

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR –  
ANNABA

جامعة باجي مختار -  
عنابة



FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE  
LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUÉE

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat LMD

Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : SCIENCES BIOLOGIQUES

Spécialité : PHYSIOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

### Intitulé

«Etude *in vivo* de l'efficacité des huiles essentielles d'une plante *Thymus munbyanus* (Boiss & Reut.) à l'égard d'un ravageur à intérêt agronomique *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera Pyralidae) : impact biochimique et physiologie».

Présentée par : Mlle. BENDJEDID Hadjira

Directrice de thèse : YEZLI-TOUIKER S. (Dr, Université Badji Mokhtar - Annaba)

Devant un jury composé de :

Pr. BOUDJELIDA H.	Président	Université Badji Mokhtar - Annaba
Pr. REHIMI N.	Examinatrice	Université Badji Mokhtar - Annaba
Pr. TAIBI F.	Examinatrice	Université Badji Mokhtar - Annaba
Pr. HAMAIDIA K.	Examinatrice	Université Mohamed Cherif Souk Ahras
Dr. SOUILEH N.	Examinatrice	Université de SKIKDA

## *Remerciements*

Je tiens à exprimer mes remerciements et ma profonde gratitude avant tout à Allah le majestueux, le miséricordieux qui m'a donné la force, le courage et la volonté d'élaborer cette thèse.

J'exprime mes plus vifs remerciements à Monsieur **SOLTANI Noureddine**, Professeur au département de Biologie et directeur du laboratoire de recherche (Laboratoire de Biologie Animale Appliquée), de m'avoir accueilli dans son laboratoire d'excellence Merci pour votre confiance durant toutes ces années, pour vos précieux conseils et votre aide.

A ma Directrice de thèse, Je témoigne une vive reconnaissance à ma chère Directrice de thèse Docteur **YEZLI-TOUIKER Samira**, Maître de Conférences A au département de Biologie, Université de Badji Mokhtar Annaba, pour l'excellent encadrement fourni, son soutien, sa disponibilité et sa patience malgré ses nombreuses tâches. Grâce à ses conseils judicieux, j'ai pu réaliser ce travail et j'espère avoir été à la hauteur de ses attentes. Merci d'avoir en toutes occasions pris le temps de m'écouter et de me comprendre. Pour tout cela et encore bien pour son humanisme et sa gentillesse, Merci !

Toute ma reconnaissance à Monsieur **BOUDJELIDA Hamid**, Professeur au département de Biologie, Université de Badji Mokhtar Annaba, pour avoir pris de son temps et m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Je suis très reconnaissante envers Madame **REHIMI Nassima**, Professeur au département de Biologie, Université de Badji Mokhtar Annaba, pour avoir accepté de juger cette thèse. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Je suis très reconnaissante envers Madame **TAIBI Faiza**, Professeur au département de Biologie, Université de Badji Mokhtar Annaba, pour avoir accepté de juger cette thèse. Qu'elle trouve ici l'expression de ma profonde gratitude.

Mes plus vifs remerciements vont aussi à Madame **HAMAIDIA Kaouther** Professeur au Département de Biologie, Université Mohamed Cherif Messaidia Souk-Ahras qui a bien voulu accepter d'être membre du jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.

Toute ma considération à l'égard de Madame **SOUILEH Nabila**, Maitre de conférences au Département de Biologie des êtres vivants, Université de SKIKDA qui m'a fait l'honneur de juger le présent travail.

Je tiens également à remercier mes collègues du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Université Badji-Mokhtar Annaba qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, sans oublier le soleil de notre laboratoire Madame **LAADJAMA Dalila** merci pour ton soutien tes encouragements et ta présence, tes compétences et la bonne humeur qui régnait grâce à toi et mes collègues ainsi que madame hayette.

## DEDICACES

Je dédie ce modeste travail à mes chers parents... aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez, pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance, je vous dis **MERCI** pour votre soutien inconditionnel tout au cours de mes longues années d'études ainsi que vos encouragements, votre aide.

A mon très cher **père LAYACHI**, Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être et ton soutien permanent. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation et pour les nobles valeurs morales que tu m'as inculqué, Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A ma très chère **mère SAIDA** en témoignages de ma reconnaissance envers le soutien, l'amour, les câlins, les attentions, les paroles réconfortantes, les mots semblent très faibles pour exprimer tout l'amour et l'admiration que j'ai à ton égard, Affable, honorable, aimable : Tu représentes pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études.

A mon très cher **frère YACINE** en témoignage de mon amour fraternel merci d'être toujours là pour moi et merci pour ton soutien et conseils pour m'aider à arriver à mes objectifs. Puisse Allah te garder et éclairer ta route et t'aider à réaliser tes vœux les plus chers.

A mes précieuses magnifiques deux sœurs **MERIEM ET WIDED**, ma vie serait tellement vide et fade sans votre présence ... grâce à votre soutien, conseils, attentions, amour que j'ai pu arriver à mes objectifs et réussir dans mes études. Je vous souhaite la réussite dans votre vie, avec le bonheur qu'il faut pour vous combler.

A mon adorable belle-sœur **Nardjes** merci d'être toujours là pour moi.

A mes adorables nièces **Lina, Maria et Nouha**, je vous aime mes petites chéries.

A mes tantes et mes cousines je vous love.

A ma meilleur amie, ma sœur de cœur **RANIA**.

Enfin à tous ceux qui me sont chers.

# SOMMAIRE

# SOMMAIRE

<b>1. INTRODUCTION.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATÉRIELS ET MÉTHODES.....</b>	<b>9</b>
2.1. Matériels biologiques.....	9
2.1.1.1. Présentation de la farine.....	9
2.1.1.2. Composition chimique de la farine.....	9
2.1.1.3. Analyse des physico-chimiques de la qualité de la farine .....	9
2.1.1.3.1. Granulométrie (Taux d'affleurement).....	10
2.1.1.3.2. Taux de Protéines.....	11
2.1.1.3.3. Taux de gluten.....	11
2.1.1.3.4. Indice de sédimentation de ZENELY (SDS).....	12
2.1.1.3.5. Taux d'humidité (Teneurs en eau).....	12
2.1.1.3.6. Taux d'absorption de l'eau.....	13
2.1.1.3.7. Taux des cendres.....	13
2.1.2.1. Présentation d' <i>Ephestia kuehniella</i> .....	14
2.1.2.2. Cycle biologique.....	16
2.1.2.3. Distinction des sexes.....	19
2.1.2.4. Elevage en laboratoire.....	20
2.1.3.1. Présentation du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> .....	20
2.1.3.2. Extraction de l'huile essentielle.....	23
2.1.3.3. Calcul du rendement.....	24
2.1.3.4. Analyse de la composition chimique de l'HE.....	25
2.2. Traitement et Bio essais.....	26
2.3. Mesure des paramètres du développement.....	27

2.3.1. Durée de développement nymphal.....	27
2.3.2. Croissance pondérale.....	27
2.3.3. La longévité des adultes.....	27
2.4. Impact sur la descendance.....	28
2.5. Dosage des biomarqueurs.....	28
2.5.1. Dosage des Glutathion-S-Transférases (GSTs).....	28
2.5.2. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE).....	29
2.5.3. Dosage du Malondialdéhyde (MDA).....	30
2.5.4. Dosage des protéines.....	31
2.6. Extraction et dosage des métabolites.....	32
2.6.1. Dosage des protéines.....	32
2.6.2. Dosage des glucides.....	33
2.6.3. Dosage des lipides.....	33
2.7. Détermination de l'indice d'épuisement des réserves nutritives.....	34
2.8. Extraction et dosage des vitellogénines et des vitellines.....	34
2.9. Etude du potentiel reproducteur.....	35
2.10. Analyse statistique.....	35
<b>3. RÉSULTATS.....</b>	<b>36</b>
3.1. Rendement de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> .....	36
3.2. Composition chimique de l'HE extraite de <i>Thymus munbyanus subsp. Coloratus</i> .....	36
3.3. Toxicité de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. Coloratus</i> .....	40
3.4. Effets de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur le développement d' <i>E. kuehniella</i> .....	43
3.4.1. Effets sur la durée de développement nymphal.....	43
3.4.2. Effets sur la croissance pondérale.....	44

3.4.3. Effets sur la durée de survie des adultes (la longévité).....	<b>46</b>
3.5. Effets de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur les biomarqueurs.....	<b>46</b>
3.5.1. Effets de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur l'activité spécifique des Glutathion S-Transférases (GSTs).....	<b>47</b>
3.5.2. Effets l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE).....	<b>49</b>
3.5.3. Effets l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur le taux du malondialdéhyde (MDA).....	<b>51</b>
3.6. Effets de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> sur les métabolites dans le corps.....	<b>53</b>
3.6.1. Effet sur les teneurs en protéines.....	<b>53</b>
3.6.2. Effet sur teneurs en glucides.....	<b>56</b>
3.6.3. Effet sur teneurs en lipides.....	<b>58</b>
3.6.4. Effets de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques d' <i>E. kuehniella</i> .....	<b>60</b>
3.7. Effets de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur les vitellogénines dans les corps gras et les vitellines dans les ovaires.....	<b>61</b>
3.7.1. Effets de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur les vitéllogénines dans le corps gras.....	<b>62</b>
3.7.2. Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur le contenu en vitellines ovariennes chez la G0 et la G1.....	<b>64</b>
3.8. Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur le potentiel reproducteur chez la G0 et G1.....	<b>66</b>
3.8.1. Effet de l'huile essentielle du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur la période de préoviposition et d'oviposition de la G0 et la G1.....	<b>66</b>

3.8.2. Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur la fécondité des femelles de la G0 et la G1.....	69
3.8.3. Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur la viabilité des oeufs de la G0 et la G1.....	71
3.9. Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp. coloratus</i> sur le suivi de la descendance.....	73
3.10. Effets de l'infestation sur la qualité de la farine.....	75
3.10.1. Granulométrie (Taux d'affleurement).....	75
3.10.2. Taux de protéines.....	76
3.10.3. Taux de Gluten.....	77
3.10.4. Indice de sédimentation ZELENY.....	78
3.10.5. Humidité (teneurs en eau).....	80
3.10.6. Taux d'absorption de l'eau.....	81
3.10.7. Taux de cendres.....	82
<b>4. DISCUSSION.....</b>	<b>84</b>
4.1. Rendement de l'huile essentielle .....	84
4.2. Composition chimique de l'huile essentielle.....	84
4.3. Effets de l'HE du <i>thymus munbyanus subsp coloratus</i> sur l'inhibition de la mue d'adulte.....	86
4.4. Effets de l'HE du <i>thymus munbyanus subsp coloratus</i> sur le développement.....	88
4.5. Effets de l'HE du <i>thymus munbyanus subsp coloratus</i> sur les taux des métabolites.....	90
4.6. Effets de l'HE du <i>thymus munbyanus subsp coloratus</i> Réponses des biomarqueurs.....	93

4.6.1. Effets sur Les glutathion S-transférases (GSTs).....	94
4.6.2. Effet sur l'acétylcholine estérase (AChE).....	95
4.6.3. Effet sur le malondialdéhyde MDA.....	97
4.7. Effets de l'HE du <i>thymus munbyanus subsp coloratus</i> sur les taux vitéllogénines et des vitellines.....	98
4.8. Effets de l'HE du <i>thymus munbyanus subsp coloratus</i> sur le potentiel reproducteur et la descendance.....	100
4.9. Effets sur la qualité de la farine.....	103
<b>5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....</b>	<b>106</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>109</b>
<b>RÉSUMÉ.....</b>	<b>145</b>
<b>RÉSUMÉ.....</b>	<b>147</b>
<b>RÉSUMÉ.....</b>	<b>148</b>
<b>ANNEXE : PRODUCTION SCIENTIFIQUES (publications et communications)...</b>	<b>149</b>

**LISTES DES TABLEAUX ET  
FIGURES**

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
1	<b>Tableau 1 :</b> Récapitulatif des conditions opératoires de l'analyse chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).	25
2	<b>Tableau 2 :</b> Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.	32
3	<b>Tableau 3 :</b> Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.	33
4	<b>Tableau 4 :</b> Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.	34
5	<b>Tableau 5 :</b> Rendement et caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite de <i>T. munbyanus subsp coloratus</i> .	36
6	<b>Tableau 6 :</b> Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> identifiée par CPG/SM.	38
7	<b>Tableau 7 :</b> Effets de l'HE du <i>T. munbyanus subsp coloratus</i> , administrée in vivo, par application topique à différentes doses ( $\mu\text{l}/\text{mL}$ ) le jour de l'exuviation nymphale chez <i>E. kuehniella</i> : Inhibition observée (%) de la mue adulte. ( $m \pm \text{SD}$ ; $n = 3$ répétitions de 30 individus chacune).	41
8	<b>Tableau 8 :</b> Effet de l'HE du <i>T. munbyanus subsp coloratus</i> ( $\mu\text{l}/\text{mL}$ ) administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur l'inhibition de l'exuviation des adultes (%) : Analyse de la variance à un critère de classification ( $m \pm \text{SD}$ ; $n = 3$ répétitions contenant chacune 30 chrysalides).	42
9	<b>Tableau 9 :</b> Effets de l'HE du <i>T. munbyanus subsp coloratus</i> , administrée in vivo, par application topique à différentes doses ( $\mu\text{l}/\text{mL}$ ) le jour de l'exuviation nymphale chez <i>E. kuehniella</i> : Détermination des doses d'inhibition de la mue adulte (DI en $\mu\text{l}/\text{mL}$ ) et leurs intervalles de confiance à 95%.	42
10	<b>Tableau 10 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur la croissance pondérale au stade nymphal au cours du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	45
11	<b>Tableau 11 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur l'activité des GSTs ( $\mu\text{M}$ )	49

**LISTE DES TABLEAUX**

	/ min / mg de protéine) au stade nymphal pendant la métamorphose et au stade adulte, au fil du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	
<b>12</b>	<b>Tableau 12 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur l'activité AChE ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) au stade nymphal pendant la métamorphose et au stade adulte, au fil du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>51</b>
<b>13</b>	<b>Tableau 13 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur les Taux du Malondialdéhyde MDA ( $\text{mM}/\text{mg}$ de protéines) au stade nymphal pendant la métamorphose et au stade adulte, au fil du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>53</b>
<b>14</b>	<b>Tableau 14 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur le contenu en protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) au stade nymphal et au stade adulte au cours du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>55</b>
<b>15</b>	<b>Tableau 15 :</b> Effet de <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur le contenu en glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) au stade nymphal et stade adulte au cours du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>57</b>
<b>16</b>	<b>Tableau 16 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur le contenu en lipides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) au stade nymphal et stade adulte au cours du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>60</b>
<b>17</b>	<b>Tableau 17 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur le contenu en	<b>63</b>

**LISTE DES TABLEAUX**

	vitellogénines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de corps gras) au stade nymphal au cours du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	
<b>18</b>	<b>Tableau 18 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur le contenu en vitellines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) au stade adulte au cours des générations G0 et G1 : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>65</b>
<b>19</b>	<b>Tableau 19 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur la durée (jours) des périodes de préoviposition et d'oviposition (jours) ( $m \pm SD$ , n=6). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même paramètre indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ). Les pourcentages en rouge représentent les taux de réductions des traités par rapport aux témoins.	<b>67</b>
<b>20</b>	<b>Tableau 20 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur la durée de la période préovipositoire au stade adulte au cours de deux générations successives (G0 et G1) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>68</b>
<b>21</b>	<b>Tableau 21 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur la durée de la période ovipositoire au stade adulte au cours de deux générations successives (G0 et G1) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>69</b>
<b>22</b>	<b>Tableau 22 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur la fécondité des femelles au stade adulte au cours de deux générations successives (G0 et G1) : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>71</b>
<b>23</b>	<b>Tableau 23 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (ID <sub>25</sub> et ID <sub>50</sub> ) sur la viabilité des œufs	<b>73</b>

**LISTE DES TABLEAUX**

	pondus au cours de deux générations successives (G0 et G1) : Analyse de la variance à deux critères de classification	
<b>24</b>	<b>Tableau 24 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur le nombre des descendants (génération G1) provenant des adultes ayant survécu après traitement des chrysalides. (m ± SD ; n = 3). Comparaison des moyennes à différents couples pour un même stade du développement. Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (p > 0,05). Les pourcentages en rouge représentent les taux de réductions par rapport aux témoins.	<b>74</b>
<b>25</b>	<b>Tableau 25 :</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur la survie de la descendance des individus au cours des différents stades de vie de la génération G1 issue des adultes ayant survécus au traitement des chrysalides dans la G0: Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>75</b>
<b>26</b>	<b>Tableau 26 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couples d' <i>E.kuehniella</i> sur le taux d'affleurement de la farine au cours du temps (m ± SD, n = 3).	<b>76</b>
<b>27</b>	<b>Tableau 27 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couples d' <i>E.kuehniella</i> sur le taux d'affleurement de la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>76</b>
<b>28</b>	<b>Tableau 28 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur les teneurs en protéines de la farine au cours du temps (m ± SD, n = 3).	<b>77</b>
<b>29</b>	<b>Tableau 29 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur les teneurs en protéines de la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>77</b>
<b>30</b>	<b>Tableau 30 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur les teneurs en gluten de la farine au cours du temps (m ± SD, n = 3).	<b>78</b>

**LISTE DES TABLEAUX**

<b>31</b>	<b>Tableau 31 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur les teneurs en gluten de la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>78</b>
<b>32</b>	<b>Tableau 32 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur l'indice de sédimentation de ZELENY de la farine au cours du temps ( $m \pm SD$ , $n = 3$ ).	<b>79</b>
<b>33</b>	<b>Tableau 33 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur l'indice de sédimentation de ZELENY de la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>79</b>
<b>34</b>	<b>Tableau 34 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur l'humidité de la farine au cours du temps ( $m \pm SD$ , $n = 3$ ).	<b>80</b>
<b>35</b>	<b>Tableau 35 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur l'humidité de la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>80</b>
<b>36</b>	<b>Tableau 36 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur le taux d'absorption de l'eau dans la farine au cours du temps ( $m \pm SD$ , $n = 3$ ).	<b>81</b>
<b>37</b>	<b>Tableau 37 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur le taux d'absorption de l'eau dans la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>82</b>
<b>38</b>	<b>Tableau 38 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur le taux de cendres dans la farine au cours du temps ( $m \pm SD$ , $n = 3$ ).	<b>83</b>
<b>39</b>	<b>Tableau 39 :</b> Effet de l'infestation par différents nombre de couple <i>E.kuehniella</i> sur le taux de cendres dans la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.	<b>83</b>

## LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
1	<b>Figure 1.</b> Appareil Chopin de type Rota-choc <b>(Photo personnelle).</b>	10
2	<b>Figure 2.</b> Appareil Chopin de type Infraneo <b>(Photo personnelle).</b>	11
3	<b>Figure 3.</b> Appareil Chopin de type Etuve <b>(Photo personnelle).</b>	13
4	<b>Figure 4.</b> Farine infestée par <i>Ephestia kuehniella</i> Zeller (×2) <b>(Photo personnelle).</b>	14
5	<b>Figure 5.</b> <i>Ephestia kuehniella</i> Zeller (A : adulte male (×4) ; B : adulte femelle (×4)) <b>(Photos personnelle).</b>	15
6	<b>Figure 6.</b> Les œufs d' <i>Ephestia kuehniella</i> (×38) <b>(Photo personnelle).</b>	16
7	<b>Figure 7.</b> Évolution des stades larvaires d' <i>Ephestia kuehniella</i> (×7) (S : stade larvaire) <b>(Photo personnelle).</b>	17
8	<b>Figure 8.</b> Évolution des chrysalides durant le stade nymphal d' <i>Ephestia kuehniella</i> (×3) <b>(Photo personnelle).</b>	17
9	<b>Figure 9.</b> Adulte d' <i>Ephestia kuehniella</i> (×2,5) <b>(Photo personnelle).</b>	18
10	<b>Figure 10.</b> Cycle de développement d' <i>Ephestia kuehniella</i> à 27°C <b>(Photo personnelle).</b>	19
11	<b>Figure 11.</b> Distinction entre les deux sexes : mâles et femelle d' <i>Ephestia kuehniella</i> (×3) <b>(Photo personnelle).</b>	20
12	<b>Figure 12.</b> <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> <b>(Photo personnelle).</b>	22
13	<b>Figure 13.</b> Géolocalisation du site de récolte de la plante <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> <b>(Photo personnelle).</b>	23
14	<b>Figure 14.</b> Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger <b>(Photo personnelle).</b>	24
15	<b>Figure 15.</b> Application du traitement <b>(Photo personnelle).</b>	26
16	<b>Figure 16.</b> Chromatogramme CPG-SM de l'huile essentielle extraite de <i>T. munbyanus subsp coloratus</i> (abondance en fonction du temps de rétention en minutes).	37
17	<b>Figure 17.</b> Répartition (%) des familles de constituants présentes dans l'huile essentielle de <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> .	38

