 6, 1–10.
- 125. Houghton, P.J., Ren, Y., Howes, M.-J., 2006.** Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Nat. Prod. Rep.* 23, 181-199.
- 126. Howe, R.W., 1956.** The effect of temperature and humidity on the rate of development and mortality of *Tribolium castaneum* (herbst) (coleoptera, Tenebrionidae). *Ann. Appl. Biol.* 44, 356–368.
- 127. Huang, X., Feng, Y., Huang, Y., Li, H., 2013.** Chemical composition, antioxidant and the possible use as skin-care ingredient of clove oil (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry) and citronella oil (*Cymbopogon goeringii*) from China. *J. Essent. Oil Res.* 25, 315–323.
- 128. Huete, A., 2012.** *Huiles essentielles pour tous les jours, le bon réflexe*, Artémis, France, pp.23-26.

- 129. Huignard, J., Lapied, B., Dugravot, S., Magnin-Robert, M., Ketoh, G.-K., 2008.** Modes d'actions neurotoxiques des dérivés soufrés et de certaines huiles essentielles et risques liés à leur utilisation. In: Regnault-Roger et al. (ed.). *Biopesticides d'origine Végétale*, Tec & Doc, Paris, pp. 225.
- 130. Imura, O., 1987.** Demographic attributes of *Tribolium freemani* Hinton: Coleoptera : Tenebrionidae. *Appl. Entomol. Zool.* 22, 449–455.
- 131. Iqbal, Z., Akhtar, M., Qureshi, T.M., Ahhter, J., Ahmad, R., 2011.** Variation in composition and yield of foliage oil of *Eucalyptus polybractea*. *J. Chem. Soc. Pak.* 33, 183–187.
- 132. Isikber, A.A., Alma, M.H., Kanat, M., Karci, A., 2006.** Fumigant toxicity of essential oils from *Laurus nobilis* and *Rosmarinus officinalis* against all life stages of *Tribolium confusum*. *Phytoparasitica* 34, 167–177.
- 133. Işıkber, A.A., Özder, N., Sağlam, Ö., 2009.** Susceptibility of eggs of *Tribolium confusum*, *Ephestia kuehniella* and *Plodia interpunctella* to four essential oil vapors. *Phytoparasitica* 37, 231–239.
- 134. Isman, M.B., 2000.** Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19, 603–608.
- 135. Isman, M.B., 2008.** Problèmes et perspectives de commercialisation des insecticides d'origine botanique. In: Regnault-Roger et al. (ed.). *Biopesticides d'origine Végétale*, Tec & Doc, Paris, pp. 471.
- 136. Kaloustian, J., Hadji-Minaglou, F., 2012.** *La connaissance des huiles essentielles : qualilogie et aromathérapie entre science et tradition pour une application médicale raisonnée*, Springer, Paris, pp.12-47.
- 137. Kara, K., Rached-Kanouni, M., Mnasri, S., Khammar, H., Ben Naceur, M., 2020.** Genetic variability assessment in bread wheat (*Triticum aestivum*) grown in Algeria using microsatellites SSR markers. *Biodiversitas.* 21, 2638-2644.
- 138. Karci, A., Işıkber, A.A., 2007.** Ovicidal activity of various essential oils against confused flour beetle, *Tribolium confusum* Jacquelin duVal (Coleoptera: Tenebrionidae). *Integr. Prot. Stored Prod.* 30, 251–258.
- 139. Kasrati, A., Alaoui Jamali, C., Bekkouche, K., Wohlmuth, H., Leach, D., Abbad, A., 2015.** Comparative evaluation of antioxidant and insecticidal properties of essential oils from five Moroccan aromatic herbs. *J. Food Sci. Technol.* 52, 2312–2319.
- 140. Kellouche, A., Ait-Aider, F., Labdaoui, K., Moula, D., Ouendi, K., Hamadi, N., Ouramdane, A., Frerot, B., Mellouk, M., 2010.** Biological activity of ten essential oils against cowpea beetle, *Callosobruchus maculatus* Fabricius (Coleoptera: Bruchidae). *Int. J. Integr. Biol.* 10, 86–89.
- 141. Kellouche, A., Soltani, N., 2004.** Activité biologique des poudres de cinq plantes et de l'huile essentielle d'une d'entre elles sur *Callosobruchus maculatus* (F.). *Int. J. Trop. Insect Sci.* 24, 184–191.

- 142. Kellouche, A., Soltani, N., 2006.** Impact of hexaflumuron, a chitin synthesis inhibitor, on growth, development and reproductive performance of the progeny in *Callosobruchus maculatus* after adult treatments. *Afr. J. Agric. Res.* 1, 057–064.
- 143. Khani, A., Asghari, J., 2012.** Insecticide activity of essential oils of *Mentha longifolia*, *Pulicaria gnaphalodes* and *Achillea wilhelmsii* against two stored product pests, the flour beetle, *Tribolium castaneum*, and the Cowpea Weevil, *Callosobruchus maculatus*. *J. Insect Sci.* 12, 1–10.
- 144. Khani, A., Basavand, F., 2012.** Chemical composition and insecticidal activity of myrtle (*Myrtus communis* L.) essential oil against two stored product pests. *J. Med. Plants Prod.* 2, 83–89.
- 145. Kheloul, L., Anton, S., Gadenne, C., Kellouche, A., 2020.** Fumigant toxicity of *Lavandula spica* essential oil and linalool on different life stages of *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Asia-Pac. Entomol.* 23, 320–326.
- 146. Koul, O., Walia, S., Dhaliwal, G.S., 2008.** Essential oils as green pesticides: potential and constraints. *Biopesticides International* 4 (1), 63–84.
- 147. Kumar, P., Mishra, S., Malik, A., Satya, S., 2012.** Compositional analysis and insecticidal activity of *Eucalyptus globulus* (family: Myrtaceae) essential oil against housefly (*Musca domestica*). *Acta Trop.* 122, 212–218.
- 148. Kumar, R., 2017.** *Insect pests of stored grain. Biology, behavior, and management strategies*, Apple Academic Press Products, USA, pp. 88-172.
- 149. Lardry, J.-M., Haberkorn, V., 2007.** L’aromathérapie et les huiles essentielles. *Kinesither Rev.* (61), 14–17.
- 150. Lee, B.-H., Annis, P.C., Tumaalii, F., Choi, W.-S., 2004.** Fumigant toxicity of essential oils from the Myrtaceae family and 1,8-cineole against 3 major stored-grain insects. *J. Stored Prod. Res.* 40, 553–564.
- 151. Lee, B.-H., Lee, S.-E., Annis, P.C., Pratt, S.J., Park, B.-S., Tumaalii, F., 2002.** Fumigant toxicity of essential oils and monoterpenes against the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *J. Asia-Pac. Entomol.* 5, 237–240.
- 152. Lee, S., Peterson, C.J., Coats, J.R., 2003.** Fumigation toxicity of monoterpenoids to several stored product insects. *J. Stored Prod. Res.* 39, 77–85.
- 153. Lei, H., Vickers, N., 2008.** Central processing of natural odor mixtures in insects. *J. Chem. Ecol.* 34, 915–927.
- 154. Lewis, S.M., Tigreros, N., Fedina, T., Ming, Q.L., 2012.** Genetic and nutritional effects on male traits and reproductive performance in *Tribolium* flour beetles. *J. Evol. Biol.* 25, 438–451.
- 155. Li, Y., Fabiano-Tixier, A.S., Chemat, F., 2014.** *Essential oils as reagents in green chemistry*, Springer, London, pp.1-14.
- 156. Lienard, V., Seck, D., 1994.** Revue des methodes de lutte contre *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae), ravageur des graines de niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walp) en Afrique tropicale. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 15, 301–311.

157. **Lim, T.K., 2014.** *Edible medicinal and non medicinal plants*, Springer, Dordrecht, pp. 158-463.
158. **Lis, L.B., Bakula, T., Baranowski, M., Czarnewicz, A., 2011.** The carcinogenic effects of benzoquinones produced by the flour beetle. *Pol. J. Vet. Sci.* 14, 159–164.
159. **Lis-Balchin, M., 2002.** History of nomenclature of *Lavandula* species, hybrids and cultivars. In: Lis-Balchin M. (ed.). *Lavender: The Genus Lavandula*, Taylor & Francis, London, pp. 52.
160. **Liška, A., Rozman, V., Brmež, M., Rebekić, A., Lucić, P., 2015.** Fumigant efficacy of 1,8-cineole and eugenol on the pupal stage of *Tribolium Castaneum* (herbst) (insecta: Coleoptera: Tenebrionidae). *Poljoprivreda* 21, 23–29.
161. **Longstaff, B.C., 1994.** The management of stored product pests by non-chemical means: an Australian perspective. *J. Stored Prod. Res.* 30, 179–185.
162. **Lucaccion, F., Denayer, R., Tilquin, B., 1993.** Pour une analyse des huiles essentielles. *Chim. Nouv.* 11, 1253–1257.
163. **Manika, N., Chanotiya, C.S., Negi, M.P.S., Bagchi, G.D., 2013.** Copious shoots as a potential source for the production of essential oil in *Eucalyptus globulus*. *Ind. Crops Prod.* 46, 80–84.
164. **Marques, M.O.M., Facanali, R., Haber, L.L., Vieira, M.A.R., 2012.** Essential oils: History, Biosynthesis, and Agronomic Aspects. In: De Soussa D.P. (ed.). *Medicinal essential oils Chemical, Pharmacological and Therapeutic Aspect*, Nova Science Publishers, New York, pp. 7–8.
165. **Marriott, P.J., Shellie, R., Cornwell, C., 2001.** Gas chromatographic technologies for the analysis of essential oils. *J. Chromatogr. A.* 936, 1–22.
166. **Mc Gregor, H.E., Kramer, K.J., 1975.** Activity of insect growth regulators, hydroprene and methoprene, on wheat and corn against several stored grain insects. *J. Econ. Entomol.* 68, 668–670.
167. **Minoli, S., Kauer, I., Colson, V., Party, V., Renou, M., Anderson, P., Gadenne, C., Marion-Poll, F., Anton, S., Coleman, M.J., 2012.** Brief exposure to sensory cues elicits stimulus-nonspecific general sensitization in an insect. *Plos One* 7, 1-11.
168. **Mohamed, A., Olfa, B., JemÅça, J.M.B., Hamdi, S.H., Manef, A., 2018.** Comparative insecticidal activity of *Mentha pulegium* L. and *Thymus Capitatus* Hoff. Et Link. essential oils against the red flour beetle: *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera, Tenebrionidae). *J. Chem. Pharm. Res.* 10, 32–39.
169. **Mohapatra, D., Kar, A., Giri, S.K., 2015.** Insect pest management in stored pulses: an overview. *Food Bioprocess Technol.* 8, 239–265.
170. **Mondal, M., Khalequzzaman, M., 2006.** Toxicity of essential oils against red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Bio-Sci.* 14, 43–48.
171. **Mondal, M., Khalequzzaman, M., 2009.** Ovicidal activity of essential oils against red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Bio-Sci.* 17, 57–62.

172. **Mueller, L.D., Joshi, A., 2000.** *Stability in model populations*, Princeton University Press, United kingdom, pp.134.
173. **Muñoz-Bertomeu, J., Arrillaga, I., Segura, J., 2007.** Essential oil variation within and among natural populations of *Lavandula latifolia* and its relation to their ecological areas. *Biochem. Syst. Ecol.* 35, 479–488.
174. **Nattudurai, G., Paulraj, M.G., Ignacimuthu, S., 2012.** Fumigant toxicity of volatile synthetic compounds and natural oils against red flour beetle *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. King Saud Univ. Sci.* 24, 153–159.
175. **Ndomo, A.F., Tapondjou, A.L., Tendonkeng, F., Tchouanguép, F.M., 2009.** Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae). *Tropicultura* 27, 137–143.
176. **Nerio, L.S., Olivero-Verbel, J., Stashenko, E., 2010.** Repellent activity of essential oils: a review. *Bioresour. Technol.* 101, 372–378.
177. **Ngamo, L.S.T., Hance, T., 2007.** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura* 25, 215–220.
178. **Ngamo, T.S.L., Ngassoum, M.B., Mapongmestsem, P.M., Noudjou, W.F., Malaisse, F., Haubruge, E., Lognay, G., Kouninki, H., Hance, T., 2007.** Use of essential oils of aromatic plants as protectant of grains during storage. *Agric. J.* 2, 204–209.
179. **Nouvian, M., Mandal, S., Jamme, C., Claudianos, C., d’Ettorre, P., Reinhard, J., Barron, A.B., Giurfa, M., 2018.** Cooperative defence operates by social modulation of biogenic amine levels in the honey bee brain. *Proc. Biol. Sci.* 285, 1–9.
180. **Nowaczyk, K., Obrepalska-Stepłowska, A., Gawlak, M., Throne, J.E., Olejarski, P., Nawrot, J., 2009.** Molecular techniques for detection of *Tribolium confusum* infestations in stored products. *J. Econ. Entomol.* 102, 1691–1695.
181. **Olsson, P.O.C., Ryne, C., Wallén, R., Anderbrant, O., Löfstedt, C., 2006.** Male-produced sex pheromone in *Tribolium confusum*: Behaviour and investigation of pheromone production locations. *J. Stored Prod. Res.* 42, 173–182.
182. **Ozkaya, H., Ozkaya, B., Colakoglu, A.S., 2009.** Technological properties of a variety of soft and hard bread wheat infested by *Rhyzopertha dominica* (F.) and *Tribolium confusum* du Val. *J. Food Agric. Environ.* 7, 166–172.
183. **Pandir, D., Baş, H., 2016.** Compositional analysis and toxicity of four plant essential oils to different stages of mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Türkiye Entomoloji Derg.* 40, 185–195.
184. **Pantenius, C.U., 1988.** Storage losses in traditional maize granaries in Togo. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 9, 725–735.
185. **Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C., 2002.** Toxicity of vapours of three essential oils to the immature stages of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stored Prod. Res.* 38, 365–373.