**LISTE DES FIGURES**

<b>18</b>	<b>Figure 18.</b> Effet de l'HE du <i>T. munbyanus subsp coloratus</i> ( $\mu\text{l}/\text{mL}$ ) administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur l'inhibition de l'exuviation des adultes (%) ( $m \pm \text{SD}$ ; $n = 3$ répétitions contenant chacune 30 chrysalides ; les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différent par le test HSD à $p < 0,0001$ ).	<b>38</b>
<b>19</b>	<b>Figure 19.</b> Effets de l'HE du <i>T. munbyanus subsp coloratus</i> , administrée in vivo, par application topique à différentes doses ( $\mu\text{l}/\text{mL}$ ) le jour de l'exuviation nymphale chez <i>E. kuehniella</i> : la courbe dose - réponse exprime la mortalité corrigée pour le logarithme des concentrations d'huile du <i>Thymus munyanus subsp coloratus</i> ( $\mu\text{l}/\text{mL}$ ).	<b>43</b>
<b>20</b>	<b>Figure 20.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> ( $\text{DI}_{25}$ et $\text{DI}_{50}$ ) sur la durée de développement du stade nymphal (jours) ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 6$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus de la même série indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ )	<b>44</b>
<b>21</b>	<b>Figure 21.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> ( $\text{DI}_{25}$ et $\text{DI}_{50}$ ) sur la croissance pondérale (mg) au cours du stade nymphal chez <i>E. kuehniella</i> . ( $m \pm \text{SD}$ ; $n = 12$ ).	<b>45</b>
<b>22</b>	<b>Figure 22.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> ( $\text{DI}_{25}$ et $\text{DI}_{50}$ ) sur la longévité des adultes au stade adulte (jours) ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 6$ ).	<b>46</b>
<b>23</b>	<b>Figure 23.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> ( $\text{DI}_{25}$ et $\text{DI}_{50}$ ) sur l'activité des GSTs ( $\mu\text{M} / \text{min} / \text{mg}$ de protéine) au stade nymphal pendant la métamorphose et le stade adulte, au fil du temps (jours) ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).	<b>48</b>

**LISTE DES FIGURES**

<b>24</b>	<b>Figure 24.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur l'activité AChE ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) au stade nymphal pendant la métamorphose et au stade adulte, au fil du temps (jours) ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).	<b>50</b>
<b>25</b>	<b>Figure 25.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur les Taux du Malondialdéhyde MDA ( $\text{mM}/\text{mg}$ de protéines) au stade nymphal et au stade adulte au cours du temps (jours) ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).	<b>52</b>
<b>26</b>	<b>Figure 26.</b> Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumines ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ coefficient de détermination).	<b>54</b>
<b>27</b>	<b>Figure 27 :</b> Effet de <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur le contenu en protéines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) au stade nymphal et au stade adulte au cours du temps (jours) ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).	<b>55</b>
<b>28</b>	<b>Figure 28.</b> Dosage des glucides : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucose ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ coefficient de détermination).	<b>56</b>
<b>29</b>	<b>Figure 29.</b> Effet de <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur le contenu en glucides ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) au stade nymphal et stade adulte au cours du temps (jours) ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).	<b>57</b>

## LISTE DES FIGURES

<b>30</b>	<b>Figure 30.</b> Dosage des lipides : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ : coefficient de détermination).	<b>59</b>
<b>31</b>	<b>Figure 31.</b> Dosage des lipides : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ : coefficient de détermination).	<b>59</b>
<b>32</b>	<b>Figure 32.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> ( $ID_{25}$ et $ID_{50}$ ) sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques (%) au stade nymphal et au stade adulte au cours du temps (jours) ( $m \pm SD$ , $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).	<b>61</b>
<b>33</b>	<b>Figure 33.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> ( $DI_{25}$ et $DI_{50}$ ) sur le contenu en vitellogénines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de corps gras) au stade nymphal, au fil du temps (jours) ( $m \pm SD$ , $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).	<b>63</b>
<b>34</b>	<b>Figure 34.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> ( $DI_{25}$ et $DI_{50}$ ) sur le contenu en vitellines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) au stade adulte au cours des générations successives G0 et G1 ( $m \pm SD$ , $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus de la même génération indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).	<b>64</b>
<b>35</b>	<b>Figure 35.</b> Photographies montrant les aspects morphologiques des ovocytes basaux chez <i>E. kuehniella</i> après traitement à l'HE de <i>T. munbyanus subsp coloratus</i> administré in vivo, par application topique sur des chrysalides nouvellement exuviées ( $ID_{25}$ et $ID_{50}$ ) (A : témoins ( $G \times 20$ ) ; B : $DI_{25}$ ( $G \times 16$ ) ; C : $DI_{50}$ ( $G \times 16$ )).	<b>65</b>

## LISTE DES FIGURES

36	<b>Figure 36.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (DI <sub>25</sub> et DI <sub>50</sub> ) sur la fécondité (nombre d'oeufs) des femelles de la G0 et la G1 (m±SD, n=6). Des lettres minuscules différentes au-dessus de la même série indiquent une différence significative (p<0,05).	70
37	<b>Figure 37.</b> Effet de l'HE du <i>Thymus munbyanus subsp coloratus</i> administrée in vivo, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d' <i>Ephestia kuehniella</i> (ID <sub>25</sub> et ID <sub>50</sub> ) sur la viabilité des oeufs (%) de la G0 et la G1 (m±SD, n=6). Des lettres minuscules différentes au-dessus de la même série indiquent une différence significative (p<0,05).	72

# INTRODUCTION

### 1. INTRODUCTION

Les céréales représentent une importante ressource assurant l'alimentation du bétail et la consommation humaine mondiale. Elles tiennent la première place quant à l'occupation des surfaces agricoles, dont 70 % de ces terres agricoles mondiales sont emblavées en céréales (FAO, 2021). Le régime alimentaire Algérien est basé sur les céréales qui constituent l'essentiel de l'apport énergétique et protéique, sans oublier la place qu'elles occupent dans l'agroéconomie mondiale (Bouhadi *et al.*, 2020). Justement, Les céréales sont cultivées en Algérie de toutes sortes, le blé et l'orge constituant la majorité de la production, Le blé est cultivé sous ses deux types en Algérie (blé dur et blé tendre) (Rastoin & Benabderrazik, 2014).

La farine obtenue à partir de blé tendre est principalement constituée de polymères glucidiques (amidon et pentosanes), d'eau, de protéines (hydrosolubles et insolubles) et de lipides, c'est la matière première de base pour l'obtention de nombreux produits alimentaires et notamment du pain (Boudreau & Ménard, 1992 ; Bouhadi *et al.*, 2020). Les Algériens consomment chaque jour 48 600 000 pains (110 Kg/personne/ an), occupant ainsi le premier rang des consommateurs de pain dans le monde (Fedala *et al.*, 2015).

Néanmoins, l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) prévoit un recul de 38% de la récolte céréalière en Algérie soit une production locale de blé avec une diminution de 5,1 à 3,75 millions de tonnes. D'après les prévisions du département américain de l'agriculture (USDA), l'Algérie, qui n'est en mesure de satisfaire qu'entre 34% et 36% de ses besoins en blé, devrait en importer entre 5 et 8 millions de tonnes en 2020/2021 (FAO, 2021).

En plus la production de cette culture est saisonnière et n'est récoltée qu'une seule fois par an. De ce fait, afin de garantir la sécurité alimentaire nationale en matière de céréales, les récoltes doivent être stockées dans des entrepôts durant des périodes variables, allant de quelques jours à plus d'un an (Kathirvelu *et al.*, 2020). Par conséquent, le stockage est le seul moyen pour assurer le lien entre la récolte usuel une fois dans l'année et la consommation qui est permanente et obligatoire (Waongo *et al.*, 2013 ; Stathers *et al.*, 2020).

L'objectif du stockage est de conserver la qualité et la quantité des marchandises stockées (El Abdali *et al.*, 2022). Si nous excluons les pertes causées par des changements naturels tels que le séchage progressif du grain et la respiration et d'autres processus qui

contribuent à une réduction de la quantité et de la qualité, l'objectif le plus important est de protéger les marchandises contre les pertes causées par les micro-organismes, les champignons et parasites ou insectes ravageurs des stocks (**Hamel et al., 2020**).

Effectivement, les dommages biotiques et abiotiques touchent fréquemment les produits agricoles lors de la production et de la conservation (**Aouadi et al., 2020**) entraînant d'énormes pertes économiques causées principalement par des insectes nuisibles qui peuvent affecté les cultures de production agricole ou post-récolte et provoquer une altération de la qualité nutritionnelle de céréales (**Yezli et al., 2019**). Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la dégradation qualitative et quantitative des produits stockés par les insectes ravageurs représente 29,6 % de la production mondiale dans les pays le monde (**FAO, 2022**).

Ces ravageurs des produits stockés sont divisés en deux groupes : certaines espèces sont considérées comme des ravageurs primaires attaquant les grains entiers à savoir les charançons coléoptères des grains (*Sitophilus granarius*, *S. zeamais*, *S. oryzae*) le petit foreur des grains (*Rhyzopertha dominica*). Tandis que d'autres suivent les dommages initiaux en tant que ravageurs secondaires, à savoir les coléoptères de la farine (*Tribolium confusum*, *T. castaneum*), la pyrale de la farine, une lépidoptère (*Ephestia kuehniella*), qui se nourrit régulièrement dans les aliments transformés, sur des céréales endommagées ou en mauvais état, elles sont donc plus fréquente dans les cuisines et garde-manger domestiques (**Kathirvelu et al., 2020**).

En effet, L'un des principaux ravageurs des minoteries industrielles dans les climats tempérés est la pyrale méditerranéenne de la farine, *Ephestia khehniella* **Zeller (1879)** (Lepidoptera : Pyralidae). Ses larves attaquent principalement les aliments stockés comme la farine, les grains de céréales (riz, maïs et blé), la semoule, les pâtes et rarement les fruits secs comme les raisins secs et les figues (**Bendjedid et al., 2021**). Ils réduisent la qualité du produit par leur présence et causent des dommages directs dans les aliments à cause des produits chimiques produits par les glandes mandibulaires (**Kurtulus et al., 2020**). Assurément, les larves peuvent diminuer la qualité des produits stockés en se nourrissant et en libérant leurs matières fécales (**Hansen & Jensen, 2002**). Le développement de ces insectes et la prolifération de moisissures sur les denrées stockées, entraînent des altérations de la qualité des grains et la production de mycotoxines nocives pour la santé des consommateurs (**Abeledo et al., 2008**).

Les approches de contrôle chimique sont généralement utilisées pour gérer les infestations de ravageurs dans les installations de stockage de produits (Giunti *et al.*, 2019). En effet, cette méthode a été longtemps considérée comme le moyen le plus efficace et économique pour la protection des cultures contre les ravageurs (Akantetou *et al.*, 2020). Depuis les années 1950, les insecticides synthétiques ont été largement utilisés pour lutter contre les ravageurs des produits stockés tels les fumigeants comme le bromure de méthyle, les cyanogènes, la phosphine, le formiate d'éthyle ou le fluorure de sulfuryle qui tuent les divers stades des insectes des produits stockés dans un produit ou dans une structure de stockage (Kathirvelu *et al.*, 2020).

Toutefois, l'utilisation régulière et intensive de ces pesticides a provoqué une sélection sur les populations des ravageurs, favorisant le développement de divers mécanismes de défense aux molécules actives et ainsi le développement du phénomène de résistance (El Abdali *et al.*, 2022). Les effets sur les organismes non ciblés et une pollution de l'environnement avec des résidus persistants et plusieurs effets secondaires, tels que la contamination de l'eau potable ; résidus sur les aliments ; effets toxiques (aigus ou chroniques) sur les mammifères, y compris les oiseaux, les abeilles et les parasitoïdes, causés par ces insecticides chimiques de synthèse, ont entraîné un changement drastique de la philosophie du contrôle de ravageurs (Ebadollahi *et al.*, 2020 ; Hossain *et al.*, 2022).

L'utilisation des pesticides synthétiques a connu un développement important, en effet, l'utilisation des organochlorés a été fortement réduite dans certaines parties du monde dès 1970 et plusieurs de ces composés ont été retirés du marché des pesticides (Jayaraj *et al.*, 2016 ; Taffar, 2022). Des molécules synthétiques à moindre impact environnemental, alternative aux pesticides conventionnels, ont pu être développées puis commercialisées par des firmes phytosanitaires. Ces molécules sont représentées par les perturbateurs de développement des insectes (Insect Growth Disruptors ou IGDs) anciennement connus sous le nom de régulateurs de croissance (Dhadialla *et al.*, 2005, 2010 ; Hamilton *et al.*, 2020). Parmi ces composés se trouvent les agonistes et antagonistes de l'hormone juvénile ou « HJ » mais aussi les inhibiteurs de la synthèse de la chitine composé majeur de la cuticule (Pener & Dadhialla, 2012 ; Taffar, 2022).

## INTRODUCTION

De ce fait, l'insertion de bios agents sains disponibles et efficaces pour la lutte anti ravageurs est cruciale en raison de ces circonstances. Pour minimiser les dommages causés par les infestations d'insectes, la combinaison d'approches efficaces et respectueuses de l'environnement doivent être employée (**Hossain et al., 2022**). Les préoccupations économiques, sociales et environnementales ont fourni un effort pour découvrir et développer des pesticides naturels (**Pavela, 2018**).

Actuellement, ils sont classés en trois grandes catégories selon leur origine (microbienne, végétale ou animale) et présentent de nombreux avantages (**Deravel et al., 2014**). **Rahardjo et al. (2020)** ont rapporté que l'application d'extrait de plante ayant un effet insecticide est considérée comme une alternative prometteuse pour réduire les effets négatifs des pesticides synthétiques.

D'ailleurs, les composés d'origine botaniques contiennent une large gamme de métabolites secondaires, notamment des alcaloïdes phénoliques et des terpénoïdes présentant une toxicité significative envers les insectes nuisibles (**Isman, 2006 ; Martinez et al., 2017**). D'autant plus que les pesticides botaniques sont actuellement reconnus comme biodégradables, sélectifs, respectueux de l'environnement et sont largement pris en charge dans les systèmes d'agriculture biologique (**Hamel et al., 2020 ; Hossain et al., 2022**).

Parmi les produits organiques obtenus à partir de plantes, les huiles essentielles (HEs) synthétisés par de nombreuses espèces végétales en tant que métabolites secondaires (**Campolo et al., 2018 ; Coimbra et al., 2022**). L'HE est obtenus sous la forme d'un mélange de liquide constituées de composés volatils et semi-volatils sécrétée par des voies métaboliques secondaires, généralement caractérisés par une forte odeur et qui est composé de dérivés terpéniques (monoterpéniques et sesquiterpéniques en grande majorité) formés par deux voies indépendantes, les voies mévalonate (MVA) et méthylérythritol (MEP) (**Morshedloo et al., 2017 ; Chintalchère et al., 2020**). Depuis peu, plusieurs rapports publiés indiquent une toxicité des huiles essentielles des plantes pour des insectes ravageurs (**Isman, 2020**).

Aux fins de la sécurité environnementale, de nombreuses huiles essentielles ont été recommandé dans de nombreux programmes de lutte intégrée contre les ravageurs des cultures (**Sabbour & Abd El-Aziz, 2019**). Dans ce scénario, la bio activité des huiles essentielles, a été largement étudiée, cependant peu de pesticides verts sont utilisés et disponibles sur le marché pour une gestion efficace des parasites des produits stockés (**Campolo et al., 2018**).

Récemment qualifiées d'alternatives écologiques aux pesticides chimiques en raison de leur efficacité multifonctionnelle incluant une activité anti-insectes nuisibles (**Isman & Grieneisen, 2014 ; Isman, 2020**). Les HEs peuvent être appliqués sous forme de fumigeant, de formulations granulaires, par contact, en application topique ou de pulvérisations directes avec une large gamme d'effets (**Jalali Sendi & Ebadollahi, 2013**). Effectivement, ils pourraient agir en tant qu'adulticides, larvicides, ovicides, réducteurs de fertilité, dissuasifs de la ponte, répulsifs, antiappétants, ainsi avec l'activité inhibitrice du développement et de la croissance (**Campolo et al., 2018**).

Une fois au contact des insectes, les HEs pénètrent dans l'organisme et provoquent un fonctionnement biologique anormal de l'organisme en atteignant rapidement ou non le niveau cellulaire des enzymes et protéines cibles (**Haubruge & Amichot, 1998**). La nature lipophile facilite leur interférence avec les fonctions métaboliques, biochimiques, physiologiques et comportementales de base des insectes (**Nishimura, 2001 ; Aouadi et al., 2020**). En général, les huiles essentielles sont de nos jours connues comme des neurotoxines à effets aigus interférant avec les transmetteurs octopaminergique (**Ouakouak et al., 2021**). Seulement, au contact avec les ravageurs certaines HEs possèdent plusieurs mécanismes d'actions comme la dénaturalisation des protéines, l'inhibition enzymatique et la désintégration membranaire du corps du ravageur (**Cavalca et al., 2010 ; Chintalchère et al., 2020**). En plus, ces huiles sont très toxiques pour les insectes et peu toxiques pour les animaux à sang chaud (**Aissaoui et al., 2018**).

Malgré leurs propriétés prometteuses, les pesticides à base d'HE peuvent présenter quelques critiques liées à la standardisation des principes actifs (**Coimbra et al., 2022**). En effet, la variation considérable de la composition chimique de l'HE qui peut être liée à plusieurs facteurs, comme la variété végétale, la saison et les conditions climatiques (**Thompson et al., 2003 ; Coimbra et al., 2022**). De plus, les caractéristiques chimiques des HEs peuvent entraîner certains inconvénients, principalement liés à la forte volatilité, à la dégradation rapide et à la faible solubilité dans l'eau de ces extraits botaniques. En effet, les HEs sont hydrophobes (c'est-à-dire que leurs principaux composés sont des terpènes non polaires ou faiblement polaires) et leur densité est souvent inférieure à celle de l'eau (**Coimbra et al., 2022**).

N'empêche qu'une réduction à des dimensions nanométriques peut améliorer la solubilité des HEs, ainsi qu'augmenter leur stabilité et leur efficacité contre les ravageurs cibles (**Kah et al., 2013**). En effet, le chargement/encapsulation des HE par/dans des nanoparticules (NP) de polyéthylène glycol (PEG) améliore considérablement la solubilité dans l'eau de l'HE

et régule la libération de pesticides (**González et al., 2014 ; Campolo et al., 2017**). En d'autres termes, l'incorporation d'HE au sein de nano-émulsions peut apporter plusieurs avantages, comme une diminution de la volatilité et une augmentation de la stabilité (**Giunti et al., 2019**).

Les HEs sont produites par plusieurs familles de plantes telles que les myrtacées, les lamiacées, les astéracées, les apiacées et les rutacées ayant des propriétés insecticides signifiant ainsi leurs valeurs potentiellement industrielles contre une variété d'insectes nuisibles, à savoir les lépidoptères, les coléoptères, les diptères, les isoptères et les hémiptères (**Chintalchère et al., 2020**).

Le *Thymus* sp. (Thym) est une petite herbe botanique thérapeutique permanente originaire du bassin méditerranéen, du sud de l'Italie et de l'Asie. Il appartient à la famille des Lamiacées, qui est l'une des plus grandes familles parmi les plantes à fleurs, pratiquement, avec une gamme de près de 220 genres et 4000 espèces dans le monde (**Colpaert, 2006 ; Ameen et al., 2013 ; Nikolić et al., 2014**).

Il a actuellement d'énormes valeurs, grâce à ses nombreuses applications dans l'alimentaire, industries cosmétiques et pharmaceutiques. Il est très apprécié en raison du large éventail de propriétés pharmacologiques (**El bakkal et al., 2019**). De plus, les espèces de thym sont très remarquables en raison de leur haute rendement en HE et précieux composés phénoliques, notamment les monoterpènes phénoliques thymol et son isomère carvacrol, ainsi que leurs précurseurs biogénétiques p-cymène et  $\gamma$ -terpinène, qui sont des marqueurs chimiogénétiques et bioactifs les plus fréquents chez plusieurs espèces de *Thymus* (**Morshedloo et al., 2017 ; Bistgani et al., 2018 ; Mumivand et al., 2022**).

Par ailleurs, d'autres chémotypes basés sur des composés non phénoliques, notamment le linalol, le géraniol, l'acétate de géranyle, le  $\alpha$ -terpinéol, le citral et le nérolidol, sont signalés chez différentes espèces du genre (**El bakkal et al., 2019**). Ainsi, un polymorphisme chimique important est fréquemment présent avec l'apparition de plusieurs chémotypes au sein d'une même espèce ou au sein de populations morphologiquement homogènes (**Hegnauer, 1986 ; Pavela et al., 2019 ; El bakkal et al., 2019**). Il est probable que les composés minoritaires agissent de manière synergique. De cette manière, la valeur d'une HE tient à son « Totum », c'est-à-dire dans l'intégralité de ces composants et non seulement à ses composés majoritaires (**Pibiri, 2005 ; Aissaoui et al., 2018**).

Parmi elles, l'espèce *Thymus munbyanus*, qui montre différentes activités biologiques comme des activités anti-microbienne, anti-bactérienne et anti-proliférative sur les cellules humaines (Tefiani *et al.*, 2015) et aussi une activité antioxydante (Sadou *et al.*, 2020). L'huile essentielle de *Thymus munbyanus* présente diverses familles de composés tels que les monoterpènes, les sesquiterpènes, les diterpènes, les dérivés oxygénés ainsi que les hydrocarbures aromatiques, les aldéhydes et les cétones (Sadou *et al.*, 2020).