- 186. Park, T., Frank, M.B., 1948.** The fecundity and development of the flour beetles, *Tribolium confusum* and *Tribolium castaneum*, at three constant temperatures. *Ecology* 29, 368–374.
- 187. Peana, A.T., D’Aquila, P.S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., Moretti, M.D.L., 2002.** Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine* 9, 721–726.
- 188. Pettersson, J., 1970.** An aphid sex attractant. *Insect Syst. Evol.* 1, 63–73.
- 189. Pimentel, M.A.G., Faroni, L.R.D., Batista, M.D., Silva, F.H. da, 2008.** Resistance of stored-product insects to phosphine. *Pesqui. Agropecuária Bras.* 43, 1671–1676.
- 190. Pino, J.A., Marbot, R., Agüero, J., Fuentes, V., 2001.** Essential oil from buds and leaves of clove (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr. et Perry) grown in Cuba. *J. Essent. Oil Res.* 13, 278–279.
- 191. Pires, E.M., Nogueira, R.M., Faroni, L.R.D., Soares, M.A., Oliveira, M.A., 2019.** Biological and reproductive parameters of *Tribolium castaneum* in Brazil nut. *Fla. Entomol.* 102, 76.
- 192. Porte, A., Godoy, R.L.O., Lopes, D., Koketsu, M., Gonçalves, S.L., Torquillo, H.S., 2000.** Essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary) from Rio de Janeiro, Brazil. *J. Essent. Oil Res.* 12, 577–580.
- 193. Price, S., Price, L., 2007.** *Aromatherapy for health professionals*, 3^{ème} édition Elsevier, Churchill livingstone, pp.27-28.
- 194. Pugazhvendan, S.R., Ross, P.R., Elumalai, K., 2012.** Insecticidal and repellent activities of plants oil against stored grain pest, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Asian Pac. J. Trop. Dis.* 2, 412–415.
- 195. Rafter, M.A., Muralitharan, V., Chandrasekaran, S., Mohankumar, S., Daghish, G.J., Loganathan, M., Walter, G.H., 2019.** Behaviour in the presence of resource excess flight of *Tribolium castaneum* around heavily infested grain storage facilities. *J. Pest Sci.* 92, 1227–1238.
- 196. Raja, R.R., 2012.** Medicinally potential plants of Labiatae (Lamiaceae) family: An overview. *Res. J. Med. Plant* 6, 203–213.
- 197. Razafimamonjison, G., Jahiel, M., Duclos, T., Ramanoelina, P., Fawbush, F., Danthu, P., 2014.** Bud, leaf and stem essential oil composition of *Syzygium aromaticum* from Madagascar, Indonesia and Zanzibar. *Int. J. Basic Appl. Sci.* 3, 224–233.
- 198. Rees, D., 2004.** *Insects of stored products*, Manson, London, pp. 93-119.
- 199. Regnault-Roger, C., 1997.** The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integr. Pest Manag. Rev.* 2, 25–34.
- 200. Regnault-Roger, C., 2008.** Recherche de nouveaux biopesticides d’origine végétale à caractère insecticide: démarche méthodologique et application aux plantes aromatiques méditerranéennes. In: Regnault-Roger et al. (ed.). *Biopesticides d’origine Végétale*, Tec & Doc, Paris, pp. 38–39.

- 201. Regnault-Roger, C., 2011.** Biocontrôle des Bruchinae par les substances végétales: méthodologies et application. In: Huignard et al. (ed.). *Insectes ravageurs des graines de légumineuses Biologie des Bruchinae et lutte raisonnée en Afrique*, Quae, Versailles, pp. 94.
- 202. Regnault-Roger, C., 2013.** Essential oils in insect control. In: Ramawat et Mérillon (ed.). *Natural products phytochemistry, botany and metabolism of alkaloids, phenolics and terpenes*, Springer, Berlin Heidelberg, pp. 4096–4097.
- 203. 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.). *J. Stored Prod. Res.* 31, 291–299.
- 204. Regnault-Roger, C., Vincent, C., Arnason, J.T., 2012.** Essential oils in insect control: low-risk products in a high-stakes world. *Annu. Rev. Entomol.* 57, 405–424.
- 205. Rice, W.C., Cogburn, R.R., 1999.** Activity of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Deuteromycota: Hyphomycetes) against three coleopteran pests of stored grain. *J. Econ. Entomol.* 92, 691–694.
- 206. Righi, F., Righi, K., Boungab, K., Mokabli, A., 2019.** Étude de l’infestation des céréales par les nématodes à kyste « *Heterodera* spp. » et distribution des espèces en cause dans l’Ouest de l’Algérie. *Cah. Agric.* 28, 1-10.
- 207. Ríos, J.-L., 2016.** Essential oils: What they are and how the terms are used and defined. In: Preedy V.R. (ed.). *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*, Elsevier, United States of America, pp. 3.
- 208. Robinson, W.H., 2005.** *Urban insects and arachnids: A handbook of urban entomology*, Cambridge University Press, UK, pp.127-128.
- 209. Rossi, N., d’Ettorre, P., Giurfa, M., 2018.** Pheromones modulate responsiveness to a noxious stimulus in honey bees. *J. Exp. Biol.* 221, 1-10.
- 210. Rozman, V., Kalinovic, I., Korunic, Z., 2007.** Toxicity of naturally occurring compounds of Lamiaceae and Lauraceae to three stored-product insects. *J. Stored Prod. Res.* 43, 349–355.
- 211. Ryan, M.F., O’Ceallachain, D.P., 1976.** Aggregation and sex pheromones in the beetle *Tribolium confusum*. *J. Insect Physiol.* 22, 1501–1503.
- 212. Sabbour, M.M., Abd El- Aziz, S.E., 2015.** Efficacy of nano-diatomaceous earth against red flour beetle, *Tribolium castaneum* and confused flour beetle, *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae) under laboratory and storage conditions. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci.* 4, 54–59.
- 213. Saeidi, M., Moharramipour, S., 2013.** Insecticidal and repellent activities of *Artemisia khorassanica*, *Rosmarinus officinalis* and *Mentha longifolia* essential oils on *Tribolium confusum*. *J. Crop Prot.* 2, 23–31.
- 214. Sagheer, M., Mansoor-ul-Hasan, Najam-ul-Hassan, M., Farhan, M., Khan, F.Z.A., Rahman, A., 2014.** Repellent effects of selected medicinal plant extracts against rust-red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera:Tenebrionidae). *J. Entomol. Zool. Stud.* 2, 107–110.