En effet, la composition chimique des HEs varie d'une sous-espèce à l'autre, par exemple les composés majeurs de la *subsp. abylaeus* sont l'acétate d' $\gamma$ -terpinyle, le  $\alpha$ -terpinéol et le bornéol, pour la *subsp. ciliatus* carvacrol,  $\gamma$ -terpinène et p-cymène sont prédominants, cependant l'amphore, le myrcène et le 1,8-cinéole sont les principaux composés pour la *subsp. Coloratus* (Benomari *et al.*, 2020). Par conséquent, plusieurs études ont prouvé que certains facteurs comme l'origine géographique (Elbali *et al.*, 2018) la génétique et les méthodes d'extraction (Fadel *et al.*, 2019) pouvaient influencer la variabilité de la composition des huiles essentielles (Kebbi *et al.*, 2020).

La présente thèse a pour objectif de valoriser l'activité insecticide de l'huile essentielle d'une plante aromatique endémique *Thymus munbyanus subsp coloratus* et a évalué son effet comme produit alternatif aux pesticides conventionnels dans le contrôle d'un insecte à intérêt agronomique, le ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*.

L'étude a été réalisée *in vivo* et les principaux objectifs sont :

- 1) Extraction de l'huile essentielle du *Thymus munbyanus*, puis détermination des caractéristiques physico-chimiques et organoleptiques, ainsi que de la composition chimique par la méthode analytique quantitative et qualitative la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG/SM).
- 2) Evaluation de la toxicité de l'huile essentielle sur les chrysalides 0 jour (<8h) au stade nymphal, avec détermination des doses d'inhibitions de l'émergence des adultes (DI<sub>25</sub> ; DI<sub>50</sub>) ainsi que leurs intervalles de confiance.

- 3) Evaluation des effets de l'huile essentielle à l'aide des doses d'inhibitions ( $DI_{25}$  ;  $DI_{50}$ ) sur la croissance pondérale et le développement d'*E. kuehniella*.
- 4) Evaluation des effets de l'huile essentielle sur les principaux métabolites corporels : ce sont des paramètres utilisés dans l'évaluation de la « Fitness » des organismes. En effet, les variations dans les réserves d'énergie (glucides, les lipides, les protéines) indiquent une altération fonctionnelle et la susceptibilité de l'insecte à l'insecticide (Piri et al., 2014).
- 5) La compréhension des altérations enzymatiques, induites par l'exposition à l'HE au cours des stades nymphal et adultes. Ainsi, les activités spécifiques d'une sélection d'enzymes clés ont été précisées en plus d'un biomarqueurs de la peroxydation lipidique : les Glutathion S-transférases (GSTs) ; l'Acétylcholinesterase (AChE) et le Malondialdéhydes (MDA).
- 6) Evaluation des effets de l'huile essentielle sur le taux des Vitellogénines et Vitellines : au cours de deux générations successives, la génération parent (G0) et la première génération (G1).
- 7) Evaluation des effets de l'huile essentielle sur le potentiel reproducteur et la descendance au cours de deux générations successives, la génération parent (G0) et la première génération (G1) et à différents stades de développement (larves, nymphes et adultes).
- 8) Notre travail vise aussi à évaluer l'impact de l'infestation de la farine par ce ravageur *E. kuehniella* sur quelques paramètres physico-chimiques de la farine.

**MATERIELS ET  
METHODES**

## 2. MATERIELS ET METHODES

### 2.1. Matériels biologiques

#### 2.1.1.1. Présentation de la farine

La farine est le produit obtenu à partir des grains de blé tendre de *Triticum aestivum* (Feillet, 2000). Ce sous-secteur constitue l'une des bases de l'industrie agro-alimentaire en Algérie. En effet, la farine résulte de mouture et de broyage de ces grains dans lesquels le son et le germe sont partiellement éliminés et le reste réduit en poudre suffisamment fine (Bouhadi et al., 2020).

#### 2.1.1.2. Composition chimique de la farine

La farine est composée en moyenne de 65 à 70 % d'amidon, un sucre complexe, qui représente une réserve des glucides chez les plantes. Elle contient aussi de 13 à 16 % d'eau qui sert à préparer le grain de blé à l'écrasement par assouplissant les enveloppes, de plus elle peut contenir de 0,45 à 0,60 % de matières minérales, ce sont les minéraux majeurs ou macroéléments (le calcium (Ca), le magnésium (Mg), le phosphore (P), le potassium (K) et le sodium (Na)) et les oligoéléments ou éléments traces (le fer, le cuivre et le zinc). Des protéines représentant en général 11 à 13.5 % du poids de la farine, on y distingue les protéines métaboliques (les Albumines et Globulines) et les protéines de réserves (les Gliadines et les Gluténines), quant aux lipides, ils ne représentent que 0.8 à 2 %, la farine contient également des enzymes qui sont présentes en petites quantités comme les protéases, les lipases, les amylases, les peroxydases et des vitamines (B6 ; B1 ; B12 et la vitamine E) (Feillet, 2000).

#### 2.1.1.3. Analyse des physico-chimiques de la qualité de la farine

Le contrôle de qualité est un système qui permet de surveiller la qualité du produit, en assurant de détecter précocement toute défaillance de façon à éviter qu'elle ne se traduise pas un défaut du produit, avec des séries d'analyses en laboratoire.

Une exposition provoquée de 200 g de farine à 5, 10 et 20 couples d'*Ephestia keuhniella* sous des conditions expérimentales a été réalisés et des séries d'analyses nous permettent de mettre en évidence les paramètres qualitatifs et quantitatifs de la farine ont été réalisés. Ces analyses physico-chimiques ont été réalisés après 1, 2 et 3 mois d'expositions aux différentes

nombre de couples du ravageur ou les paramètres suivants ont été évalué : La granulométrie, le taux en protéines, teneurs en gluten, indice de sédimentation, teneurs en eau, taux d'absorption d'eau et le taux de minéralisation (Cendres).

### 2.1.1.3.1. Granulométrie (Taux d'affleurement)

Le taux d'affleurement a été réalisé selon la méthode décrite par la norme 95 % (AFNOR, NF 11501 ; 1982). C'est la quantité de refus obtenus après tamisage de 100g de farine pendant 5 minutes, à l'aide d'un Rota-choc (Fig. 1), un appareil constitué d'une série d'empilement de tamis avec une ouverture de mailles décroissantes (212 µm, 180 µm, 160 µm, 140 µm et 125 µm, par un mouvement circulaire excentré dont l'amplitude est réglable. La masse de refus obtenu est pesée et exprimée en pourcentage (%).

$$\text{Taux d'affleurement} = \frac{m_0}{m_1} \times 100$$

$m_0$  : Masse du refus en gramme.

$m_1$  : Masse de l'échantillon en gramme.



Figure 1. Appareil Chopin de type Rota-choc (Photo personnelle)

### 2.1.1.3.2. Taux de Protéines

La teneur en protéine est déterminée à l'aide d'un appareil Infra-néo où les mesures sont faites en transmission ou en réflexion dans une plage spectrale en proche infrarouge [1400-2500nm] d'un échantillon (Fig. 2). Le mode opératoire est particulièrement simple : on sélectionne le produit à mesurer à l'aide d'un menu déroulant, ensuite on verse notre farine dans la trémie jusqu'à remplir la cuvette, on appuie sur analyse, puis on nomme l'échantillon à analyser et enfin on appuie sur test pour lire le résultat à l'écran, cet appareil permet une analyse très rapide et fiable. La norme du taux en protéine varie entre 9.31 à 12.21% selon la NA (Norme Algérienne 1828-1991), Les résultats sont exprimés en (%) (Feillet, 2000).



Figure 2. Appareil Chopin de type Infraneo (Photo personnelle).

### 2.1.1.3.3. Taux de gluten

Le gluten humide d'une farine est une substance plasto-élastique composée principalement de gliadine et de gluténine, qui constitue l'armature de la pâte et lui communique les propriétés rhéologiques. Pour mesurer la quantité de gluten, on réalise un pâton

avec 10 g de farine mélangée avec 5ml d'eau salée. Après 10 min de repos, on isole le gluten par lixiviation, c'est à dire par lavage du pâton sous un mince filet d'eau tout en malaxant afin d'évacuer l'amidon et les matières solubles dans l'eau. Le gluten (m1) obtenu est mesuré à l'aide d'une balance. La norme du gluten humide est à partir de 25 %, Il est exprimé en pourcentage de la fraction massique de l'échantillon initial (Feillet, 2000).

$$\text{GH (\%)} = (m1 \times 10).$$

m1 : est la masse, en gramme, de la prise d'essai après séchage.

### 2.1.1.3.4. Indice de sédimentation de ZENELY (SDS)

Il donne une indication globale sur la quantité et la qualité du gluten, on admet qu'il est en relation avec la force boulangère (22 à 30 / NA 1184 –94). L'infraneo nous permet de mesurer cet indice aussi (Feillet, 2000).

### 2.1.1.3.5. Taux d'humidité (Teneurs en eau)

La teneur en eau des farines a été réalisée selon la méthode décrite par la norme algérienne (NA 1333/1990 (ISO 712) ; 14,5 % à 15,5 %). C'est un paramètre déterminé par séchage d'une prise d'essai de 10 g (m0) à une température de 130°C dans une étuve d'humidité rapide avec deux cellules ; après 15 à 20 minutes on a mesuré la farine séchée (m1) à pression atmosphérique normale permettant d'obtenir un résultat identique de la méthode de référence. L'humidité du produit est indiquée par perte de masse rapportée en (%) par rapport à la masse initiale (Feillet, 2000).

$$\text{Humidité} = (m0 - m1) \times 10.$$

m0: est la masse, en grammes de la prise d'essai.

m1: est la masse, en gramme de la prise d'essai après séchage.



Figure 3. Appareil Chopin de type Etuve (Photo personnelle).

#### 2.1.1.3.6. Taux d'absorption de l'eau

Il correspond à la proportion d'eau, sous forme de pourcentage en poids de farine de blé à 14% d'humidité. Le taux d'absorption est déterminé par un appareil Infra néo comme expliqué précédemment et sa valeur est comprise entre 69-73 (NA 6458-2007) (Feillet, 2000).

#### 2.1.1.3.7. Taux des cendres

Cette détermination est indispensable et a pour but de constater le changement de la teneur en minéraux dans les échantillons. L'utilisation de la matière minérale est un indicateur de croissance microbienne et d'activités enzymatiques, puisque tous les microorganismes ont besoin de plusieurs micronutriments (minéraux) qui sont des éléments nécessaires à leurs développements et à l'activité de plusieurs enzymes (Dupin *et al.*, 1992 ; Bouhadi *et al.*, 2020). La teneur en cendres est déterminée par un appareil Infra néo comme expliquer précédemment et déterminée selon la norme (NA 733).

### 2.1.2.1. Présentation d'*Ephestia kuehniella*

*Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879), est un insecte lépidoptère nocturne et holométabole de la famille des pyralidés, qui existe dans les régions tempérées et méditerranéennes (Balachowsky, 1972). Cet insecte est un ravageur des denrées stockées dont les larves s'attaquent essentiellement à la farine, aux grains de céréales (Blé, Mais, Riz), la semoule, les flocons d'avoine, les pâtes alimentaires et aux fruits secs (raisins, figues, abricots) (Fig. 4). Elle est aussi une source allergique qui provoque l'asthme et les rhinites (Bataille *et al.*, 1995 ; Cipola *et al.*, 1996 ; Yezli, 2014).



**Figure 4.** Farine infestée par *Ephestia kuehniella* Zeller (×2) (Photo personnelle).

L'insecte adulte a une petite tête globulaire avec des ailes antérieures grisâtres satinées (Fig. 5) (Balachowsky, 1972). Parallèlement à son intérêt économique, cette mite constitue, du fait de son élevage facile et de son cycle de développement court, un modèle biologique de

laboratoire intéressant pour différentes études. Sa position systématique est la suivante selon le Centre National d'Information sur la Biotechnologie « NCBI » (2018) :

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



**Figure 5.** *Ephestia kuehniella* Zeller (A : adulte male (×5) ; B : adulte femelle (×5.5)) (Photos personnelles).

### 2.1.2.2. Cycle biologique

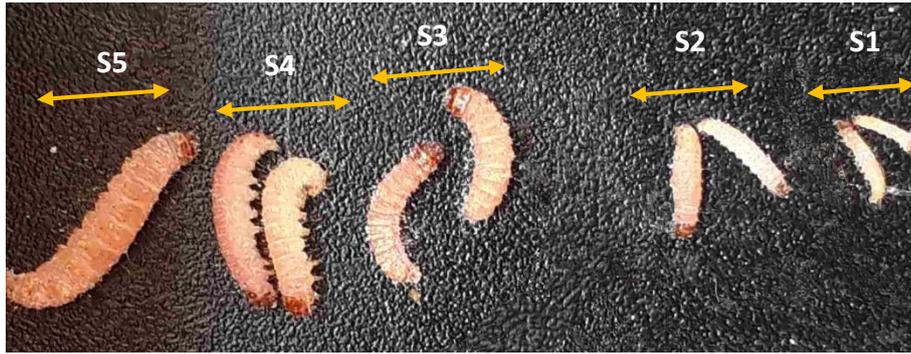
Le cycle de développement dur environ 75 jours chez *E. kuehniella* à une température de 27°C et une humidité relative de 70 % et passe par 4 stades bien déterminés : œuf, larve ou chenille, nymphe ou chrysalide, adulte ou papillon (Fig. 10) (Pakyari *et al.*, 2018).

**L'œuf :** selon la température ambiante, il passe par une incubation durant 3 à 14 jours. L'œufs est de couleur blanchâtre et de forme ovoïde, présente une longueur de 460 µm, et une largeur de 230 µm (Fig. 6) (Hami *et al.*, 2004 ; Yezli-Touiker *et al.*, 2016).



**Figure 6.** Les œufs d'*Ephestia kuehniella* (×27) (Photo personnelle).

**La larve :** de couleur blanc rosé, mesurant de 1 à 1,5 mm pour le premier stade pour atteindre les 15 à 20 mm de long au dernier stade larvaires. Dès l'éclosion, la larve s'alimentant directement, elle est caractérisée par un déplacement rapide et une vive activité de filage. Après six mues larvaires, celles-ci achèvent leur croissance, elles peuvent parcourir jusqu'à 400 mm. En effet, les larves du dernier stade s'éloignent de leur source de nourriture et débutent leur nymphose en tissant une enveloppe de soie « Nympe » ou « cocon » contenant des substances nutritives dans laquelle elles évolueront pendant 8 à 12 jours pour former la chrysalide (Taibi, 2007 ; Delhoum *et al.*, 2016) (Fig. 7).



**Figure 7.** Évolution des stades larvaires d'*Ephestia kuehniella* ( $\times 7$ ) (S : stade larvaire) **(Photo personnelle).**

**La chrysalide :** la nymphe de couleur brunâtre mesure environ 9 à 10 mm de long et devient de plus en plus foncé avec l'âge, c'est un stade immobile où se produit la métamorphose (la mue), correspond à un cocon dans lequel la nymphe évoluera pendant 8 à 12 jours **(Delhoum, 2016) (Fig. 8).**



**Figure 8.** Évolution des chrysalides durant le stade nymphal d'*Ephestia kuehniella* ( $\times 1,5$ ) **(Photo personnelle).**

**L'adulte :** la chrysalide subit une mue imaginale apportant les dernières modifications en réalisant l'insecte parfait qui est un papillon mesurant 20 à 25 mm d'envergure et de couleur grise. Il est formé par deux paires d'ailes, deux ailes antérieures grisâtres avec des points noirs et deux ailes postérieures blanchâtres finement frangées. Les femelles adultes pondent juste après l'accouplement qui aura lieu quelques heures après l'émergence et la fécondité est de 200-300 œufs blancs et de forme elliptique **(Balashowsky, 1972 ; Yezli-Touiker, 2014) (Fig. 9).**



**Figure 9.** Adule d'*Ephestia kuehniella* (×3) (Photo personnelle).

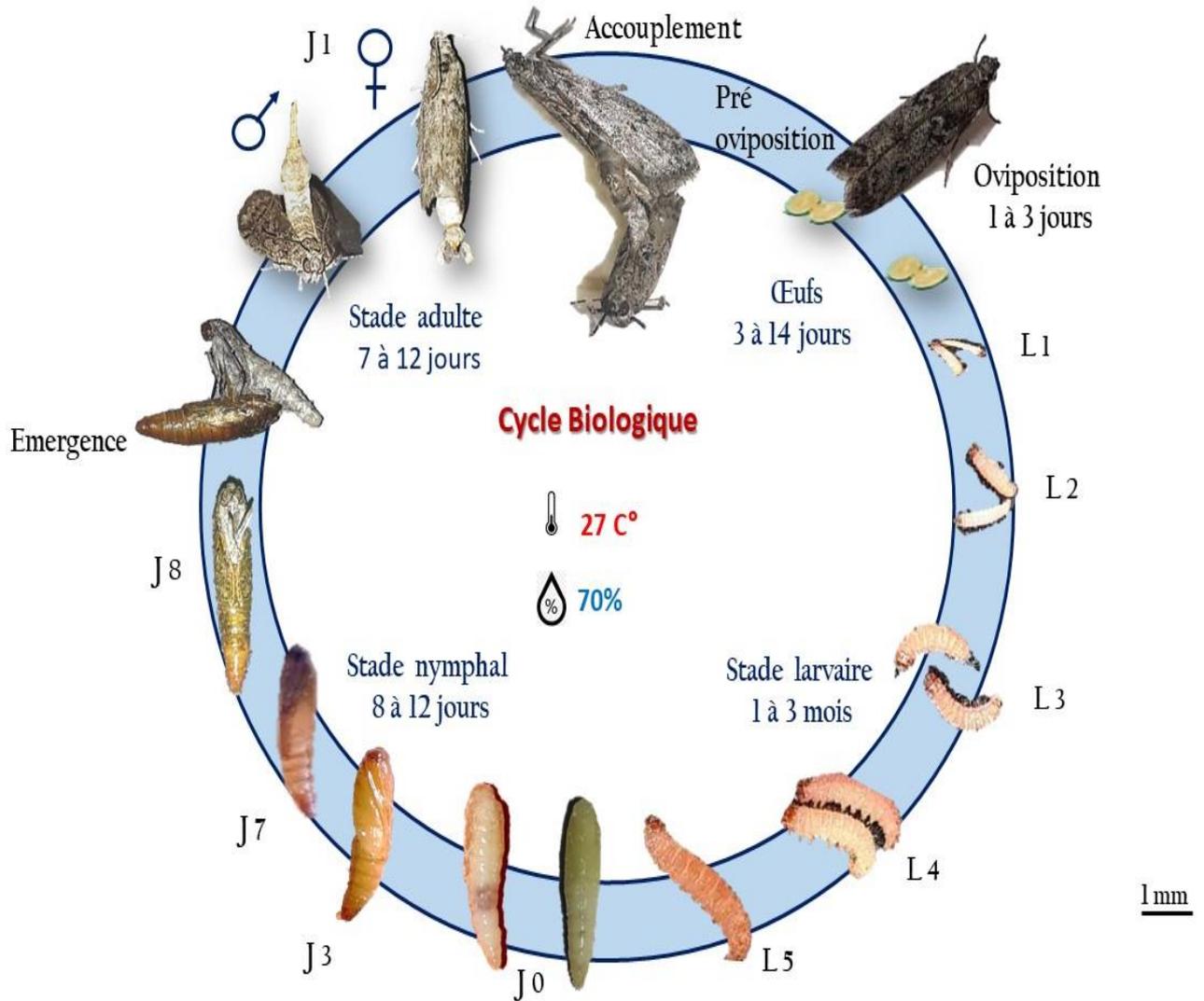


Figure 10. Cycle de développement d'*Ephestia kuehniella* à 27°C (Photos personnelles).

### 2.1.2.3. Distinction des sexes

Ce n'est pas facile de faire la différence entre le mâle et la femelle d'*Ephestia kuehniella* au stade adulte ; la distinction des sexes se fait aisément au stade larvaire par la présence d'une tache noire qui représente les testicules visible à l'œil nu à travers l'épiderme de la face dorsale.



**Figure 11.** Distinction entre les deux sexes : mâles et femelle d'*Ephestia kuehniella* (×3)  
(Photo personnelle).

#### 2.1.2.4. Technique d'élevage

L'élevage est maintenu dans des conditions contrôlées de température et d'humidité (25°C et 70 % environ) selon les indications de **Payne (1966)**, les larves du dernier stade sont récoltées et séparées en fonction de leur sexe et déposées dans des boîtes en plastique contenant de la farine et du papier plissé pour la nymphose et recouverts par un morceau de tulle. L'élevage est suivi quotidiennement et les chrysalides nouvellement exuviées (0 jour) sont utilisées pour l'expérimentation.

#### 2.1.3.1. Présentation du *Thymus munbyanus subsp coloratus*

Le nom *Thymus* dérive du nom grec : Thumos, venant du mot grec (theo) parfum ou plante odoriférante, le genre *Thymus* possède plusieurs nominations ; en Amazigh: Azukni, Tazuknite, en Arabe: jertil et Ziitra (**Belmalha et al., 2015**). Le genre *Thymus* est un des genres

les plus diversifiés de la famille des Lamiaceae et compte 215 espèces (Hazzit *et al.*, 2006). L'Algérie est l'un des pays les plus riches en variétés d'espèces du Thym (Kabouche, 2005). Il est représenté par 20 espèces botaniques de détermination toujours délicate en raison de leur variabilité et leur tendance à s'hybrider facilement (Quezél & Santa, 1963 ; Bousmaha-Marroki *et al.*, 2007).

En effet, en Algérie le genre *Thymus* est représenté par douze espèces et trois sous-espèces. Neuf espèces sont endémiques et un seul (*T. ciliatus*) est signalé avec trois sous-espèces. *Thymus ciliatus* Desf. Une plante endémique du Nord d'Afrique a été rapportée dans la littérature algérienne avec trois sous-espèce : *subsp. eu-ciliatus* Maire, commun partout Algérie ; *subsp. coloratus* (Boiss. & Reut.) Batt. Commun dans le Tell d'Algérie, et *subsp. munbyanus* (Bois. & Reut.) Batt. assez rare et localisé uniquement dans l'ouest algérien (le Oranais et Hauts-Plateaux) (Benomari *et al.*, 2020).

L'espèce *T. munbyanus* Boiss. & Reut., est une plante endémique dans l'Afrique de nord (Benchabane *et al.*, 2012). En Algérie, cette endémique se localise dans le secteur Nord (Saidj *et al.*, 2006). Il affectionne les terrains secs et arides, la garrigue ou le maquis bas, mais on peut le trouver aussi facilement dans les rocailles, les escarpements rocheux, les sous-bois clairs (ou il est beaucoup moins parfumé), les restanques (Thierrey, 2005). Ce taxon est représenté par trois sous espèces : *subsp. coloratus*, *subsp. munbyanus* et *euciliatus* (Quezél & Santa, 1962).

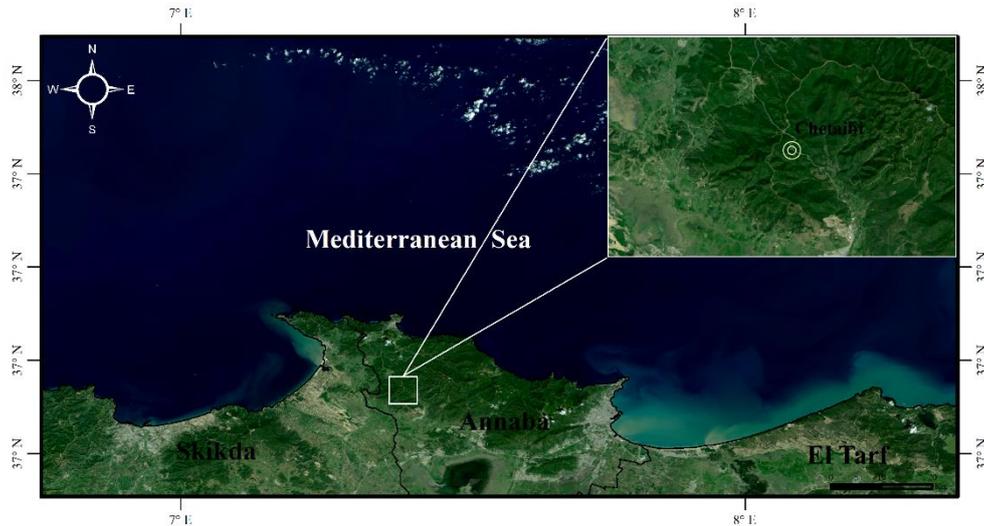
C'est un sous-arbrisseau vivace, assez robuste et touffue avec des racines noueuses et tortueuses, herbacées au sommet très diffuses, petit à moyen mesurant de 10 à 40 cm de haut et très odorant (Thierry, 2005), érigée ou prostré (Quezél & Santa, 1962). Les feuilles sont très petites, sessiles, ovales, allant du vert (à l'ombre) au gris blanchâtre (en pleine soleil), linéaire ou linéaire-lancéolées, duveteuses au revers, lisses à l'avant et enroulées sur les bords (Grunwald et Christof, 2004). Les fleurs sont visibles entre Avril et Septembre. Elles sont bleu-violettes voir rouge clair (Thierry, 2005), réunies en glomérules. L'ensemble constitue des grappes terminales feuillées, à calice tubuleux avec deux lèvres : la supérieure à 3 dents, l'inférieure à deux, ciliées et dentées. La corolle plus ou moins exserte à deux lèvres, à 2 et 3 lobes. Les étamines sont au nombre de quatre saillantes et plus ou moins divergentes (Quezel & santa, 1963). Le fruit se compose de quatre akènes ovoïdes arrondis (Smahi, 2007).

La sous espèce *coloratus*, se distingue des autres sous espèces décrites par les feuilles florales plus ou moins tachées pourpre au moins à la base (Quezel & Santa, 1963). La *subsp. coloratus* est un sous arbrisseaux très rameaux à capitule dense, les fleurs ne dépasse pas 7 à 8 mm et sont en général plus pales, la tige généralement tétrangulaire est très ramifiée et ligneuse en sa partie inférieure (Fig. 10).

Cette espèce est très complexe du point de vue taxonomiques et systématiques, démontrant polymorphisme important à la fois inter- et intra spécifique niveau non seulement dans les caractéristiques morphologiques mais aussi en composition d'huiles essentielles (Benamori *et al.*, 2020).



**Figure 12.** *Thymus munbyanus subsp coloratus* (Photo personnelle).



**Figure 13.** Géolocalisation du site de récolte de la plante *Thymus munbyanus subsp coloratus* (Photo personnelle).

### 2.1.3.2. Extraction de l'huile essentielle

Le matériel végétal destiné à l'hydrodistillation pour l'obtention des huiles essentielles a été prélevé entre mars et juin (2019 et 2020). Les plantes fraîchement collectées, ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré. L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au niveau du laboratoire de biologie animale appliquée (Université Badji Mokhtar Annaba). Une biomasse de 50g de matériel végétal et 500 ml d'eau distillée est soumise à une hydrodistillation en utilisant un montage d'hydrodistillation **Clevenger (1928)** durant 3 heures (**Fig.14**). L'huile essentielle recueillie par décantation à la fin de la distillation, est ensuite conservée à 4°C dans des petits flacons bien fermés, en verre ombré.



Figure 14. Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger (Photo personnelle).

### 2.1.3.3. Calcul du rendement

Le rendement en huile essentielle est calculé en fonction du rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante selon la formule suivante :

$$R = PB / PA \times 100$$

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

**PA** : Poids de la matière sèche de la plante en g.

**PB** : Poids de l'huile en g.

**2.1.3.4. Analyse de la composition chimique de l'HE**

L'analyse chimique des HEs a été réalisée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM). Cette technique a été faite au centre de recherche scientifique et technique en analyses physicochimique (CRAPC) à Bou Smail (Tipaza, Algérie).

L'analyse (CPG-SM) a été effectuée avec un chromatographe HP Agilent 2890 plus (CPG) équipé d'une colonne HP-5MS (longueur de 30 m x diamètre interne de 0,25 mm et épaisseur de film 0,25 mm). La température du four à colonne a été réglée à 60°C pendant 8 minutes, puis augmentée à 250°C à une vitesse de 2°C/ min. Les températures de l'injecteur et du détecteur ont été maintenues respectivement à 250 et 270°C. Le gaz porteur était de l'hélium, l'écoulement à travers la colonne était de 1 ml /min et le rapport de division a été réglé à 50:1 avec injection de 0,2µl d'échantillon d'huile.

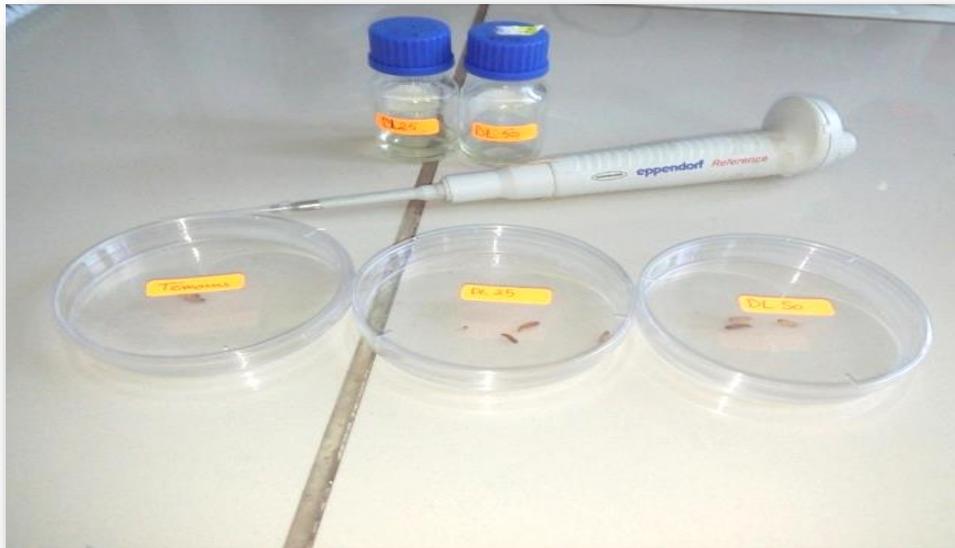
L'analyse CPG-Spectrométrie de masse (SM) a été effectuée avec un spectromètre de masse "Quadrupolaire" qui fonctionnait à 70V. L'identification des constituants est basée sur la comparaison des temps de rétention avec ceux des normes de référence correspondantes et en utilisant la bibliothèque NISTE02 et WILEY 7n (Jennings & Shibamoto, 1980) et ainsi par la comparaison de leurs indices de rétention (IR) calculés par rapport à une série d'alcane (C8-C28) avec interpolation linéaire sur les deux colonnes, avec ceux des composés de référence contenus dans la table de ADAMS (Adams, 2007). Le pourcentage des composés été calculé en fonction de la surface des pics chromatographiques.

**Tableau 1 :** Récapitulatif des conditions opératoires de l'analyse chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS).

Injecteur	Colonne	Four	Durée d'analyse	Gaz vecteur	Détecteur de masse
-T° 250°C -Split 1 ; 50 -Vol injecté : 0.2µl	-HP-5MS -Long 30m* D int 0.25mm* épaisseur film 0.25µm -Phase stationnaire : 5% Phenyl 95% diméthylpolisiloxane	-60°C- 8min -2°C/min jusqu'à 250°C -Isotherme 10min	113min	-Hélium - pureté : N6.0 -Débit - GV : 0.5ml/min	Scan TIC (de 30 à 550) T° d'interface 280°C Quadripoles

## 2.2. Traitement et Bio essais

Après un screening préalable, cinq doses ont été considérées 5, 15, 25, 40 et 100  $\mu\text{l}/\text{mL}$  d'acétone, l'essai pour chaque dose est conduit en utilisant 3 réplifications qui comportent chacune 30 insectes. Le traitement a été administré *in vivo* à des chrysalides nouvellement exuviée (<8) d'*Ephestia kuehniella*, par application topique sur toute la face ventrale de l'abdomen de la chrysalide (2  $\mu\text{l}/\text{chrysalide}$ ). Les chrysalides des séries témoins reçoivent 2  $\mu\text{l}$  d'acétone (Fig. 15).



**Figure 15.** Application du traitement (Photo personnelle).

Les pourcentages d'inhibition observée des différentes séries ont été déterminés puis corrigés selon la formule d'Abbott (1925) pour éliminer la mortalité naturelle. Les pourcentages d'inhibitions corrigées subissent une transformation angulaire selon les tables de Bliss (1938), cités par Fisher et Yates (1957) et feront l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification qui permet le classement des doses par le test HSD de Tukey, afin d'évaluer l'effet de l'HE. Enfin, la régression non linéaire exprimant le pourcentage d'inhibition corrigée en fonction du logarithme de la dose a permis d'estimer, pour l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus*, les doses d'inhibition de la mue adulte  $DI_{25}$  et  $DI_{50}$  (doses provoquant l'inhibition de l'émergence des adultes de 25 % et 50 % des insectes traités, respectivement) avec leurs intervalles de confiance (95 % FL) et le Hill Slope.

### 2.3. Mesure des paramètres du développement

Pour apprécier l'effet de l'huile essentielle du *Thymus munbyanus subsp coloratus* sur le développement d'*Ephestia kuehniella*, les  $DI_{25}$  (15,38  $\mu$ l/ mL) et  $DI_{50}$  (25,22  $\mu$ l/ mL) correspondant respectivement aux doses d'inhibition 25% et 50% de l'émergence des adultes ont été testées sur les chrysalides nouvellement exuviées (<8) et différents paramètres ont été étudiés : la croissance pondérale des chrysalides, la durée de développement du stade nymphal et la longévité des adultes.

#### 2.3.1. Durée du développement du stade nymphal

Afin d'évaluer la durée de développement du stade nymphal des séries témoins et traitées ( $DI_{25}$  et  $DI_{50}$ ), une observation des chrysalides toutes les 4 h a été réalisée et ce jusqu'à l'émergence des adultes. Pour chaque série, 6 répétitions de 20 insectes chacune ont été réalisées et maintenues dans les conditions d'élevage citées précédemment.

#### 2.3.2. Croissance pondérale

La croissance pondérale d'*E. kuehniella* des séries témoins et traitées à l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* aux deux doses d'inhibition ( $DI_{25}$  et  $DI_{50}$ ) a été évaluée tout au long du stade nymphal (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 et 8 jours) à l'aide d'une balance de précision (Sartorius AG Gottinger, Germany) et 20 insectes ont été utilisés pour chaque série d'expériences.

#### 2.3.3. La longévité des adultes

Les effets de l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* aux deux doses d'inhibition ( $DI_{25}$  et  $DI_{50}$ ) sur la longévité des adultes d'*E. kuehniella*, survivant au traitement, ont été évalués et la mortalité des adultes a été enregistrée quotidiennement.

## 2.4. Impact sur la descendance

Les adultes, mâles et femelles nouvellement exuviés, issus des séries témoins (MT ; FT) et traitées (MDI ; FDI) dont les individus ont survécu au traitement des chrysalides (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) ont été placés dans des boîtes de pétri contenant un milieu nutritif (Farine). Six répétitions de différents types de couples sont réalisés (voir ci-dessous) et après 48 heures, les adultes sont retirés des boîtes de pétri. Le suivi de la génération 1 (G1) est réalisé du stade œuf jusqu'à l'exuviation de l'adulte ; l'effet différé de l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* a pu être évalué en procédant au comptage des œufs, larves de dernier stade (L5), chrysalides et adultes provenant de chaque série de couples. Les différents couples réalisées sont les suivants :

- **Couples 1 : MT x FT** : Mâles Témoins x Femelles Témoins
- **Couples 2 : MDI<sub>25</sub> x FDI<sub>25</sub>** : Mâles DI<sub>25</sub> x Femelles DI<sub>25</sub>
- **Couples 3 : MDI<sub>50</sub> x FDI<sub>50</sub>** : Mâles DI<sub>50</sub> x Femelles DI<sub>50</sub>

## 2.5. Dosage des biomarqueurs

L'HE du *T. munbyanus subsp. coloratus* a été utilisé *in vivo*, par application topique, le jour de l'exuviation nymphale d'*E. kuehniella* aux deux doses d'inhibition de la mue adulte (DI<sub>25</sub> : 15,38 et DI<sub>50</sub> : 25,22 µl/mL). L'effet de HE a été évalué sur l'activité spécifique des Glutathion S Transférases (GSTs), de l'acétylcholinestérase (AChE) et du Malondialdéhyde (MDA) à différents temps et stades (1, 2, 3, 5 et 7 jour pour le stade nymphal et 1, 2 et 3 jours pour le stade adulte).

Par ailleurs, la concentration en protéines totales des différents échantillons, permettant d'évaluer l'activité spécifique, a été préalablement déterminée suivant la méthode de Bradford (1976) (décrite plus loin), afin de pouvoir calculer les différentes activités spécifiques des différents biomarqueurs.

### 2.5.1. Dosage des Glutathion-S-Transférases (GSTs)

Le dosage des GSTs est réalisé selon **Habig et al., (1974)**. Il consiste à fournir aux GSTs des substrats artificiels en général la GSH (Glutathion réduit, 5 mM) et le CDNB (1-chloro 2-4- Dinitrobenzoïque, 1mM). La réaction de conjugaison entraîne la formation d'une molécule

nouvelle, qui absorbe la lumière à une longueur d'onde de 340 nm. Dans le but de préciser l'activité spécifique des GSTs chez le modèle biologique étudié, les chrysalides et les adultes d'*E. kuehniella* des séries témoins et traitées, échantillonnées à différents temps après traitement, sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate (0,1M ; pH6) à l'aide d'un broyeur à ultrasons. L'homogénat obtenu est centrifugé (1300 tours/min pendant 30 min) et le surnageant récupéré servira au dosage enzymatique des GSTs. Le protocole de dosage est réalisé comme suit : A une fraction aliquote du surnageant (0,2 ml) est ajouté 1,2 ml du mélange CDNB-GSH<sub>2</sub> dans un tampon phosphate (0,1M ; pH6). La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions (0,2 ml d'eau distillée remplaçant le surnageant) ; les densités optiques sont mesurées toutes les minutes pendant 5 minutes à 340 nm dans un spectrophotomètre contre un blanc (réglage du spectrophotomètre) contenant 0,2 ml d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant. L'activité spécifique des GSTs, déterminée d'après la formule de **Habig et al., (1974)** suivante :

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

Dans nos résultats, l'activité spécifique est exprimée en  $\mu\text{Mol}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines.

**$\Delta DO$**  : Pente de la droite de régression des densités optiques obtenues à 340 nm.

**$Vt$**  : Volume totale de la cuve (ml) : (1,2 ml du mélange CDNB- GSH + 0,2 ml du surnageant).

**9,6 :  $\text{m Mol}^{-1} \text{ Cm}^{-1}$**  : Coefficient d'extinction du mélange GSH- CDNB (à 340 nm).

**$E$**  : Epaisseur de la cuve = 1 cm.

**$Vs$**  : Volume du surnageant dans la cuve en ml = 0,2 ml.

**mg de protéine** : Quantité de protéines exprimée en mg.

### 2.5.2. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE)

L'acétylcholinestérase une enzyme clés du système nerveux des insectes, catalyse la réaction d'hydrolyse de l'acétylcholine en choline et acide éthanoïque (acétique). Cette enzyme est indispensable au bon fonctionnement des synapses cholinergiques (**Haubruge & Amichot, 1998**).

Les chrysalides et les adultes d'*E. kuehniella*, des séries témoins et traitées, échantillonnées à différents temps après traitement, sont homogénéisés dans 1ml de la solution

détergente D [38,03 mg EGTA (acide éthylène glycol-bis, β-aminoéthyl éther NNN'N' tétra-acétique), 1ml Triton X 100%, 5,845 g NaCl (chlorure de sodium), 80 ml tampon tris (10mM, pH 7)] qui solubilise les membranes. Après centrifugation (5000 trs/ min pendant 5 min), le surnageant est récupéré et servira comme source d'enzyme. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin. Le dosage de l'AChE est réalisé selon la méthode **d'Ellman *et al.* (1961)** sur une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 100 µl de DTNB préparé extemporanément [39,6 mg DTNB, 15 mg CO<sub>3</sub>HNa (bicarbonate de sodium), 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7)] et 1 ml de tampon tris (0,1 M, pH 7). Après 3 à 5 minutes, 100 µl de substrat acétylthiocholine préparé extemporanément [23,6 mg ASCh, 1 ml eau distillée] sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 mn pendant 20 minutes à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc où 100 µl de la solution détergente remplace les 100 µl de surnageant. L'activité spécifique de l'AChE est calculée selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do / mn}{1,36 \times 100^2} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

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

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

**1,36 x 100<sup>2</sup>** : coefficient d'extinction molaire du DTNB (M-1 cm-1).

**Vt** : volume total dans la cuve : 1,3 ml [0,1 ml surnageant + 0,1 ml DTNB + 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 ml acétylthiocholine]. **Vs** : volume du surnageant dans la cuve : 0,1 ml.

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

### 2.5.3. Dosage du Malondialdéhyde (MDA)

Les chrysalides et les adultes nouvellement exuvies d'*E. kuehniella*, des séries témoins et traitées sont prélevées à différents âges. L'essai est conduit avec 12 répétitions. Les individus sont broyés aux ultrasons dans 1 ml de tampon tris-HCl (50 mM, pH 7,5) [1,5137g tris, 0,0730 g EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), 42,78 g sucrose, 250 ml eau distillée]. Une fois l'homogénéisation réalisée, une centrifugation est effectuée pendant 10 min à 10000 tours/min et le surnageant récupéré servira au dosage du malondialdéhyde (MDA). Le dosage est réalisé avec 500 µl du surnageant, additionné de 2,5 ml de TCA (acide trichloroacétique) (100 g TCA et compléter a 1000 ml avec de d'eau distillée). Après chauffage au bain marie a

100°C pendant 15 min et refroidissement dans de la glace, une deuxième centrifugation est effectuée à 10 000 tours/min pendant 10 min. Une fraction aliquote de 2 ml du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) [6,7 g TBA, 1000 ml eau distillée].