- 215. Sağlam, Ö., Özder, N., 2013.** Fumigant toxicity of monoterpenoid compounds against the confused flour beetle, *Tribolium confusum* Jacquelin du Val. (Coleoptera: Tenebrionidae). *Türk. Entomol. Derg.* 37, 457–466.
- 216. Salido, S., Altarejos, J., Nogueras, M., Sánchez, A., Luque, P., 2004.** Chemical composition and seasonal variations of spike lavender oil from Southern Spain. *J. Essent. Oil Res.* 16, 206–210.
- 217. Santana, O., Andrés, M.F., Sanz, J., Errahmani, N., Abdeslam, L., González-Coloma, A., 2014.** Valorization of essential oils from Moroccan aromatic plants. *Nat. Prod. Commun.* 9, 1109–1114.
- 218. Saroukolai, A.T., Moharramipour, S., Meshkatsadat, M.H., 2010.** Insecticidal properties of *Thymus persicus* essential oil against *Tribolium castaneum* and *Sitophilus oryzae*. *J. Pest Sci.* 83, 3–8.
- 219. Sendi, J.J., Ebadollahi, A., 2013.** Biological activities of essential oils on insects. In: Govil et Bhattacharya (ed.). *Recent progress in medicinal plants(RPMP): Essential Oils–II*, Studium Press LLC, USA, pp. 129–150.
- 220. Sener, O., Arslan, M., Demirel, N., Uremis, I., 2009.** Insecticidal effects of some essential oils against the confused flour beetle (*Tribolium confusum* du Val) (Col.: Tenebrionoidea) in stored wheat. *Asian J. Chem.* 21, 3995–4000.
- 221. Senfi, F., Safaralizadeh, M.H., Safavi, S.A., Aramideh, S., 2014.** Fumigant toxicity of *Laurus nobilis* and *Myrtus communis* essential oils on larvae and adults of the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst (Col.: Tenebrionidae). *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* 47, 472–476.
- 222. Shaaya, E., Kostjukovski, M., Eilberg, J., Sukprakarn, C., 1997.** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *J. Stored Prod. Res.* 33, 7–15.
- 223. Shaaya, E., Kostyukovysky, M., 2006.** Essential oils: potency against stored product insects and mode of action. *Stewart Postharvest Rev.* 2, 1–6.
- 224. Shaaya, E., Ravid, U., Paster, N., Juven, B., Zisman, U., Pissarev, V., 1991.** Fumigant toxicity of essential oils against four major stored-product insects. *J. Chem. Ecol.* 17, 499–504.
- 225. Shanholtzer, S., Lumsden, A.S., 2012.** Using flour beetles (*Tribolium confusum*) in population growth studies. *Test. Stud. Lab. Teach.* 33, 195–207.
- 226. Shukla, J.N., Palli, S.R., 2012.** Sex determination in beetles: Production of all male progeny by Parental RNAi knockdown of transformer. *Sci. Rep.* 2, 1–9.
- 227. Singh, D.S., Prakash, S., 2015.** Effect of temperature and humidity on the culture of *Tribolium castaneum*, Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) in the laboratory. *Int. J. Sci. Res. Publ.* 5, 1–6.
- 228. Smith, L.B., Barker, P.S., 1991.** Effect of temperature on the development, oviposition, and mortality of *Tribolium audax* Halstead and *Tribolium madens* (Charpentier) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Can. J. Zool.* 69, 1189–1193.

- 229. Sohilaït, H.J., 2015.** Chemical composition of the essential oils in *Eugenia caryophyllata*, Thunb from Amboina Island. *Sci. J. Chem.* 3, 95–99.
- 230. Sokoloff, A., Albers, J.C., Cavataio, P., Mankau, S., Mckibben, S., Mills, S., Perkins, R., Roberts, R., Sandri, J.J., 1980.** Observations on populations of *Tribolium Brevicornis* (Le contre) (Coleoptera, Tenebrionidae). I. Laboratory observations of domesticated strains. *Res. Popul. Ecol.* 22, 1–12.
- 231. Sokoloff, A., Lerner, I.M., 1967.** Laboratory ecology and mutual predation of *Tribolium* Species. *Am. Nat.* 101, 261–276.
- 232. Soldati, F., Soldati, L., 2003.** Réactualisation de la liste systématique des Coléoptères Tenebrionidae (Alleculinae exclus) de France continentale et de Corse. *Bull. Mens. Soc. Linn. Lyon* 72, 331–349.
- 233. Soliman, M.H., 1987.** Ageing and parental age effects in *Tribolium* (Review). *Arch. Gerontol. Geriatr.* 6, 43–60.
- 234. Spratt, E.C., 1980.** Male homosexual behaviour and other factors influencing adult longevity in *Tribolium castaneum* (Herbst) and *T. confusum* Duval. *J. Stored Prod. Res.* 16, 109–114.
- 235. Sreeramoju, P., Prasad, M.S.K., Lakshmiipathi, V., 2016.** Complete study of life cycle of *Tribolium Castaneum* and its weight variations in the developing stages. *Int. J. Plant Anim. Environ. Sci.* 6, 95–100.
- 236. Srinivasan, K., Pugazhendy, K., Rathika, R., 2014.** Repellency of three extract of three indigenous plants against adults of *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera:Tenebrionidae). *Int. J. Curr. Res. Dev.* 2, 98–104.
- 237. Stamopoulos, D.C., Damos, P., Karagianidou, G., 2007.** Bioactivity of five monoterpenoid vapours to *Tribolium confusum* (du Val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* 43, 571–577.
- 238. Stanley, M.S.M., Grundmann, A.W., 1965.** Observations on the morphology and sexual behavior of *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Kans. Entomol. Soc.* 38, 10–18.
- 239. Suzuki, T., 1980.** 4,8-Dimethyldecanal: the aggregation pheromone of the flour beetles, *Tribolium castaneum* and *T. confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Agric. Biol. Chem.* 44, 2519–2520.
- 240. Suzuki, T., 1981.** Identification of the aggregation pheromone of flour beetles *Tribolium castaneum* and *T. confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Agric. Biol. Chem.* 45, 1357–1363.
- 241. Suzuki, T., Sugawara, R. Tsukuba U., 1979.** Isolation of an aggregation pheromone from the flour beetles, *Tribolium cataneum* and *T. confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Appl. Entomol. Zool.* 14, 228-230.
- 242. Szendrei, Z., Rodriguez-Saona, C., 2010.** A meta-analysis of insect pest behavioral manipulation with plant volatiles. *Entomol. Exp. Appl.* 134, 201–210.