Après un second chauffage (100 °C, 15 min) et refroidissement, 1,5 ml de butanol sont rajoutés. Après agitation, une dernière centrifugation (10000 tours/min, 10 min) est réalisée et le surnageant constitué de 1 ml de butanol renfermant le complexe ATB (acide thiobarbiturique) /MDA est récupéré. Le MDA est dosé selon la méthode de **Draper et Hadley (1990)**. La méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre TBA avec le MDA, composé issu de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires, donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 532 nm contre un blanc (tampon tris-HCl). Le taux de MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta D_o}{156} \times \frac{V_t}{V_s} / \text{mg de protéines}$$

**X** : Taux du MDA (mM/mg de protéines).

**DO** : La densité optique obtenue après hydrolyse du substrat à 532 nm.

**156** : Coefficient d'extinction molaire de l'ATB (mM<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup>).

**Vt** : Volume total de la cuve (1ml).

**Vs** : Volume du surnageant utilisé (0,5 ml).

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

### 2.5.4. Dosage des protéines

Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de **Bradford (1976)** qui utilise le bleu brillant de Coomassie G 250 (Fluka, UK) comme réactif et l'albumine de sérum de bœuf (Sigma-Aldrich, USA) (1mg/ml) comme standard. Le dosage des protéines dans les ovaires a été effectué dans une fraction aliquote de 100 µl. La lecture des absorbances est réalisée à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme (**Tab. 2**).

**Tableau 2** : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

Tubes	1	2	3	4	5	6
BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Quantité de protéines (µg)	0	20	40	60	80	100
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

## 2.6. Extraction et dosage des métabolites

Les corps gras des chrysalides témoins et traitées d'*E. kuehniella*, prélevés à 1, 2, 3, 5 et 7 jours et les ovaires des adultes témoins et traitées prélevés à 1, 2, et 3 jours après émergence, ont été pesés puis conservés au froid (-20°C) dans 1 mL d'acide trichloracétique (TCA à 20% d'eau distillée), 12 répétitions sont réalisées par série.

L'extraction des principaux constituants biochimiques d'*E. kuehniella* a été réalisée selon le procédé de **Shibko et al. (1966)**. Après un broyage aux ultrasons (Sonifier B-30) et centrifugation (5000 tours/min pendant 10 mn), le surnageant I est récupéré et servira au dosage des glucides totaux. Au culot 1, on ajoute 1ml d'un mélange éther/chloroforme (1V/1V), après une seconde centrifugation (5000 tours/min pendant 10 min), le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (**Goldsworthy et al., 1972**) et le culot II dissout dans la soude (0,1 N), servira pour la quantification des protéines selon (**Bradford, 1976**).

### 2.6.1. Dosage des protéines

Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de **Bradford (1976)**, décrite précédemment (2.5.4.).

### 2.6.2. Dosage des glucides

Le dosage des glucides a été réalisé selon la technique de **Duchateau & Florkin. (1959)**. Elle consiste à additionner 4 ml de réactif d'anthrone à 100 µl du surnageant I contenu dans un tube à essai et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 mn. Une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucides présente dans l'échantillon. La lecture de l'absorbance est faite à l'aide d'un spectrophotomètre (UV-Visible-Proche IR, ES11430) à une longueur d'onde de 620 nm. La quantification est effectuée à partir d'une gamme d'étalonnage (**Tab. 3**), réalisée avec une solution mère de glucose (Sigma-Aldrich, USA) (1 mg/ml d'eau distillée) comme standard.

**Tableau 3 :** Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

### 2.6.3. Dosage des lipides

Le taux de lipides est déterminé selon la méthode de **Goldsworthy et al. (1972)** qui utilise la vanilline [0,38 g vanilline, 55 ml eau distillée, 195 ml acide orthophosphorique 85%] comme réactif et une solution mère de lipides à 2,5 mg/ml [2,5 mg d'huile de table (ELIO), 1 ml éther/chloroforme (v/v)] comme standard. Le dosage est réalisé sur des prises aliquotes de 100 µl des extraits lipidiques ou de la gamme étalon auxquelles on ajoute 1 ml d'acide sulfurique (96 %). Après agitation et chauffage dans des bains à sec à 100 °C pendant 10 mn, puis refroidissement, 200 µl sont repris auxquels sont ajoutés 2,5 ml du réactif vanilline. Le mélange une fois agité et mis à l'obscurité pendant 30 minutes, une coloration rose se développe dont l'intensité est lue à une longueur d'onde de 530 nm (**Tab. 4**).

**Tableau 4 :** Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.

Tubes	1	2	3	4	5	6
<b>Lipide (µl)</b>	<b>0</b>	<b>20</b>	<b>40</b>	<b>60</b>	<b>80</b>	<b>100</b>
<b>Ether/Chloroforme (µl)</b>	<b>100</b>	<b>80</b>	<b>60</b>	<b>40</b>	<b>20</b>	<b>0</b>
<b>Quantité de lipides (µg)</b>	<b>0</b>	<b>50</b>	<b>100</b>	<b>150</b>	<b>200</b>	<b>250</b>
<b>Réactif Vanilline (ml)</b>	<b>2,5</b>	<b>2,5</b>	<b>2,5</b>	<b>2,5</b>	<b>2,5</b>	<b>2,5</b>

### 2.7. Détermination de l'indice d'épuisement des réserves nutritives

Les valeurs du contenu en glucides, lipides et protéines (µg/individu) sont converties en joules (Clements, 1992) et l'indice d'épuisements des réserves nutritives est calculé selon la formule suivante :

$$\text{NDI (\%)} = [(C - T)/(C + T)] \times 100$$

**NDI (Nutrition Depletion Index) : Indice d'épuisements des réserves nutritives**

**C : réserves nutritives totales chez les témoins.**

**T : réserves nutritives totales chez les traités.**

### 2.8. Extraction et dosage des vitellogénines et des vitellines

Les femelles des séries témoins et traitées à l'HE aux deux doses sublétales et létales (DI<sub>25</sub>, DI<sub>50</sub>) sont disséquées sous une loupe binoculaire : Les corps gras ont été prélevés à partir des chrysalides femelles des séries témoins et traitées à différents âges (0, 1, 3, 5 et 7j) pour le dosage des vitellogénines. Pour le dosage des vitellines, les ovaires des adultes femelles, nouvellement émergées (0 jour), des séries témoins et traitées, sont disséquées puis prélevés. Les échantillons biologiques sont pesés puis conservés dans un tampon Tris-HCL-NaCl (pH 7,4).

L'extraction des vitellogénines et vitellines, est réalisée selon **Postlethwait *et al.*, (1980)** et **Fabre *et al.*, (1990)**. Les échantillons sont extraits après une homogénéisation dans le tampon Tris-HCl<sub>1</sub> puis une centrifugation à 5000 tours/mn pendant 10 minutes. Le dosage des vitellogénines et des vitellines (en fonction des échantillons) a été réalisé selon la méthode de **Bradford (1976)**. Les résultats sont exprimés en µg/mg de tissu. Les expérimentations sont conduites avec 12 répétitions par âge pour chaque série.

### 2.9. Etude du potentiel reproducteur

Les adultes mâles et femelles, nouvellement émergées, provenant des chrysalides d'*E. kuehniella* de la G0, témoins et traitées séparément aux deux doses (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) de l'HE du *T.munbyanus subsp coloratus*, sont accouplées. Les différentes séries de couples de la G0 et G1 sont maintenues dans des conditions contrôlées et un suivi régulier a permis de déterminer les différents paramètres suivants :

- Durée de la période préovipositaire : nombre de jours entre l'émergence et le début de la ponte.
- Durée de la période ovipositaire ou durée (en jours) de la ponte.
- Fécondité des femelles : nombre total d'œufs pondus par femelle
- Viabilité des œufs ou pourcentage d'éclosion : nombre d'œufs éclos sur le nombre total d'œufs pondus par femelle.

### 2.10. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont représentés par la moyenne suivie de l'écart type pour chaque groupe d'expérience ( $m \pm SD$ ). Pour toutes les séries de données l'égalité des variances a été confirmée grâce aux tests de Bartlett et de Brown-Forsythe avant l'utilisation des tests paramétriques. La régression linéaire et non linéaire, l'analyse de variance (un et deux critères de classification) ou encore le test HSD (Honest Significant Difference) de Tukey, ont été utilisés pour mettre en évidence des différences entre les échantillons mais aussi pour définir des groupes ou des classes selon leurs effets (classement des doses). Les tests log-rank Mantel-Cox et Kaplan-Meier sont utilisés pour traiter les données de la survie.

Tous les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel GraphPad Prism d'analyse et de traitement statistique des données version 7.01 pour Windows XP.

# RESULTATS

### 3. RESULTATS

#### 3.1. Rendement de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus*

Le rendement moyen en HE a été calculé après hydrodistillation de la matière végétale sèche obtenue de la partie aérienne de la plante *Thymus munbyanus subsp coloratus*, ainsi que les caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle obtenue, sont présentés dans le **tableau 5**.

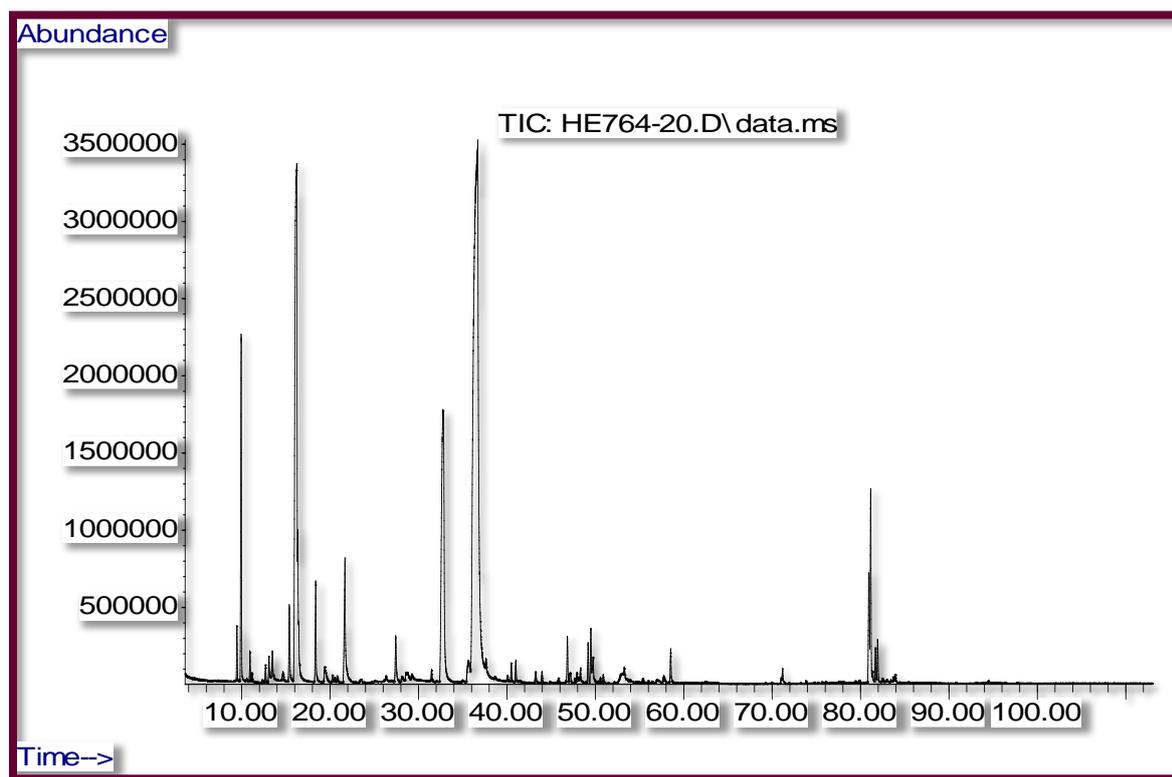
**Tableau 5** : Rendement et caractéristiques organoleptiques de l'huile essentielle extraite de *T. munbyanus subsp coloratus*.

<b>Plante</b>	<i>Thymus Munbyanus subsp coloratus</i>
<b>Rendement</b>	2,56 ± 0,34 %
<b>Couleur</b>	Orange vif
<b>Odeur</b>	Agréable
<b>Saveur</b>	Piquante
<b>Solubilité</b>	Aspect très visqueux.

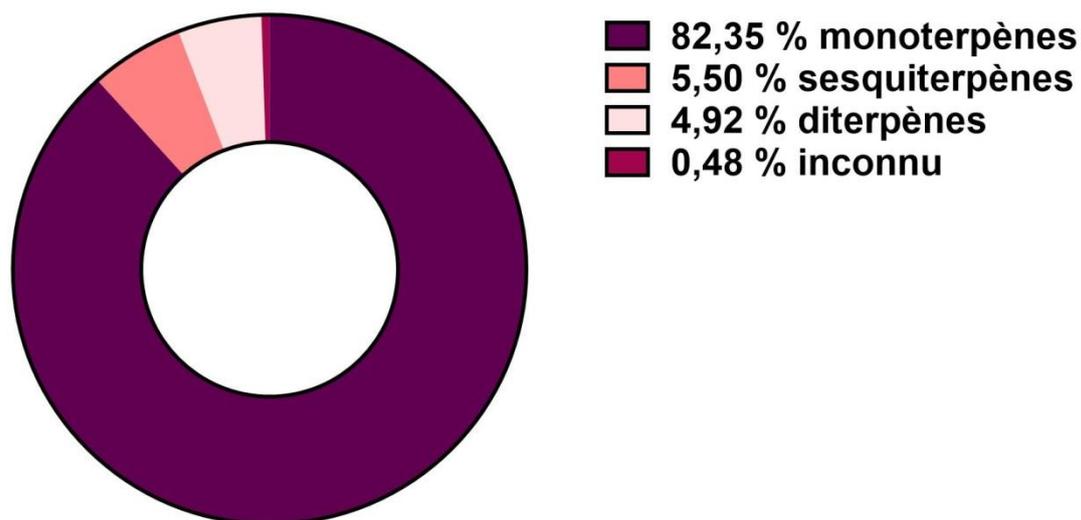
#### 3.2. Composition chimique de l'HE extraite du *Thymus munbyanus subsp. Coloratus*

L'identification des différents constituants de l'huile et la détermination de la concentration de ses composés ainsi que leurs temps de rétention ont été réalisées par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-SM) (**Tab. 6 ; Fig. 16**). L'analyse chimique révèle que l'huile essentielle de *T. munbyanus subsp coloratus* est constituée de cinquante-quatre composés représentant 93,27 % de la totalité des constituants détectés et appartenant à trois familles (**Fig. 17**). Le profil est caractérisé par une forte teneur en cavacrol (39,11 %), suivi du paracymène (15,47 %) puis de la thymoquinone (10,59 %), d'autres composés comme le  $\alpha$ -pinène (03,92 %), le linalol (02,37 %) et le D-limonène (02,34 %) ont été identifiés comme composants mineurs.

La famille monoterpénique prédominante avec un taux de 82,35 %, constituée majoritairement de monoterpènes oxygénés (55,86%) et de monoterpènes hydrocarbonés (26,49%). Quant aux sesquiterpènes qui représentent un taux de 5,50 %, ils contiennent deux familles, les oxygénés avec un taux de 1,43 % et les hydrocarbonés représentés par un pourcentage de 4,06 %. La fraction diterpénique de cette huile représente 4,92% de la totalité de l'huile.



**Figure 16.** Chromatogramme CPG-SM de l'huile essentielle extraite de *T. munbyanus subsp coloratus* (abondance en fonction du temps de rétention en minutes).



**Total 93,25 %**

**Figure 17.** Répartition (%) des familles de constituants présentes dans l'huile essentielle de *Thymus munbyanus subsp coloratus*.

**Tableau 6 :** Composition chimique de l'huile essentielle des parties aériennes de *Thymus munbyanus subsp coloratus* identifiée par CPG/SM.

N°	Composés chimiques	Concentration (%)	TR (Min)	IR (lit)	IR (exp)
1	$\alpha$ -Thujene	0,583	9,46	925	925
2	$\alpha$ -Pinene	3,928	9,94	939	933
3	Camphene	0,330	10,94	954	949
4	Thuja-2,4(10)-diene	0,117	11,18	960	953
5	$\beta$ -Pinene	0,200	12,70	979	977
6	1-Octen-3-ol	0,379	13,08	979	984
7	$\beta$ -Myrcene	0,644	13,48	990	990
8	$\alpha$ -Phellandrene	0,264	14,54	1002	1006
9	$\alpha$ -Terpinene	1,107	15,39	1017	1018
10	para- Cymene	15,470	16,22	1024	1030
11	D-Limonene	2,344	16,30	1029	1031
12	$\gamma$ -Terpinene	1,293	18,36	1059	1059
13	cis-Sabinene hydrate	0,478	19,38	1070	1073
14	Terpinolene	0,107	20,27	1088	1086

15	trans-Linalool oxide	0,081	20,54	1086	1089
16	p-Cymenene	0,104	20,79	1091	1093
17	Linalool	2,370	21,50	1096	1103
18	Isomenthone	0,183	26,32	1162	1169
19	Terpinen-4-ol	0,800	27,42	1177	1184
20	p-Cymen-8-ol	0,199	28,10	1182	1193
21	cis-Dihydro carvone	0,289	28,62	1192	1200
22	$\gamma$ -terpineol	0,210	28,78	1199	1202
23	trans-Dihydro carvone	0,337	29,24	1200	1209
24	Carvacrol, methyl ether	0,221	31,5	1244	1241
25	Thymoquinone	10,595	32,70	1252	1258
26	Thymol	0,815	35,49	1290	1298
27	Cavacrol	39,117	36,20	1299	1309
28	Piperitenone	0,171	38,65	1340	1346
29	Cyclosativene	0,158	40,07	1371	1367
30	$\alpha$ -Copaene	0,300	40,50	1376	1374
31	$\beta$ -Bourbonene	0,326	41	1388	1381
32	(E)-Caryophyllene	0,198	43,25	1419	1416
33	$\beta$ -Copaene	0,165	43,97	1432	1428
34	Alloaromadendrene	0,092	45,81	1460	1457
35	$\gamma$ -Muurolene	0,566	46,84	1479	1474
36	Germacrene D	0,227	47,17	1481	1479
37	cis- $\beta$ -guaiene	0,080	47,68	1493	1487
38	trans-Muurola-4(14),5-diene	0,147	47,92	1493	1491
39	$\alpha$ -Selinene	0,082	48,10	1498	1494
40	$\gamma$ -Cadinene	0,484	49,18	1513	1512
41	trans-Calamenene	0,562	49,49	1521	1517
42	$\delta$ -Cadinene	0,672	49,74	1522	1521
43	trans-Cadina-1.4-diene	0,042	50,34	1534	1531
44	$\alpha$ -Cadinene	0,084	50,54	1538	1535
45	$\alpha$ -Calacorene	0,124	50,90	1545	1541
46	Cadala-1(10),3,8-triene	0,034	51,18	--	1546
47	Tetramethylhydroquinone	0,487	53	1555	1576

48	$\alpha$ -Cadinol	0,200	57,75	1654	1660
49	Cadalene	0,511	58,25	1676	1669
50	Cryptomeridiol	0,067	71,02	1813	1813
51	cis-Totarol methy ether	1,487	80,94	2208	2224
52	cis-Totarol methy ether	2,432	81,15	2237	2229
53	4-epi-abiatal	0,430	81,69	2298	2241
54	abiatal	0,580	81,94	2313	2247
	<b>Total monoterpènes</b>	<b>82,357</b>			
	<b>Total sesquiterpènes</b>	<b>5,50</b>			
	<b>Diterpènes</b>	<b>4,929</b>			
	<b>Inconnu</b>	<b>0,487</b>			
	<b>Total identifiés</b>	<b>93,273</b>			
	<b>Composés non identifiés</b>	<b>6,727</b>			

TR (Min) : Temps de rétention en minute

IR (lit) : Indice de rétention en littérature

IR (exp) : Indice de rétention expérimental

### 3.3. Toxicité de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus*

L'efficacité de l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* a été testée, par application topique, sur des chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* Zeller. L'inhibition de l'exuviation a été relevée lors de l'émergence des l'adultes. Les doses, correspondant à 25 et 50 % de l'inhibition de l'exuviation adulte (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>), caractérisant la toxicité de l'HE, ont été déterminées

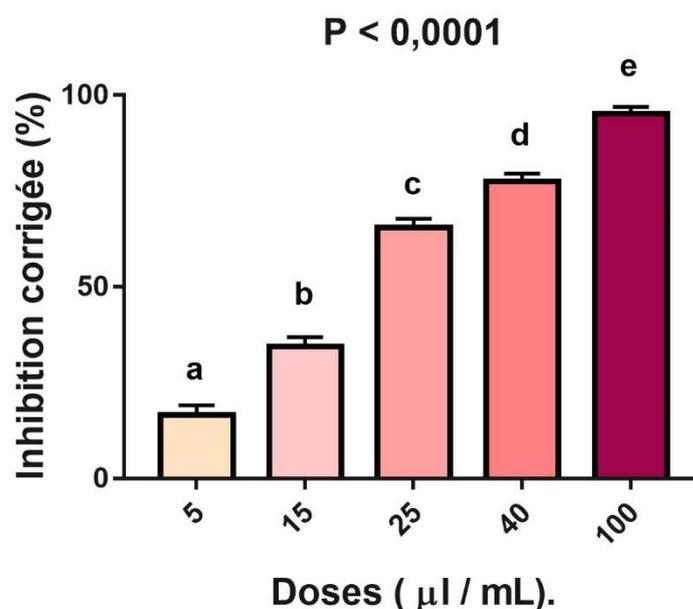
L'HE de *T. munbyanus* administré par application topique à différentes doses (5, 15, 25, 40 et 100 ul/mL) le jour de l'exuviation nymphale d'*E. kuehniella*, a induit une inhibition de l'émergence adulte dont les pourcentages sont précisés (Tab. 7 ; Fig. 18). L'inhibition de la mue adulte chez les témoins, de l'ordre de  $7,77 \pm 1,92$  % (Inhibition naturelle) augmente, chez les séries traitées significativement avec une relation dose réponse. Les pourcentages d'inhibition observées, chez les séries traitées, ont été corrigées par la formule d'Abbott (1925) afin d'éliminer le pourcentage d'inhibition naturelle (Tab. 7).

En effet, les résultats révèlent que les pourcentages d'inhibition corrigée de l'émergence des adultes variaient est de l'ordre de  $16,66 \pm 1,77$  % pour la dose la plus faible (5 ul/mL) est

augmentent graduellement et sont de  $93,90 \pm 0,49$  % pour la dose testée la plus élevée (100  $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) (Fig. 19).

**Tableau 7 :** Effets de l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus*, administrée *in vivo*, par application topique à différentes doses ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) le jour de l'exuviation nymphale chez *E. kuehniella* : Inhibition observée (%) de la mue adulte. ( $m \pm \text{SD}$  ;  $n = 3$  répétitions de 30 individus chacune).

Répétition	Témoins	5	15	25	40	100
R1	6,66	14,89	34,47	53,9	78,72	94,98
R2	6,66	16,66	32,53	57,44	75,18	94,92
R3	10	18,43	36,17	55,35	75,18	91,88
$m \pm \text{SD}$	$7,77 \pm 1,92$	$16,66 \pm 1,77$	$34,39 \pm 2,51$	$56,56 \pm 2,34$	$76,35 \pm 2,04$	$93,90 \pm 0,49$



**Figure 18.** Effet de l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* ( $\mu\text{L}/\text{mL}$ ) administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* sur l'inhibition de l'exuviation des adultes (%) ( $m \pm \text{SD}$  ;  $n = 3$  répétitions contenant chacune 30 chrysalides ; les valeurs indiquées par des lettres différentes sont significativement différentes par le test HSD à  $p < 0,0001$ ).

L'analyse statistique révèle un effet dose significatif ( $F_{4, 10} = 609,6$  ;  $p < 0,0001$ ) et le test HSD de Tukey a montré une augmentation significative de la mortalité avec des doses

croissantes, différentes lettres minuscules indiquaient une différence significative entre l'inhibition corrigée ( $p < 0,0001$ ) (**Tab. 8 ; Fig. 18**). Les doses d'inhibition (DI) et la pente de Hill enregistrée avec leurs limites de référence (95 %) ont été répertoriées dans **le tableau 9**.

**Tableau 8 :** Effet de l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* ( $\mu\text{l}/\text{mL}$ ) administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* sur l'inhibition de l'exuviation des adultes (%): Analyse de la variance à un critère de classification ( $m \pm SD$  ;  $n = 3$  répétitions contenant chacune 30 chrysalides).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	12269	4	3067	609,6	<0,0001***
Erreur résiduelle	50,31	10	5,031		
Total	12319	14			

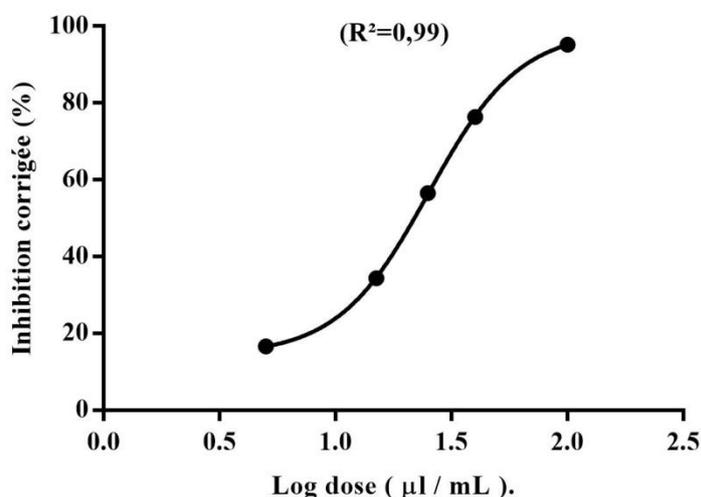
\*\*\* : hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

**Tableau 9 :** Effets de l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus*, administrée *in vivo*, par application topique à différentes doses ( $\mu\text{l}/\text{mL}$ ) le jour de l'exuviation nymphale chez *E. kuehniella*: Détermination des doses d'inhibition de la mue adulte (DI en  $\mu\text{l}/\text{mL}$ ) et leurs intervalles de confiance à 95%.

Doses	Valeurs ( $\mu\text{l} / \text{mL}$ )	Intervalles de confiance (95%)	R <sup>2</sup>
DI <sub>10</sub>	9,38	[4,93 – 13,03]	0,99
DI <sub>25</sub>	15,38	[10,92 - 18,92]	
DI <sub>50</sub>	25,22	[21,34 - 30,63]	
DI <sub>90</sub>	67,83	[47,76 – 145,6]	
Hill Slope	2,221	[1,324 - 3,2]	

La régression non linéaire a permis d'obtenir la courbe dose-réponse chez les chrysalides d'*E. kuehniella* ; cette courbe, exprimant le pourcentage d'inhibition corrigée en fonction du logarithme de la dose de l'HE du *T.munyanus* présente un coefficient de

détermination élevé ( $R^2= 0,99$ ). Cette valeur révèle une liaison très forte entre le pourcentage d'inhibition corrigée et le logarithme de la dose (**Fig. 19**).



**Figure 19.** Effets de l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus*, administrée *in vivo*, par application topique à différentes doses ( $\mu\text{l}/\text{mL}$ ) le jour de l'exuviation nymphale chez *E. kuehniella* : la courbe dose - réponse exprime la mortalité corrigée pour le logarithme des concentrations d'huile du *Thymus munbyanus subsp coloratus* ( $\mu\text{l}/\text{mL}$ ).

### 3.4. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur le développement d'*E. kuehniella*

#### 3.4.1. Effet sur la durée de développement nymphal

L'huile essentielle du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administré *in vivo* aux deux doses d'inhibition  $DI_{25}$  et  $DI_{50}$  par application topique le jour de l'exuviation nymphal d'*E. kuehniella* diminue significativement la durée de développement nymphal (**Fig. 20**).

En effet, la durée du développement des chrysalides varie suivant une relation dose-réponse ( $p < 0,001$ ) : les valeurs moyennes enregistrées sont de  $7,83 \pm 0,40$  jours pour les témoins,  $7,5 \pm 0,24$  jours pour la  $DI_{25}$  ( $15,37\mu\text{l}/\text{mL}$ ) et  $7,08 \pm 0,20$  jours pour la  $DI_{50}$  ( $25,22\mu\text{l}/\text{mL}$ ). L'HE induit donc une réduction significative de la durée de développement (**Fig. 20**).



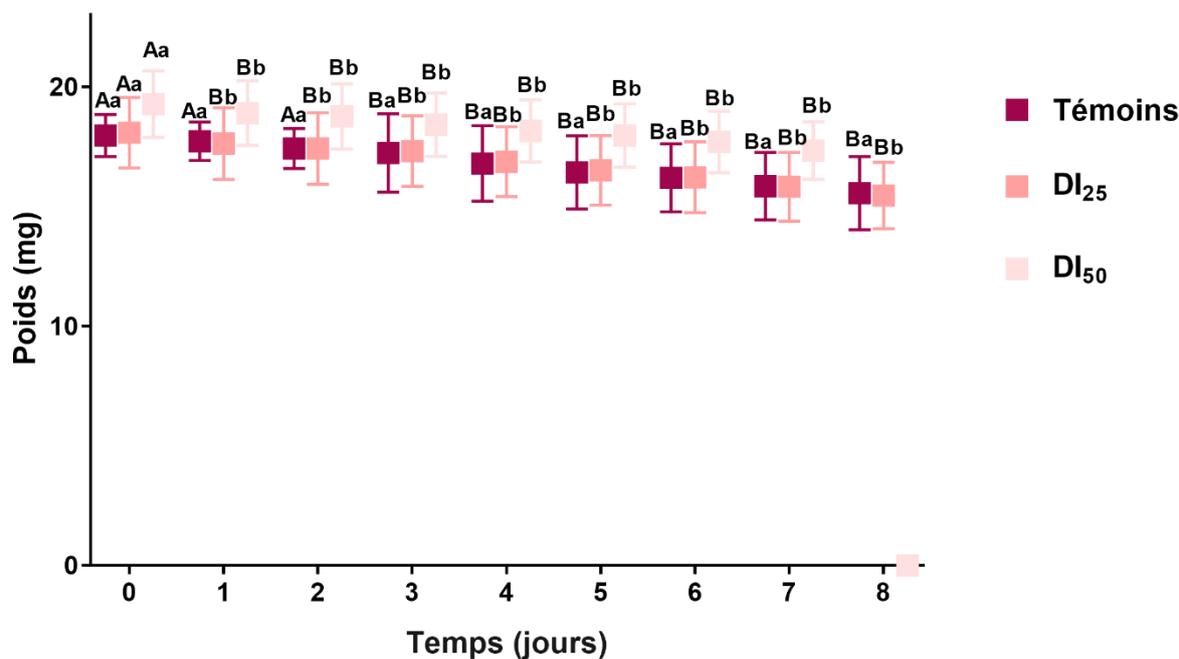
**Figure 20.** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur la durée de développement du stade nymphal (jours) ( $m \pm SD$ ,  $n = 6$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus de la même série indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

### 3.4.2. Effet de l'HE de *Thymus munbyanus* sur la croissance pondérale

Le poids des chrysalides diminue au cours du temps durant la métamorphose (**Fig. 21**).

Chez les séries témoins, le poids des chrysalides à 0 jour, est de l'ordre de  $17,96 \pm 2,87$  mg et les valeurs restent comparables jusqu'à l'exuviation adulte ( $p > 0,05$ ). Chez les séries traitées à l'Huile essentielle le poids des chrysalides à 0 jour est de l'ordre de  $18,08 \pm 2,47$  et  $19,27 \pm 3,38$  mg pour les deux doses d'inhibition testées DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub> respectivement ; une diminution significative est notée dès le second jour chez la chrysalide et ce, jusqu'à l'émergence des adultes ( $p < 0,0001$ ) (**Fig. 21**).

La comparaison entre les séries témoins et traitées indique que l'HE administrée, le jour de l'exuviation nymphale de *E. kuehniella*, induit une diminution dans le poids de chrysalides le 2<sup>ème</sup> ( $p < 0,0001$ ) et 3<sup>ème</sup> jour ( $p < 0,0001$ ) après traitement. Il n'existe aucune différence significative ( $p > 0,05$ ) entre les séries traitées. L'analyse de la variance à deux critères de classification effectuée entre les séries témoins et traitées (**Tab. 10**) révèle un effet âge, un effet traitement cependant aucun effet d'interaction âge traitement n'est noté ( $P=0,4166$ ).



**Figure 21.** Effet de l’HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur la croissance pondérale (mg) au cours du stade nymphal chez *E. kuehniella*. (m ± SD ; n = 12).

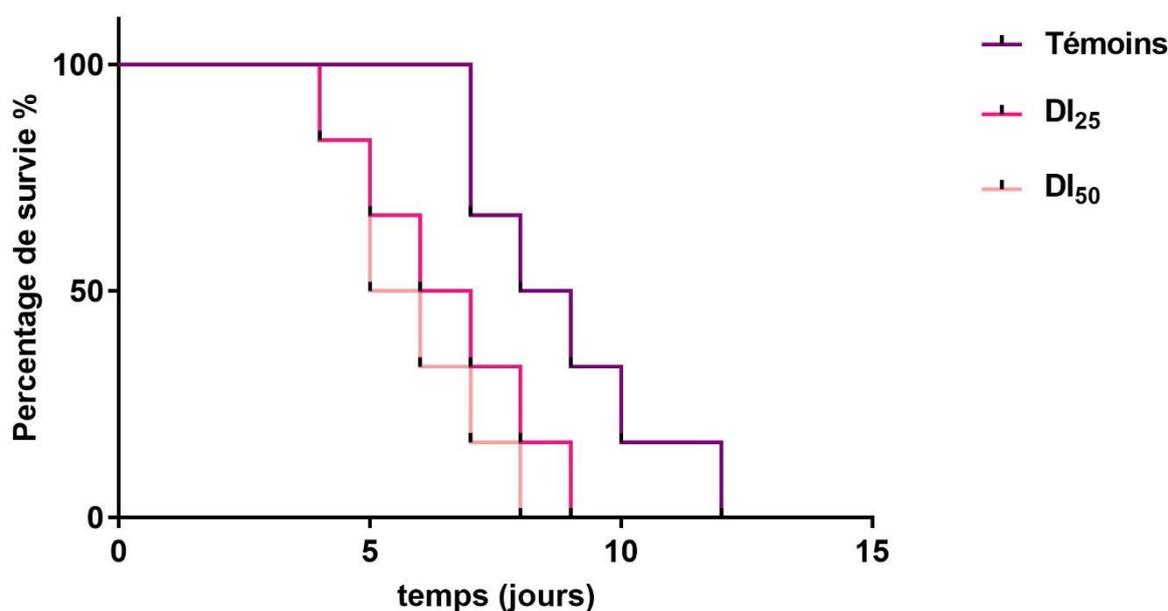
**Tableau 10 :** Effet de l’HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur la croissance pondérale au stade nymphal au cours du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P
Traitement	13,35	2	6,673	0,8797	=0,4166
Temps (jours)	1156	8	144,5	19,05	<0,0001***
Interaction	1348	16	84,27	11,11	<0,0001***
Erreur résiduelle	1434	189	7,586		

\*\*\* : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.4.3. Effet sur la durée de survie des adultes (la longévité)

L'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* testée par application topique, sur des chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella*. Au cours du stade adulte d'*E. kuehniella* entraîne une réduction de la durée de survie des adultes (test du log-rank,  $\chi^2 = 6,609$  ;  $dl = 1$  ;  $p = 0,0101$ ). La mortalité enregistrée est dépendante de la dose administrée (**Fig. 22**). Chez les adultes témoins, le temps léthal 50 (TL<sub>50</sub>) est de 8,5 jours, pour la DI<sub>25</sub> (15,38  $\mu$ l/mL) 6,5 jours et 5,5 jours pour DI<sub>50</sub> (25,22  $\mu$ l/mL) (**Fig. 22**).



**Figure 22.** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur la longévité des adultes au stade adulte (jours) ( $m \pm SD$ ,  $n = 6$ ).

### 3.5. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur les biomarqueurs

L'HE du *T. munbyanus subsp. coloratus* a été utilisé *in vivo*, par application topique, le jour de l'exuviation nymphale d'*E. kuehniella* aux deux doses d'inhibition de la mue adulte (DI<sub>25</sub>: 15,38 et DI<sub>50</sub>: 25,22  $\mu$ l/mL). L'effet de cette HE a été évalué sur l'activité spécifique des Glutathion S Transférases (GSTs), de l'acétylcholinestérase (AChE) et du Malondialdéhyde (MDA) à différents temps et stades (1, 2, 3, 5 et 7 jour pour stade nymphal ; 1, 2 et 3 jours le stade adulte) après traitement.

Les résultats sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéines ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines) pour GSTs et AChE et en micromoles par milligramme de protéines ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) pour MDA.

### 3.5.1. Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur l'activité spécifique des Glutathion S-Transférases (GSTs)

Chez les séries témoins, les valeurs de l'activité spécifique des GSTs pour le stade nymphal sont de l'ordre  $0,0689 \pm 0,0014$   $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines au premier jour, une légère diminution est noté au 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> jour ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ) ; une augmentation significative est notée ( $p < 0,0001$ ) avec des valeurs moyennes de  $0,0699 \pm 0,0036$  et  $0,0875 \pm 0,0012$   $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines respectivement pour le 5<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> jour. Toute fois pour le stade adulte les valeurs de l'activité spécifique des GSTs sont de l'ordre de  $0,0666 \pm 0,005$  pour le premier jour après l'émergence cependant une diminution significative ( $p < 0,0001$ ) est enregistré aux 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> jour avec des valeurs similaires de l'ordre de  $0,0449 \pm 0,0014$   $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines (**Fig. 23**).

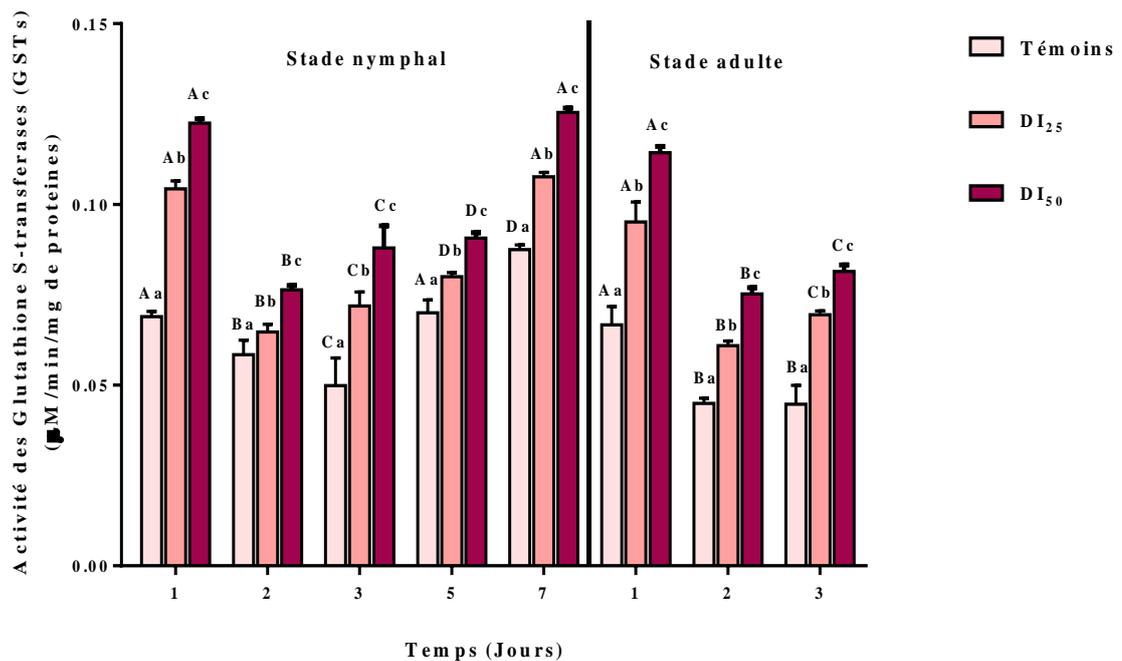
Les valeurs de l'activité spécifique des GSTs chez les séries traitées au stade nymphal à la  $\text{DI}_{25}$  sont de l'ordre  $0,104 \pm 0,0021$   $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines au premier jour ( $p < 0,0001$ ). Les valeurs restent hautement significative par rapport aux témoins mais similaires entre elles et ceux aux 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> jours ( $p < 0,0001$ ). En effet une augmentation très hautement significative est ensuite notée aux 7<sup>ème</sup> jours après traitement ( $p = 0,0001$ ) ( $0,1076 \pm 0,0011$   $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines).

Au stade adulte une augmentation significative est noté dès le premier jour après l'émergence des adultes avec une valeur moyenne de  $0,09516 \pm 0,0055$   $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ , pour les 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> jour une diminution est enregistré par rapport au premier jour ( $p < 0,0001$ ). Les séries traitées  $\text{DI}_{25}$  et  $\text{DI}_{50}$ , présentent la même évolution durant les deux stades, nymphal et adulte. La comparaison entre les séries témoins et traités montre que l'HE induit, une augmentation hautement significative de l'activité spécifique des GSTs chez les chrysalides d'*E. kuehniella* tout au long du stade nymphal ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ) pour les  $\text{DI}_{25}$  et la  $\text{DI}_{50}$  respectivement (**Fig. 23**).

L'activité spécifique des GSTs se poursuit chez les adultes d'*E. kuehniella* après leur émergence et ce à partir du premier jour ( $p = 0,004$  ;  $p < 0,0001$ ), 2<sup>ème</sup> jour ( $p = 0,004$  ;  $p <$

0,0001) et 3<sup>ème</sup> jour ( $p = 0,004$  ;  $p < 0,0001$ ) pour les deux doses testées. En effet, l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* agit avec un effet dose réponse. Les valeurs obtenus montrent que l'HE entraine une induction du processus de détoxification dès le premier jour du stade nymphal après traitement et se poursuit jusqu'au stade adulte.

L'analyse de variance a deux critères de classification confirme ces résultats et indique un effet significatif de dose ( $p < 0,0001$ ), de temps ( $p < 0,0001$ ) et d'interaction dose temps ( $p < 0,0001$ ) (Tab. 11).