- 243. Tandon, S., Mittal, A.K., Pant, A.K., 2008.** Insect growth regulatory activity of *Vitex trifolia* and *Vitex agnus-castus* essential oils against *Spilosoma obliqua*. *Fitoterapia* 79, 283–286.
- 244. Tefera, T., Kanampiu, F., De Groote, H., Hellin, J., Mugo, S., Kimenju, S., Beyene, Y., Boddupalli, P.M., Shiferaw, B., Banziger, M., 2011.** The metal silo: An effective grain storage technology for reducing post-harvest insect and pathogen losses in maize while improving smallholder farmers' food security in developing countries. *Crop Prot.* 30, 240–245.
- 245. Theou, G., Papachristos, D.P., Stamopoulos, D.C., 2013.** Fumigant toxicity of six essential oils to the immature stages and adults of *Tribolium confusum*. *Hell. Plant Prot. J.* 6, 29–39.
- 246. Thoma, M., Hansson, B.S., Knaden, M., 2014.** Compound valence is conserved in binary odor mixtures in *Drosophila melanogaster*. *J. Exp. Biol.* 217, 3645–3655.
- 247. Timothy, D., 2009.** Effects of crowding on the loss in weight of sorghum flour and on the survival and development of adult confused flour beetle, *Tribolium Confusum* in sorghum flour. *New York Sci. J.* 2(7), 56-61.
- 248. Toudert-Taleb, K., Hedjal-Chebheb, M., Hami, H., Debras, J.-F., Kellouche, A., 2014.** Composition of essential oils extracted from six aromatic plants of kabylian origin (Algeria) and evaluation of their bioactivity on *Callosobruchus maculatus* (Fabricius, 1775) (Coleoptera: Bruchidae). *Afr. Entomol.* 22, 417–427.
- 249. Trematerra, P., Stejskal, V., Hubert, J., 2011.** The monitoring of semolina contamination by insect fragments using the light filth method in an Italian mill. *Food Control* 22, 1021–1026.
- 250. Tripathi, A.K., Prajapati, V., Aggarwal, K.K., Khanuja, S.P.S., Kumar, S., 2000.** Repellency and toxicity of oil from *Artemisia annua* to certain stored-product beetles. *J. Econ. Entomol.* 93, 43–47.
- 251. Tripathi, A.K., Prajapati, V., Aggarwal, K.K., Kumar, S., 2001.** Toxicity, feeding deterrence, and effect of activity of 1,8-cineole from *Artemisia annua* on progeny production of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Econ. Entomol.* 94, 979–983.
- 252. Tunç, I., Berger, B.M., Erler, F., Dağlı, F., 2000.** Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. *J. Stored Prod. Res.* 36, 161–168.
- 253. Tunçbilek, A.Ş., Ayvaz, A., Öztürk, F., Kaplan, B., 2003.** Gamma radiation sensitivity of larvae and adults of the red flour beetle, *Tribolium castaneum* Herbst. *J. Pest Sci.* 76, 129–132.
- 254. Upadhyay, R.K., Ahmad, S., 2011.** Management strategies for control of stored grain insect pests in farmer stores and public ware houses. *World J. Agric. Sci.* 7, 527–549.
- 255. Upson, T., 2002.** The taxonomy of the genus *Lavandula* L. In: Lis-Balchin M. (ed.). *Lavender : The Genus Lavandula*, Taylor & Francis, London, pp. 12–13.

256. Verheggen, F., Ryne, C., Olsson, P.O.C., Arnaud, L., Lognay, G., Högberg, H.E., Persson, D., Haubruge, E., Lofstedt, C., 2007. Electrophysiological and behavioral activity of secondary metabolites in the confused flour beetle, *Tribolium confusum*. *J. Chem. Ecol.* 33, 525–539.
257. Vilela, G.R., De Almeida, G.S., D’Arce, M.A.B.R., Moraes, M.H.D., Brito, J.O., Da Silva, M.F. Das G.F., Silva, S.C., De Stefano Piedade, S.M., Calori-Domingues, M.A., Da Gloria, E.M., 2009. Activity of essential oil and its major compound 1,8-cineole, from *Eucalyptus globulus* Labill., against the storage fungi *Aspergillus flavus* Link and *Aspergillus parasiticus* Speare. *J. Stored Prod. Res.* 45, 108–111.
258. Vintilă, L., 2018. Basic structure, nomenclature, classification and properties of organic compounds of essential oil. In: Hashemi et al. (ed.). *Essential oils in food processing: chemistry, safety and applications, First edition*, Wiley, UK, pp. 183–187.
259. Viturro, C.I., Molina, A.C., Heit, C.I., 2003. Volatile Components of *Eucalyptus globulus* Labill ssp. *bicostata* from Jujuy, Argentina. *J. Essent. Oil Res.* 15, 206–208.
260. Wang, J., Zhu, F., Zhou, X.M., Niu, C.Y., Lei, C.L., 2006. Repellent and fumigant activity of essential oil from *Artemisia vulgaris* to *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Stored Prod. Res.* 42, 339–347.
261. Waongo, A., Yamkoulga, M., Dabire-Binso, C.L., Ba, M.N., Sanon, A., 2013. Conservation post-récolte des céréales en zone sud-soudanienne du Burkina Faso : Perception paysanne et évaluation des stocks. *Int. J. Biol. Chem. Sci.* 7, 1157-1167.
262. Watt, J.C., 1974. A revised subfamily classification of Tenebrionidae (Coleoptera). *N. Z. J. Zool.* 1, 381–452.
263. Watt, J.C., 1992. Tenebrionidae (Insecta: Coleoptera): catalogue of types and keys to taxa. *Fauna N. Z.* 26, 1–70.
264. Weidenhamer, J.D., Macias, F.A., Fischer, N.H., Williamson, G.B., 1993. Just how insoluble are monoterpenes? *J. Chem. Ecol.* 19, 1799–1807.
265. White, N.D.G., Demianyk, C.J., 1996. Deterioration in stored wheat infested with *Tribolium audax* or *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Environ. Entomol.* 25, 1109–1112.
266. Wilson, P.G., O’Brien, M.M., Gadek, P.A., Quinn, C.J., 2001. Myrtaceae revisited: a reassessment of infrafamilial groups. *Am. J. Bot.* 88, 2013–2025.
267. Wojcik, D.P., 1969. Mating behavior of 8 stored-product beetles (Coleoptera: Dermestidae, Tenebrionidae, Cucujidae, and Curculionidae). *Fla. Entomol.* 52, 171–197.
268. Yadav, N., Yadav, R., Goyal, A., 2014. Chemistry of terpenoids. *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.* 27, 272–278.
269. Zhang, Q.-H., Schlyter, F., 2010. Inhibition of predator attraction to kairomones by non-host plant volatiles for herbivores: A bypass-trophic signal. *Plos One.* 5, 1-9.
270. Zhang, Q.-H., Schlyter, F., Anderson, P., 1999. Green leaf volatiles interrupt pheromone response of spruce bark beetle, *Ips typographus*. *J. Chem. Ecol.* 25, 2847–2861.