**Figure 23.** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur l'activité des GSTs ( $\mu\text{M} / \text{min} / \text{mg}$  de protéine) au stade nymphal pendant la métamorphose et le stade adulte, au fil du temps (jours) ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

**Tableau 11 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur l'activité des GSTs ( $\mu\text{M} / \text{min} / \text{mg}$  de protéine) au stade nymphal pendant la métamorphose et au stade adulte, au fil du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	0,06048	2	0,03024	2787	<0,0001***
Temps	0,0756	7	0,0108	995,2	<0,0001***
Interaction	0,007039	14	0,0005028	46,33	<0,0001***
Erreur résiduelle	0,002865	264	1,085e-005		

\*\*\* : hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.5.2. Effet l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE)

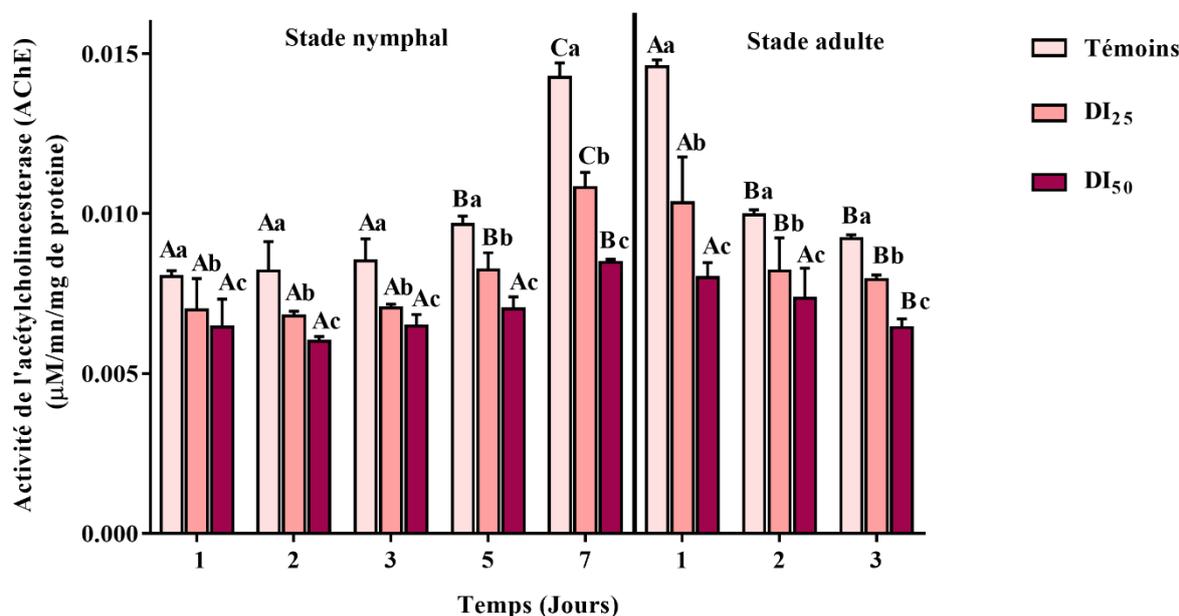
Chez les séries témoins, les valeurs de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) durant le stade nymphal indique une augmentation significative ( $0,008 \pm 0,0001 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines ) au premier jour, ces valeurs restent stables aux 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> et 5<sup>ème</sup> jours ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ) ; au 7<sup>ème</sup> jours une augmentation est notée ( $p < 0,0001$ ) avec des valeurs moyennes de  $0,0142 \pm 0,0004 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines. Toute fois pour le stade adulte les valeurs de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) sont de l'ordre de  $0,0145 \pm 0,0002$  pour le premier jour après l'émergence cependant une diminution est enregistré aux 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> jours avec des valeurs similaires  $0,0099 \pm 0,0001 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines (**Fig. 24**).

Les valeurs de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) chez les séries traitées au stade nymphal à la DI<sub>25</sub> sont de l'ordre  $0,0069 \pm 0,0009 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines au premier jour, en effet c'est une diminution hautement significative ( $p < 0,0001$ ). Les valeurs restent significativement basses aux 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> jours ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ). Une augmentation hautement significative est ensuite notée au 5<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> jours après traitement respectivement  $0,0082 \pm 0,0005$  et  $0,0108 \pm 0,0004 \mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéines. Au stade adulte une augmentation significative est noté au 1<sup>er</sup> jour après émergence des adultes avec une valeur

moyenne de  $0,0103 \pm 0,0014$ , dans les jours qui suivent une diminution est enregistrée comparativement au premier jour ( $p < 0,0001$ ). Les séries traitées à la  $DI_{25}$  et la  $DI_{50}$ , présentent la même évolution et ce pour les deux stades nymphale et adulte.

La comparaison entre les séries témoins et traités montre que l'HE induit, une diminution hautement significative de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) chez les chrysalides et les adultes d'*E. kuehniella* tout au long du stade nymphal et adulte ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ) pour les  $DI_{25}$  et la  $DI_{50}$  respectivement. En effet, l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* agit avec un effet dose réponse. Les valeurs obtenus montrent que l'HE entraîne une neurotoxicité qui se traduit par une réduction de l'activité de l'acétylcholinestérase (AChE) dès le premier jour après traitement du stade nymphal et se poursuit jusqu'au stade adulte (**Fig. 24**).

L'analyse de variance a deux critères de classification confirme ces résultats et indique un effet significatif en fonction de la dose ( $p < 0,0001$ ), du temps ( $p < 0,0001$ ) et d'interaction dose temps de ( $p < 0,0001$ ) (**Tab. 12**).



**Figure 24.** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* ( $DI_{25}$  et  $DI_{50}$ ) sur l'activité AChE ( $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$  de protéine) au stade nymphal pendant la métamorphose et au stade adulte, au fil du temps (jours) ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

**Tableau 12 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur l'activité AChE (µM/min/mg de protéine) au stade nymphal pendant la métamorphose et au stade adulte, au fil du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	0,0005225	2	0,0002612	720,5	<0,0001 ***
Temps	0,0006875	7	9,821e-005	270,9	<0,0001 ***
Interaction	0,0001492	14	1,066e-005	29,4	<0,0001 ***
Erreur résiduelle	9,572e-005	264	3,626e-007		

\*\*\* : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.5.3. Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur le taux du malondialdéhyde (MDA)

Les taux du Malondialdéhyde (MDA), un biomarqueur de la peroxydation lipidique, ont été déterminés chez les séries témoins et traitées au cours de deux stades nymphal et adulte après traitement à l'huile essentielle de *Thymus munbyanus subsp coloratus* aux deux doses testées (ID<sub>25</sub> et ID<sub>50</sub>) par application topique sur les chrysalides nouvellement excuviées d'*E. kuehniella* selon la méthode de **Draper et Hadley (1990)**.

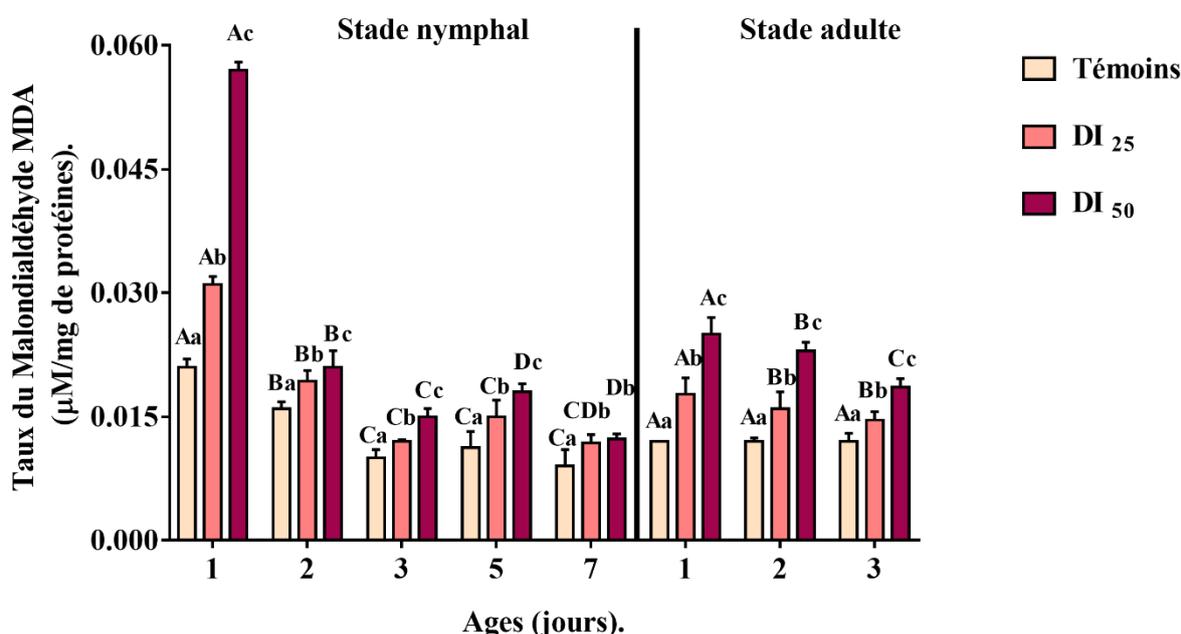
Chez les témoins, le taux du MDA diminue significativement (p < 0,0001) au cours du temps pour le stade nymphal alors qu'aucune variation significative n'est enregistrée pour le stade adulte au cours du temps (p > 0,05), les séries traitées montrent une augmentation significative au premier jour après traitement avec les 2 doses (0,03 ± 0,002 et 0,057 ± 0,002 µM/mg de protéines respectivement DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub> (p < 0,0001 ; p < 0,0001)). Les taux diminuent de manière significative (p < 0,0001) au 2ème jour du stade nymphal et restent stable durant les autres jours (3<sup>ème</sup>, 5<sup>ème</sup> et 7<sup>ème</sup> jours du stade nymphal) pour les deux doses d'inhibition testées DI<sub>25</sub> et la DI<sub>50</sub> (0,0118 ± 0,0017 µM/mg de protéines ; 0,0123 ± 0,0006 µM/mg de protéines) (**Fig. 25**).

Au cours du stade adulte, une augmentation significative est enregistrée dès le premier jour après l'émergence des adultes pour les deux doses testées (0,017 ± 0,002 µM/mg de

protéines et  $0,025 \pm 0,002 \mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) puis les taux diminuent aux 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> jours du stade adulte ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ) pour la DI<sub>25</sub> et la DI<sub>50</sub> respectivement.

La comparaison entre les séries témoins et traités montre que l'huile essentielle de *T. munbyanus* induit, une augmentation hautement significative des taux du MDA chez les chrysalides tout au long du développement nymphal ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ) pour la DI<sub>25</sub> et la DI<sub>50</sub> respectivement et chez les adultes d'*E. kuehniella* au premier, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> jours ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ). Par ailleurs *T. munbyanus* agit avec un effet dose réponse au premier et 2<sup>ème</sup> jour ( $p < 0,0001$ ) pour le stade chrysalides et au premier, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> pour le stade adulte ( $p < 0,0001$ ) (**Fig. 25**). Les valeurs obtenues montrent que l'HE entraîne un processus de la peroxydation lipidique dès le premier jour après traitement.

L'analyse de variance à deux critères de classification a montré un effet traitement très significatif en fonction de la dose ( $p < 0,0001$ ), temps hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) et une interaction traitement/temps hautement significatifs ( $p < 0,0001$ ) (**Tab. 13**).



**Figure 25.** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur les Taux du Malondialdéhyde MDA (mM/mg de protéines) au stade nymphal et au stade adulte au cours du temps (jours) ( $m \pm SD$ ,  $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

**Tableau 13 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur les Taux du Malondialdéhyde MDA (mM/mg de protéines) au stade nymphal pendant la métamorphose et au stade adulte, au fil du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement (doses)	0,005721	2	0,002861	1639	<0,0001***
Temps (jours)	0,01576	7	0,002251	1290	<0,0001***
Interaction	0,005257	14	0,0003755	215,1	<0,0001***
Erreur résiduelle	0,0004608	264	1,745e-006		

\*\*\* : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.6. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* sur les métabolites dans le corps

#### 3.6.1. Effet sur les teneurs en protéines

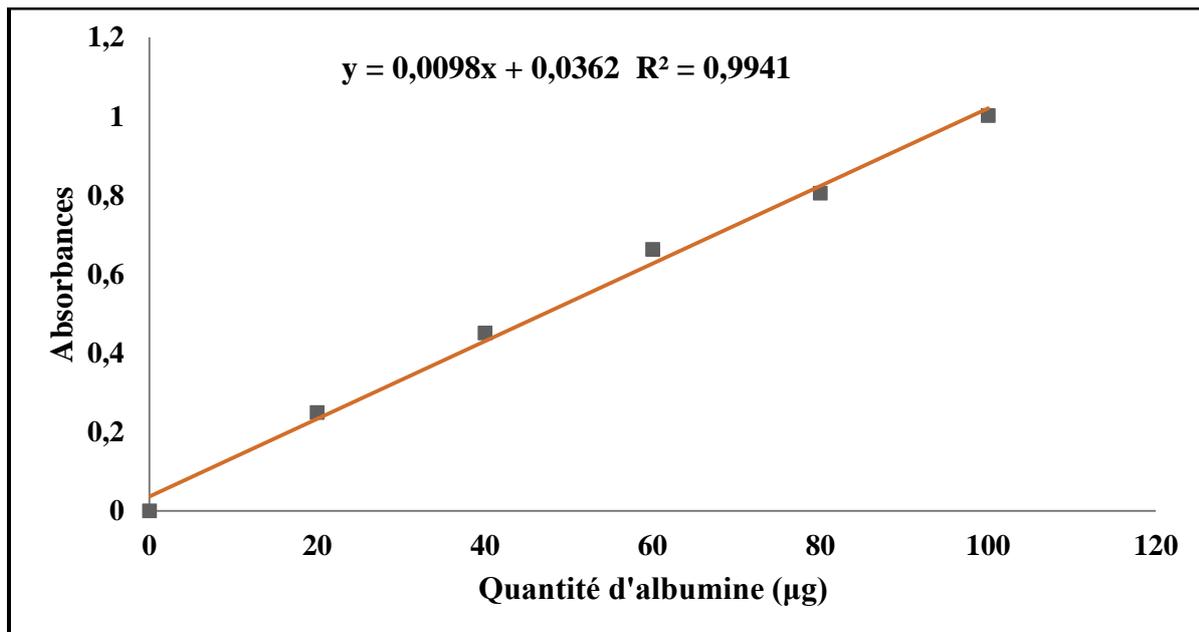
Le contenu en protéines a été déterminé chez les séries témoins et traitées au cours des deux stades nymphal et adulte après traitement à l'huile essentielle de *Thymus munbyanus subsp coloratus* aux deux doses testées (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) par application topique sur les chrysalides nouvellement excuviées d'*E. kuehniella* (Fig. 27).

Chez les témoins, la teneur en protéines diminue de manière significative (p < 0,0001) au cours du temps pour le stade nymphal, aucun effet significatif n'a été enregistré au cours du temps pour le stade adulte (p > 0,05). Chez les séries traitées une réduction significative est notée dès le premier jour après traitement avec les 2 doses DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub> (p < 0,0001 ; p < 0,0001). La même tendance est enregistré de manière significative (p < 0,0001 ; p < 0,0001) tout au long du stade nymphal. Au cours du stade adulte aucun effet significatif n'a été relevé (p > 0,05).

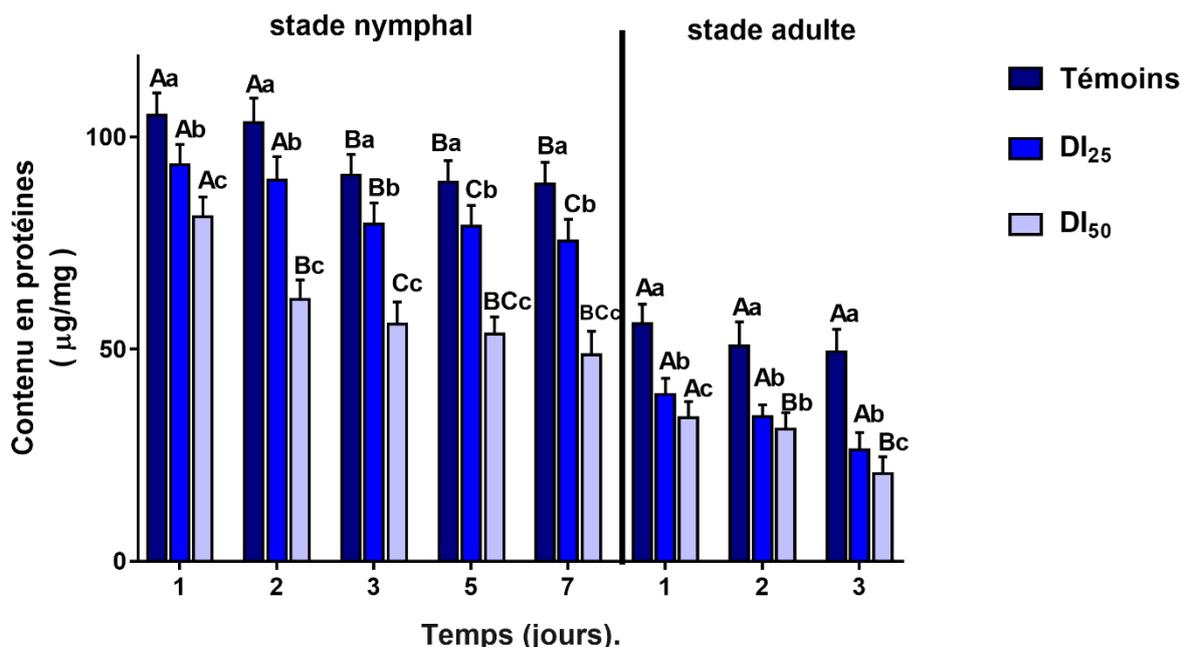
La comparaison entre les séries témoins et traités, montre que l'huile essentielle du *T. munbyanus* provoque une réduction significative du contenu en protéines chez les chrysalides à partir du premier jour (p < 0,0001 ; p < 0,0001) pour la DI<sub>25</sub> et la DI<sub>50</sub> respectivement, chez les adultes d'*E. kuehniella* le contenu est réduit significativement au premier jour après leur

émergence ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ). Par ailleurs *T. munbyanus* agit avec un effet dose réponse sur le contenu en protéines ( $p < 0,0001$ ) pour le stade chrysalides et le stade adulte ( $p < 0,0001$ ).

L'analyse de variance à deux critères de classification a montré un effet traitement très significatif en fonction de la dose ( $p < 0,0001$ ), temps hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) et une interaction traitement/temps hautement significatifs ( $p < 0,0001$ ) (Tab. 14).



**Figure 26.** Dosage des protéines : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumines (µg) ( $R^2$  coefficient de détermination).



**Figure 27.** Effet de *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephesia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le contenu en protéines (µg/mg) au stade nymphal et au stade adulte au cours du temps (jours) (m ± SD, n = 12). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative (p<0,05).

**Tableau 14 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephesia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le contenu en protéines (µg/mg) au stade nymphal et au stade adulte au cours du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement (doses)	45802	2	22901	998,2	<0,0001***
Temps (jours)	132487	7	18927	825	<0,0001***
Interaction	5746	14	410,4	17,89	<0,0001***
Erreur résiduelle	6057	264	22,94		

\*\*\* : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

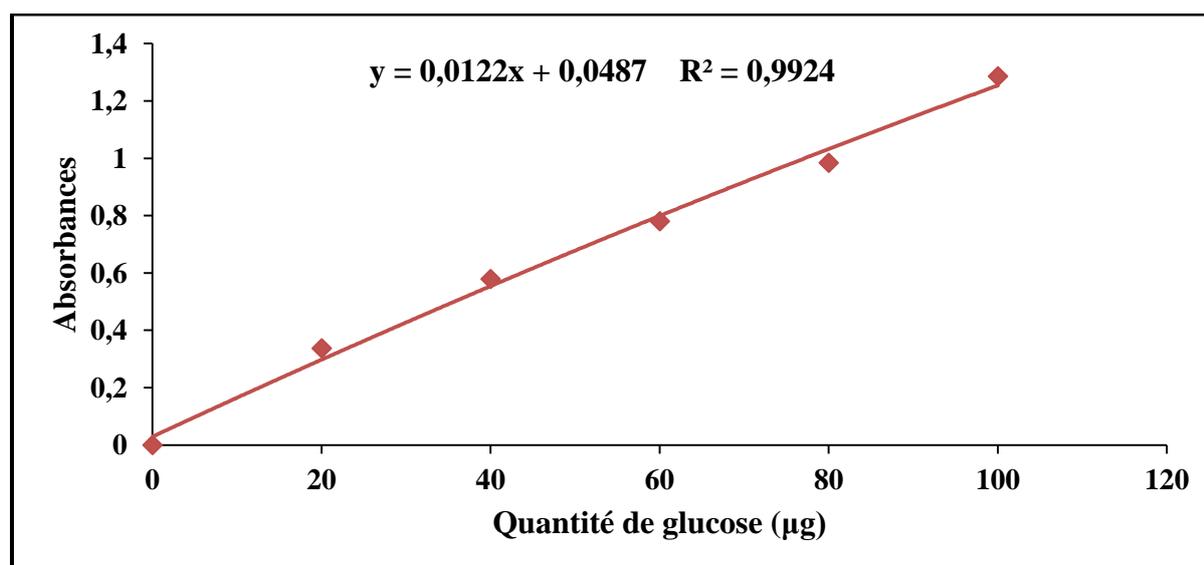
### 3.6.2. Effet sur teneurs en glucides

Le contenu en glucides a été déterminé chez les séries témoins et traitées au cours des deux stades nymphal et adulte après traitement à l'huile essentielle de *Thymus munbyanus subsp coloratus* aux deux doses testées (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) par application topique sur les chrysalides nouvellement excuviées d'*E. kuehniella* (Fig. 29).