- 271. Ziaee, M., Moharramipour, S., Mohsenifar, A., 2014.** Toxicity of *Carum copticum* essential oil-loaded nanogel against *Sitophilus granarius* and *Tribolium confusum*. *J. Appl. Entomol.* 138, 763–771.
- 272. Ziegler, J.R., 1976.** Evolution of the migration response: emigration by *Tribolium* and the influence of age. *Evolution* 30, 579–592.
- 273. Zilkah, S., Goldschmidt, E.E., 2014.** Myrtle (*Myrtus communis* L.)– A native mediterranean and cultured crop species. In: Yaniv et Dudai (ed.). *Medicinal and aromatic plants of the Middle-East*, Springer, Dordrecht, pp. 255.

Annexes

Tableau 1. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose des traitements testés par fumigation à l'égard des œufs de *T. confusum*

Doses	Moyennes	Groupes homogènes				
500 µl/L	55,049	A				
250 µl/L	48,571		B			
125 µl/L	27,021			C		
62,5 µl/L	22,642				D	
0 µl/L	7,781					E

Tableau 2. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition aux traitements testés par fumigation à l'égard des œufs de *T. confusum*

Temps	Moyennes	Groupes homogènes			
96h	40,383	A			
72h	32,229		B		
48h	29,58			C	
24h	26,659				D

Tableau 3. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose des traitements testés par fumigation sur le taux de survie post-embryonnaire des œufs de *T. confusum*

Doses	Moyennes	Groupes homogènes				
0 µl/L	88,938	A				
62,5 µl/L	64,656		B			
125 µl/L	60,156			C		
250 µl/L	36,938				D	
500 µl/L	31,281					E

Tableau 4. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition aux traitements testés par fumigation sur le taux de survie post-embryonnaire des œufs de *T. confusum*

Temps	Moyennes	Groupes homogènes			
24h	63,15	A			
48h	59,775		B		
72h	56,325			C	
96h	46,325				D

Tableau 5. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose des traitements testés par fumigation à l'égard des jeunes larves de *T. confusum*

Doses	Moyennes	Groupes homogènes				
62,5 µl/L	94,594	A				
31,25 µl/L	82,906		B			
15,63 µl/L	72,719			C		
7,81 µl/L	63,531				D	
0 µl/L	0					E

Tableau 6. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition aux traitements testés par fumigation à l'égard des jeunes larves de *T. confusum*

Temps	Moyennes	Groupes homogènes			
96h	72,125	A			
72h	69,9		B		
48h	63,225			C	
24h	45,75				D

Tableau 7. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose des traitements testés par fumigation sur le taux d'émergence des adultes de *T. confusum* à partir des jeunes larves

Doses	Moyennes	Groupes homogènes				
0 µl/L	94,906	A				
7,81 µl/L	26,594		B			
15,63 µl/L	19,156			C		
31,25 µl/L	11,25				D	
62,5 µl/L	2,281					E

Tableau 8. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition aux traitements testés par fumigation sur le taux d'émergence des adultes de *T. confusum* à partir des jeunes larves

Temps	Moyennes	Groupes homogènes		
24h	39,525	A		
48h	30,25		B	
72h	27,4			C
96h	26,175			C

Tableau 9. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose des traitements testés par fumigation à l'égard des larves âgées de *T. confusum*

Doses	Moyennes	Groupes homogènes		
500 µl/L	46,031	A		
250 µl/L	40,281		B	
125 µl/L	0,875			C
62,5 µl/L	0,125			C
0 µl/L	0			C

Tableau 10. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition aux traitements testés par fumigation à l'égard des larves âgées de *T. confusum*

Temps	Moyennes	Groupes homogènes			
96h	19,325	A			
72h	18,325		B		
48h	16,825			C	
24h	15,375				D

Tableau 11. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose des traitements testés par fumigation sur le taux d'émergence des adultes de *T. confusum* à partir des larves âgées

Doses	Moyennes	Groupes homogènes				
0 µl/L	99,688	A				
62,5 µl/L	97,938		B			
125 µl/L	96,813			C		
250 µl/L	57,281				D	
500 µl/L	50,781					E

Tableau 12. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition aux traitements testés par fumigation sur le taux d'émergence des adultes de *T. confusum* à partir des larves âgées

Temps	Moyennes	Groupes homogènes			
24h	82,875	A			
48h	81,775		B		
72h	79,7			C	
96h	77,65				D

Tableau 13. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose des traitements testés par fumigation à l'égard des nymphes de *T. confusum*

Doses	Moyennes	Groupes homogènes				
500 µl/L	70,438	A				
250 µl/L	57,969		B			
125 µl/L	7,938			C		
62,5 µl/L	1,563				D	
0 µl/L	0					E

Tableau 14. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition aux traitements testés par fumigation à l'égard des nymphes de *T. confusum*

Temps	Moyennes	Groupes homogènes			
96h	34,425	A			
72h	30,25		B		
48h	24,8			C	
24h	20,85				D

Tableau 15. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose des traitements testés par fumigation sur le taux d'émergence des adultes de *T. confusum* à partir des nymphes

Doses	Moyennes	Groupes homogènes				
0 µl/L	99,938	A				
62,5 µl/L	92,313		B			
125 µl/L	74,375			C		
250 µl/L	27,344				D	
500 µl/L	21,031					E

Tableau 16. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition aux traitements testés par fumigation sur le taux d'émergence des adultes de *T. confusum* à partir des nymphes

Temps	Moyennes	Groupes homogènes			
24h	73,25	A			
48h	67,075		B		
72h	58,825			C	
96h	52,85				D

Tableau 17. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur dose des traitements testés par fumigation à l'égard des adultes de *T. confusum*

Doses	Moyennes	Groupes homogènes			
500 µl/L	66,594	A			
250 µl/L	62,656		B		
125 µl/L	7,844			C	
62,5 µl/L	0,563				D
0 µl/L	0				D

Tableau 18. Résultats du test de Newman et Keuls pour le facteur temps d'exposition aux traitements testés par fumigation à l'égard des adultes de *T. confusum*

Temps	Moyennes	Groupes homogènes	
T4	28,8	A	
T3	28,525	A	
T2	28,275	A	
T1	24,525		B

Publications



Full length article

Fumigant toxicity of *Lavandula spica* essential oil and linalool on different life stages of *Tribolium confusum* (Coleoptera: Tenebrionidae)Lynda Kheloul^a, Sylvia Anton^{b,*}, Christophe Gadenne^b, Abdellah Kellouche^a^a Laboratoire de production, sauvegarde des espèces menacées et des récoltes. Influence des variations climatiques. Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou 15000, Algeria^b UMR IGEPP INRAE/Agrocampus Ouest/Université Rennes 1, Agrocampus Ouest, 49054 Angers cedex 01, France

ARTICLE INFO

Keywords:

Tribolium confusum
Lavandula spica
 Essential oil
 Linalool
 Fumigation
 Toxicity

ABSTRACT

The confused flour beetle, *Tribolium confusum*, is a common and severe pest of stored products. Here, using fumigation tests during four different exposure times, we evaluated the toxicity of different doses of essential oil of spike lavender, *Lavandula spica* and one of its major constituents, linalool, on different life stages of *T. confusum* under laboratory conditions. The toxicity of the *L. spica* oil and linalool varied as a function of the developmental stage and treatment duration. Young larvae (L1) were the most susceptible to toxic effects, with $LC_{50} = 19.535 \mu\text{L/L}$ of air for *L. spica* oil and $LC_{50} = 14.198 \mu\text{L/L}$ of air for linalool after 24 h of exposure, whereas older larvae (L8) were affected only very little by fumigation. Linalool caused higher egg mortality than *L. spica* oil at equivalent doses, but lower mortality in pupae and adults. Emergence of intact adult insects from surviving eggs, larvae and pupae was further reduced as a function of dose and exposure time to both *L. spica* oil and linalool compared to control-treated insects. Our results show that *L. spica* oil and linalool might be suitable for biological control of *T. confusum*, but tests at a larger scale are necessary to confirm our results.

Introduction

Insect pests are the main cause of post-harvest losses because they depreciate food in storage and are able to destroy a whole stock in a very short period of time (Ngamo and Hance, 2007). In traditional maize storage systems in Togo, for example, insects accounted for 80–90% of losses (Pantenius, 1988). Among pests of stored products, *Tribolium confusum* (du Val) is one of the major insect pests of cereals and derivatives, infesting particularly mills, silos and other storage facilities. This beetle causes considerable damage both at the larval and adult stages by feeding on and contaminating food with their faeces, exuviae, dead insects and the strong noxious odour they produce (Timothy, 2009), leading to a serious loss of market value (Trematerra et al., 2011).

The techniques used currently to control stored-product pests rely largely on the use of synthetic insecticides, such as phosphine and sulfuryl fluoride applied by fumigation (Arthur, 1996; Campbell et al., 2010; Lienard and Seck, 1994). However, chemical control causes numerous problems such as toxicity for vertebrates including humans, environmental pollution, high costs and the development of insect resistance (Arthur, 1996; Gueye et al., 2011). The resistance of insects to synthetic pesticides is one of the main problems of frequent application

of these products. In Brazil, for example, populations of *Tribolium castaneum* (Herbst) have shown a high degree of tolerance to phosphine, explained by the ability of these insects to reduce their breathing rate (Pimentel et al., 2008). Because of the development of resistances and efforts to reduce environmental pollution, there is an urgent need to find natural and sound alternative protection strategies to reduce the application of synthetic insecticides. Plant essential oils are among the most promising alternatives to chemical insecticides. Essential oils are complex natural mixtures of volatile organic compounds produced as secondary metabolites in plants, which are constituted by terpenes, terpenoids and phenol-derived aromatic components and aliphatic components (Bakkali et al., 2008). They have been reported to have toxic, repellent, antifeedant, antibacterial, antifungal, reproduction and growth inhibitory effects against insect pests (Regnault-Roger et al., 2012; Ebadollahi and Jalali Sendi, 2015; Tu et al., 2018; Hu et al., 2019). In most cases, active compounds of essential oils have low toxicity for vertebrates and short environmental persistence, which makes them good candidates for eco-friendly insect management (Regnault-Roger et al., 2012). A variety of essential oils has been examined for their efficiency to control stored product pests with largely varying results, depending on the type of essential oil and the insect species (e.g. Kellouche and Soltani, 2004; Stamopoulos et al., 2007;

* Corresponding author at: UMR IGEPP INRA/AgrocampusOuest/Université Rennes 1, AgrocampusOuest, 2, rue Le Nôtre, 49054 Angers cedex 01, France.
 E-mail addresses: kheloul-lynda@hotmail.fr (L. Kheloul), sylvia.anton@inra.fr (S. Anton).

<https://doi.org/10.1016/j.aspen.2020.02.008>

Received 13 November 2019; Received in revised form 23 January 2020; Accepted 14 February 2020

Available online 14 February 2020

1226-8615/ © 2020 Korean Society of Applied Entomology. Published by Elsevier B.V. All rights reserved.



Trade-off between attraction to aggregation pheromones and repellent effects of spike lavender essential oil and its main constituent linalool in the flour beetle *Tribolium confusum*

Lynda Kheloul¹, Abdellah Kellouche¹, Dimitri Bréard², Marie Gay³, Christophe Gadenne³ & Sylvia Anton^{3*} 

¹Laboratoire de Production, Sauvegarde des Espèces Menacées et des Récoltes, Influence des Variations Climatiques, Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou 15000, Algeria, ²Faculty of Health Sciences, Dpt Pharmacy, EA921, UNIV Angers, SFR QUASAV, 16 Bd Daviers, 49045 Angers Cedex 01, France, and ³UMR IGEPP INRA/Agrocampus Ouest/Université Rennes 1, Agrocampus Ouest, 49045 Angers Cedex 01, France

Accepted: 28 May 2019

Key words: olfactometer tests, odour interaction, stored-product pest, Coleoptera, Tenebrionidae, Labiaceae, *Lavandula spica*

Abstract

Essential oils of aromatic plants and their individual volatile components have been tested in pest management strategies for their toxic and often repellent effects on target insects. When evaluating their possible effects on crucial behaviours of the pest insects, the olfactory environment including intraspecific communication cues has to be considered. We used the flour beetle *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrionidae), a common stored-product pest, to investigate the influence of oil of spike lavender, *Lavandula spica* Medik. (Labiaceae), and its main component, linalool, at various doses on olfactory-guided behaviour. Using four-way olfactometers, a dose-dependent repellent effect of *L. spica* oil and linalool alone was revealed. On the other hand, we confirmed that *T. confusum* is attracted by conspecifics, by means of an aggregation pheromone and by 10 ng of one of its components, 1-tetradecene. Twenty-four hour pre-exposure to 10 µl of *L. spica* oil abolished subsequent attraction to 1-tetradecene and reduced attraction to five conspecifics. Simultaneous exposure to *L. spica* oil or linalool and five conspecifics reduced the repellent effect of the volatiles in a dose-dependent manner, whereas simultaneous exposure to 1-tetradecene at 10 ng abolished the repellent effect of *L. spica* oil only at a dose of 0.01 mg. These results indicate a dose-dependent trade-off between attractive and plant-derived repellent volatiles, which may influence the effectiveness of such volatiles in their potential use in alternative pest management strategies.

Introduction

Essential oils of aromatic plants and their volatile compounds have been extensively studied in the search of alternative control methods against herbivorous and stored-product pests (Isman, 2000; Regnault-Roger et al., 2012; Sendi & Ebadollahi, 2013; Isman, 2015). In addition to their toxic effects, also repellency of these compounds has been widely investigated (Nerio et al., 2010; Liang

et al., 2013; Cao et al., 2018). When studying repellent effects on insects, however, the olfactory environment and intraspecific communication cues also have to be taken into account, in order to understand behavioural decision-making. We used here the confused flour beetle, *Tribolium confusum* du Val (Coleoptera: Tenebrionidae), as a model to study interactions of aromatic plant volatiles with intraspecific olfactory cues.

Tribolium confusum is a common pest in grain stores and flour mills, which causes damage resulting in high economic losses (Good, 1933; Park, 1934). Many aromatic plants and their produced volatiles have been tested for their repellent effects on insects, including *T. confusum*; such repellent compounds may subsequently be evaluated

*Correspondence: Sylvia Anton, UMR IGEPP INRA/Agrocampus Ouest/Université Rennes 1, Agrocampus Ouest, 2, rue Le Nôtre, 49054 Angers Cedex 01, France. E-mail: sylvia.anton@inra.fr

Résumé

Tribolium confusum est l'un des principaux insectes ravageurs des denrées stockées, son contrôle requiert une maîtrise de sa biologie qui a été étudiée sur trois substrats alimentaires (farine de blé, semoule et grains de blé concassés) dans les conditions de laboratoire. Le cycle de développement est plus long sur la semoule et l'insecte subit 8 stades larvaires. Les adultes ont une longue durée de vie sur les différents substrats variant de 29,57 à 30,51 semaines chez les femelles et de 32 à 35,66 semaines chez les mâles; la durée de la pré-oviposition varie de 5 à 7 jours selon le substrat alimentaire, et le nombre d'œufs pondus par les femelles varie également de façon similaire. Le taux de survie post-embryonnaire est plus important sur les grains de blé concassés et la semoule et le sex-ratio est proche de l'unité. Par ailleurs, nous avons évalué la toxicité de quelques huiles essentielles et des monoterpènes par fumigation sur différents stades de développement de *T. confusum*. Il ressort que les œufs sont plus sensibles à l'égard de l'huile essentielle des clous de girofle et du linalool. Les jeunes larves de 1 à 2 jours sont plus sensibles aux traitements que les larves âgées de 27 jours. Les nymphes sont plus affectées par l'eucalyptol et les huiles essentielles d'eucalyptus et de romarin. Les adultes sont plus sensibles à l'eucalyptol. Tous les traitements réduisent le taux d'émergence des adultes en fonction de la dose et du temps d'exposition. Nos traitements induisent également divers taux de malformations et de mosaïques sur les nymphes traitées. Nous avons également étudié l'influence de l'huile essentielle de *L. spica* et du linalool sur le comportement olfactif des adultes de *T. confusum*, les résultats ont montré un effet répulsif dose-dépendant des deux traitements. Nous avons confirmé que *T. confusum* est attiré par les conspécifiques au moyen d'une phéromone d'agrégation et par 10 ng de l'un de ses principaux composants, le 1-tétradécène. Une pré-exposition des insectes à l'huile essentielle de *L. spica* a supprimé l'attraction du 1-tétradécène et a réduit l'attractivité des conspécifiques. L'exposition simultanée à *L. spica* ou au linalool et aux conspécifiques a réduit l'effet répulsif des substances volatiles de manière dose-dépendante, tandis que l'exposition simultanée à 10 ng du 1-tétradécène n'a aboli l'effet répulsif de l'huile essentielle de *L. spica* qu'à la dose de 0,01 mg.

Mots-clés : *Tribolium confusum*, biologie, huiles essentielles, toxicité, comportement

Abstract

Tribolium confusum is one of the main insect pests of stored foodstuffs, its control requires a mastery of its biology, which has been studied on three food substrates (wheat flour, semolina, crushed wheat kernels) under laboratory conditions. The development cycle is longer on semolina and the insect undergoes 8 larval stages. Adults have a long lifespan on different substrates varying from 29,57 to 30,51 weeks in females and from 32 to 35,66 weeks in males; the duration of pre-oviposition varies from 5 to 7 days depending on the food substrate, and the number of eggs laid by females also varies similarly. The post-embryonic survival rate is greater on crushed wheat kernels and semolina and the sex ratio is close to unity. Also, we evaluated the toxicity of some essential oils and monoterpenes by fumigation on different life stages of *T. confusum*. Eggs are found to be more sensitive to clove essential oil and linalool. 1 to 2 days-old young larvae are more sensitive to treatment than 27 days-old larvae. Pupae are most affected by eucalyptol and the essential oils of eucalyptus and rosemary. Adults are more sensitive to eucalyptol. All treatments reduce the emergence rate of adults depending on the dose and exposure times. Our treatments also induce various rates of malformations and mosaics on the treated pupae. We also studied the influence of *L. spica* essential oil and linalool on olfactory-guided behaviour of adults of *T. confusum*, the results showed a dose-dependent repellent effect of the two treatments. We confirmed that *T. confusum* is attracted by conspecifics by means of an aggregation pheromone and by 10 ng of one of its major components, 1-tetradecene. A pre-exposure of insects to *L. spica* oil abolished attraction to 1-tetradecene and reduced attraction to conspecifics. Simultaneous exposure to *L. spica* or linalool and conspecifics reduced the repellent effect of volatiles in a dose-dependent manner, whereas simultaneous exposure to 1-tetradecene at 10 ng abolished the repellent effect of *L. spica* essential oil only at a dose of 0,01 mg.

Keywords: *Tribolium confusum*, biology, essential oils, toxicity, behaviour