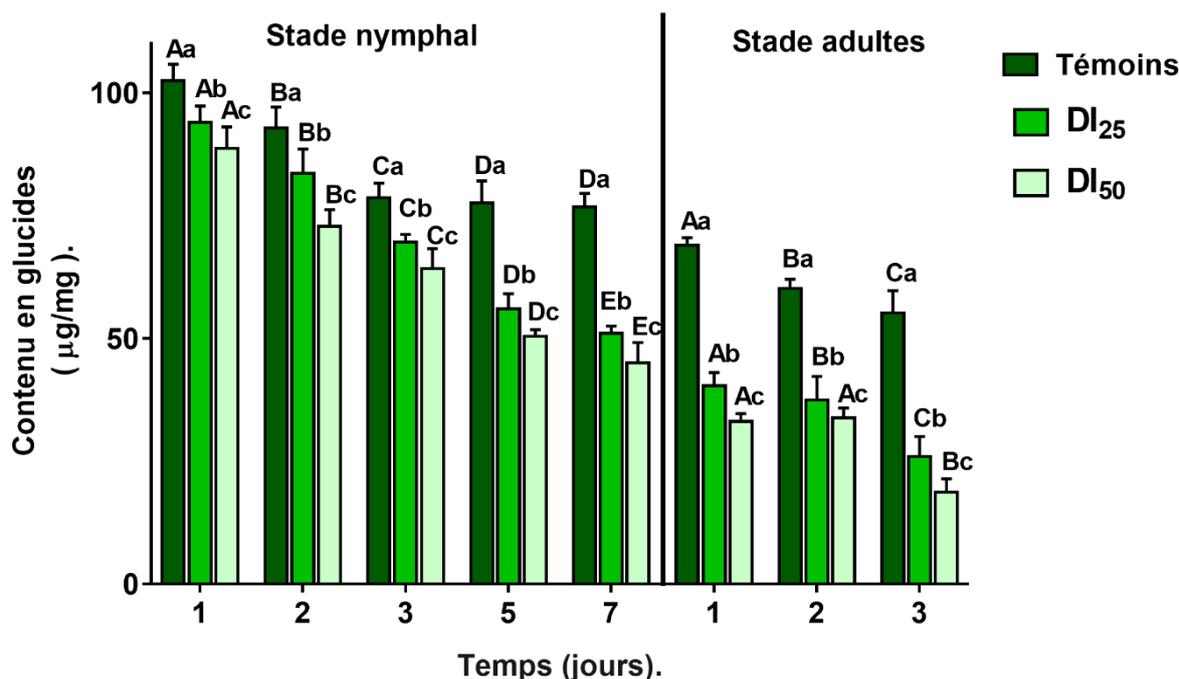
Chez les témoins, la teneur en glucides diminue de manière significative ( $p < 0,0001$ ) au cours du temps durant les deux stades. La comparaison des effets des deux doses testées (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) permis de révéler que ces deux doses provoquent une réduction hautement significative au premier jour après traitement ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ). La même tendance est relevé de manière significative ( $p < 0,0001$ ) tout au long du stade nymphal. Au cours du stade adulte, *T. munbyanus* induit une diminution hautement significative dans le contenu en glucides chez les séries traitées pour les deux doses testées ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ) (Fig. 29).

Par ailleurs, *T. munbyanus* agit avec un effet dose réponse sur le contenu en glucides ( $p < 0,0001$ ) pour le stade chrysalides et le stade adulte ( $p < 0,0001$ ). Les valeurs obtenues montrent que l'HE entraine une réduction des teneurs en glucides dès le premier jour après traitement.

L'analyse de variance à deux critères de classification a montré un effet traitement très significatif en fonction de la dose ( $P < 0,0001$ ), temps hautement significatif ( $P < 0,0001$ ) et une interaction traitement/temps hautement significatifs ( $P < 0,0001$ ) (Tab. 15).



**Figure 28.** Dosage des glucides : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucose (µg) ( $R^2$  coefficient de détermination).



**Figure 29.** Effet de *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le contenu en glucides (µg/mg) au stade nymphal et stade adulte au cours du temps (jours) ( $m \pm SD$ ,  $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

**Tableau 15 :** Effet de *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le contenu en glucides (µg/mg) au stade nymphal et stade adulte au cours du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement (doses)	34479	2	17239	1538	<0,0001***
Temps (jours)	107897	7	15414	1375	<0,0001***
Interaction	4641	14	331,5	29,57	<0,0001***
Erreur résiduelle	2959	264	11,21		

\*\*\* : hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

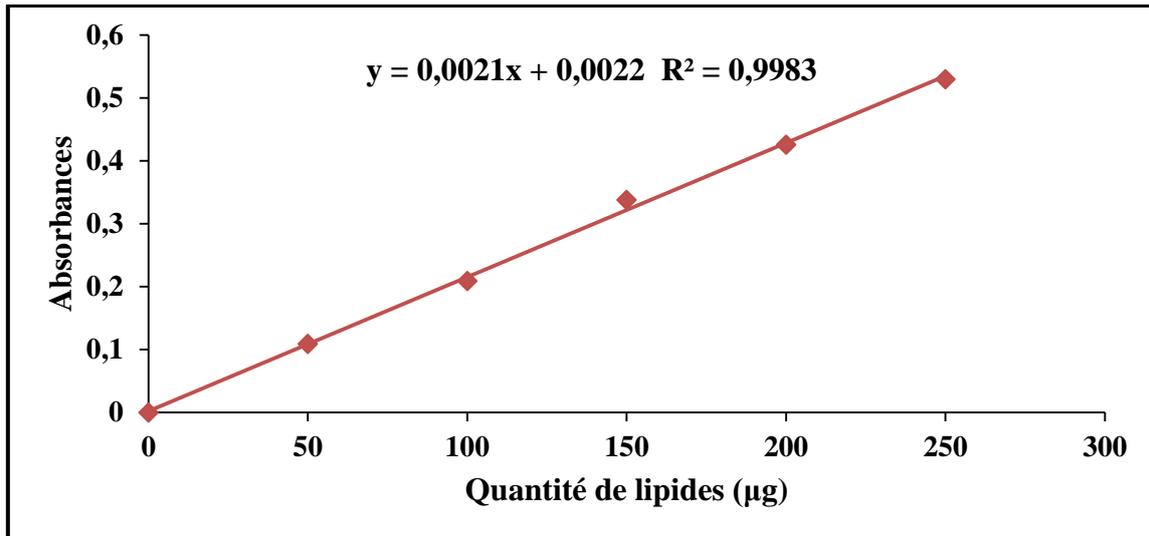
### 3.6.3. Effet sur teneurs en lipides

Le contenu en lipides a été déterminé chez les séries témoins et traitées au cours du stade nymphal et au stade adulte après traitement à l'huile essentielle de *Thymus munbyanus subsp coloratus* aux deux doses d'inhibition testées (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) par application topique sur les chrysalides nouvellement excuviées d'*E. kuehniella* (Fig. 31).

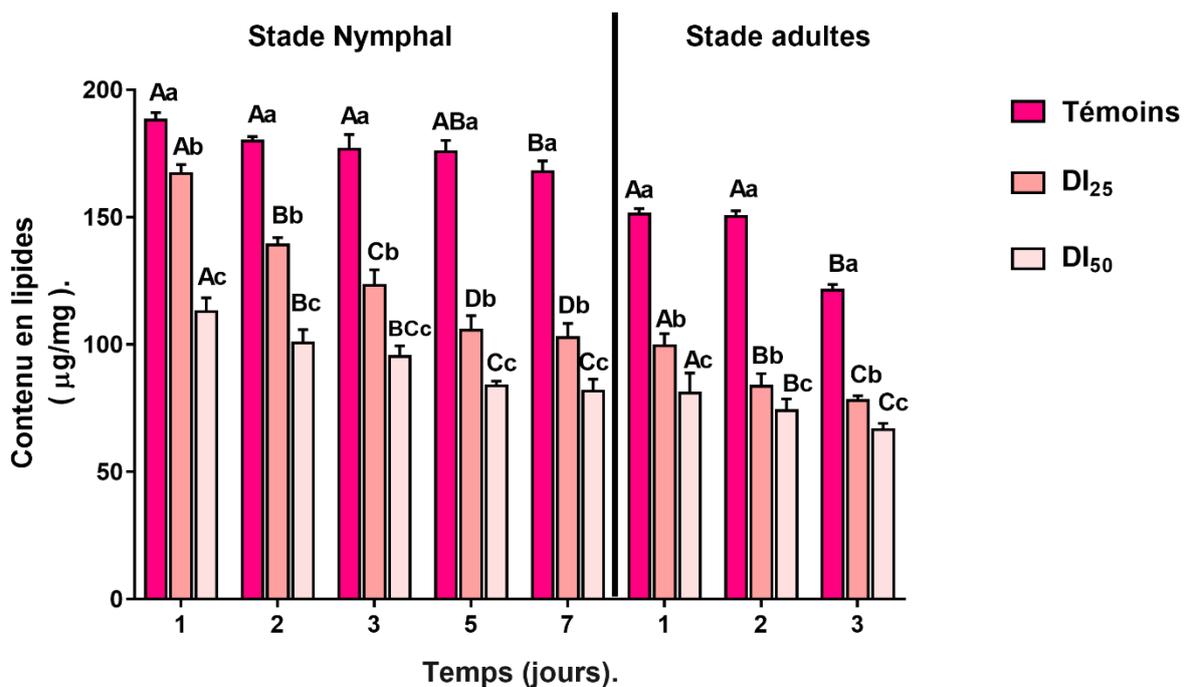
Chez les témoins, la teneur en lipides diminue de manière significative ( $p < 0,0001$ ) au cours du temps durant le stade nymphal et le stade adulte. Les résultats obtenus montrent chez les séries traitées montrent une réduction hautement significative au premier jour après traitement avec les 2 doses DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub> ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ). Puis les taux continuent à diminuer de manière significative ( $p < 0,0001$ ) tout au long du stade nymphal. Au cours du stade adulte, *T. munbyanus* induit une diminution hautement significative dans le contenu en lipides chez les séries traitées pour les deux doses d'inhibition testées ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ).

La comparaison entre les séries témoins et traités montre que l'huile essentielle du *T. munbyanus* provoque une réduction significative du contenu en lipides chez les chrysalides à partir du 1<sup>er</sup> jour ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ) pour la DI<sub>25</sub> et la DI<sub>50</sub> respectivement, chez les adultes d'*E. kuehniella* le contenu est réduit significativement au premier jour après l'émergence ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ). Par ailleurs, *T. munbyanus* agit avec un effet dose réponse sur le contenu en lipides ( $p < 0,0001$ ) pour le stade chrysalides et le stade adulte ( $p < 0,0001$ ). Les valeurs obtenues montrent que l'HE entraîne une réduction des teneurs en lipides dès le premier jour après traitement.

L'analyse de variance à deux critères de classification a montré un effet traitement très significatif en fonction de la dose ( $p < 0,0001$ ), temps hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) et une interaction traitement/temps hautement significatifs ( $p < 0,0001$ ) (Tab. 16).



**Figure 30.** Dosage des lipides : droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides (µg) ( $R^2$  : coefficient de détermination).



**Figure 31.** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le contenu en lipides (µg/mg) au stade nymphal et au stade adulte au cours du temps (jours) ( $m \pm SD$ ,  $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

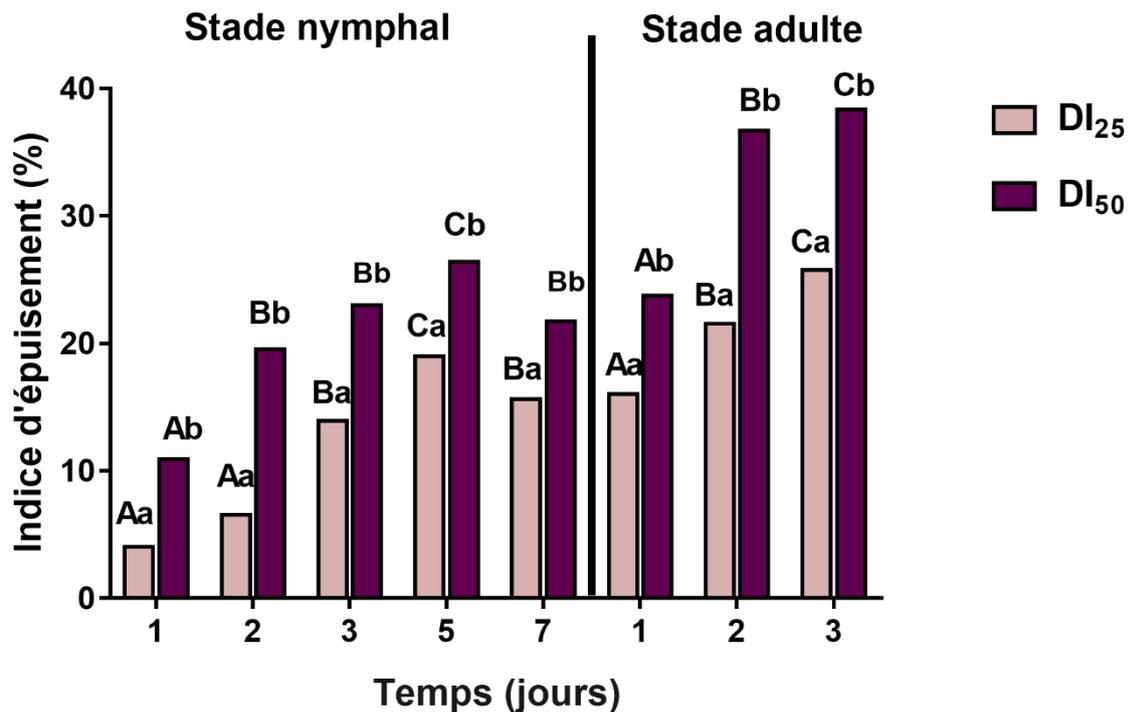
**Tableau 16 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le contenu en lipides (µg/mg) au stade nymphal et stade adulte au cours du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement (doses)	295331	2	147666	7714	<0,0001***
Temps (jours)	115644	7	16521	863,1	<0,0001***
Interaction	17194	14	1228	64,16	<0,0001***
Erreur résiduelle	5053	264	19,14		

\*\*\* : hautement significatif (p <0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.6.4. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques d'*E. kuehniella*

L'indice d'épuisement des réserves énergétiques (NDI) a été calculé chez les traités à la DI<sub>25</sub> et la DI<sub>50</sub> (Fig. 32). Les résultats révèlent une augmentation de cet indice en fonction des doses appliquées. La comparaison des valeurs moyennes montre que l'HE induit une augmentation significative du taux d'épuisement des réserves énergétiques chez la série traitée avec la DI<sub>50</sub> dès 1 jour (p = 0,043) après traitement. Cette augmentation est significative au long du stade nymphal pour la DI<sub>50</sub>. En effet pour le stade adulte, l'augmentation est significative à partir du premier jour après émergence des adultes (p = 0,037) et continue jusqu'au 3 jour de ce stade avec un effet marquée pour la dose la plus élevée (DI<sub>50</sub>).



**Figure 32.** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (ID<sub>25</sub> et ID<sub>50</sub>) sur le taux d'épuisement des réserves énergétiques (%) au stade nymphal et au stade adulte au cours du temps (jours) ( $m \pm SD$ ,  $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

### 3.7. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur les vitellogénines dans les corps gras et les vitellines dans les ovaires

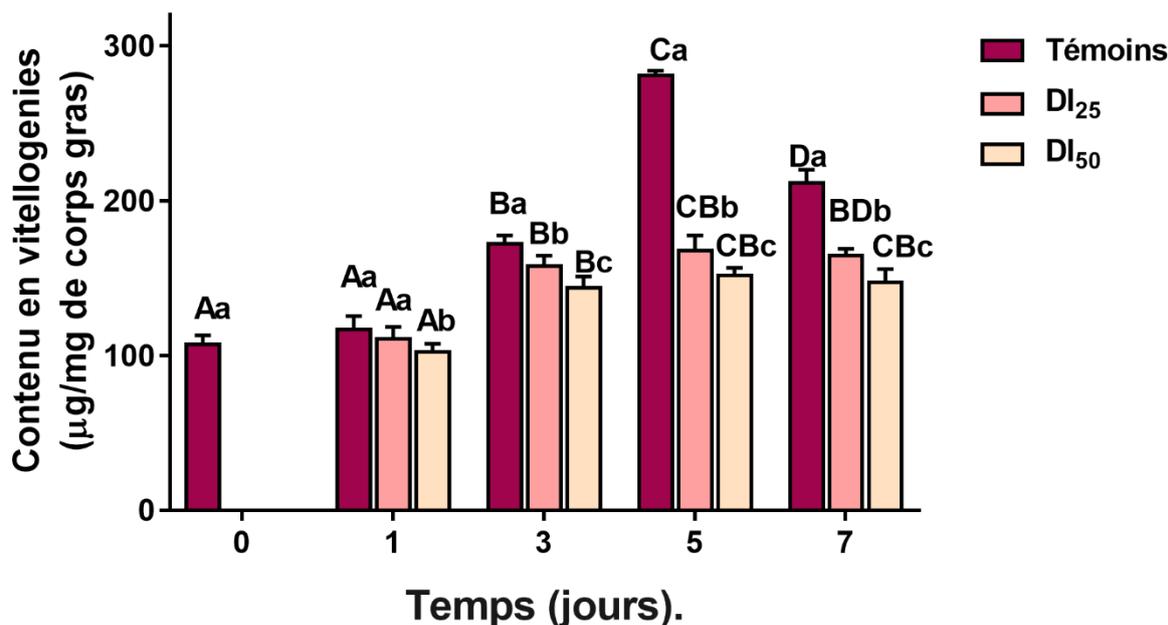
L'huile essentielle du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* a été utilisée *in vivo*, par application topique, le jour de l'exuviation nymphale d'*E. kuehniella* aux deux doses d'inhibition de la mue adulte (DI<sub>25</sub> : 15,38 et DI<sub>50</sub> : 25,22  $\mu\text{l/mL}$ ) puis évalué chez les chrysalides et adultes femelles. L'effet de cette HE a été déterminé sur le contenu en vitellogénines dans les corps gras et en vitellines dans les ovaires du fait de leur synthèse au niveau de ces deux organes. L'évaluation du contenu en vitellogénines a été réalisée à différents temps de la vitellogénèse au cours du stade nymphal (0, 1, 3, 5 et 7 jours après exuviation). Tandis que l'évaluation du contenu en vitellines a été réalisée sur les adultes femelles des deux générations (G0 ; G1) succédant le traitement provenant des chrysalides traitées dans la G0.

### 3.7.1. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur les vitellogénines dans le corps gras

Chez les chrysalides témoins, les valeurs moyennes du contenu en vitellogénines du corps gras à 0 et au premier jour sont similaires ( $p > 0,99$ ) puis augmentent significativement au 3<sup>ème</sup> jour ( $172,41 \pm 15,17 \mu\text{g}/\text{mg}$  ;  $p = 0,0002$ ), on note également une diminution après l'augmentation maximale au 7<sup>ème</sup> jours ( $211,41 \pm 38,53 \mu\text{g}/\text{mg}$  ;  $p = 0,209$ ). Les vitellogénines montrent en effet une valeur maximale au jour 5 qui est de l'ordre de  $280,75 \pm 23,22 \mu\text{g}/\text{mg}$  de corps gras (**Fig. 33**).

En effet, pour le contenu en vitellogénines chez les séries traitées, une augmentation dans les valeurs est observée seulement 3<sup>ème</sup> jours après l'exuviation du stade nymphal ( $157,82 \pm 36,66$  ;  $143,57 \pm 37,57 \mu\text{g}/\text{mg}$  de corps gras pour les deux doses testées DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub> respectivement). Les valeurs restent comparables ensuite jusqu'au 7<sup>ème</sup> jour, ce qui laisse supposer un arrêt dans la synthèse des vitellogénines (**Fig. 33**).

La comparaison entre les séries témoins et traitées, indique que le contenu en vitellogénines diminue aux jours 3, 5 et 7 aux deux doses testées ( $p < 0,0001$ ) ; au jour 5, un effet dose-réponse est noté ( $p = 0,0040$ ). Les résultats relatifs à l'analyse de la variance à deux critères de classification (**Tab. 17**), révèlent des effets traitement ( $p < 0,0001$ ), âge ( $p < 0,0001$ ) et interaction traitement-âge très hautement significatifs ( $p < 0,0001$ ).



**Figure 33.** Effet de l’HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le contenu en vitellogénines (µg/mg de corps gras) au stade nymphal, au fil du temps (jours) (m ± SD, n = 12). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même temps d'exposition indiquent une différence significative (p<0,05).

**Tableau 17 :** Effet de l’HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le contenu en vitellogénines (µg/mg de corps gras) au stade nymphal au cours du temps (jours) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	52860	2	26430	545,3	<0,0001***
Génération	196179	4	49045	1012	<0,0001***
Interaction	25858	8	3232	66,69	<0,0001***
Erreur résiduelle	3780	78	48,46		

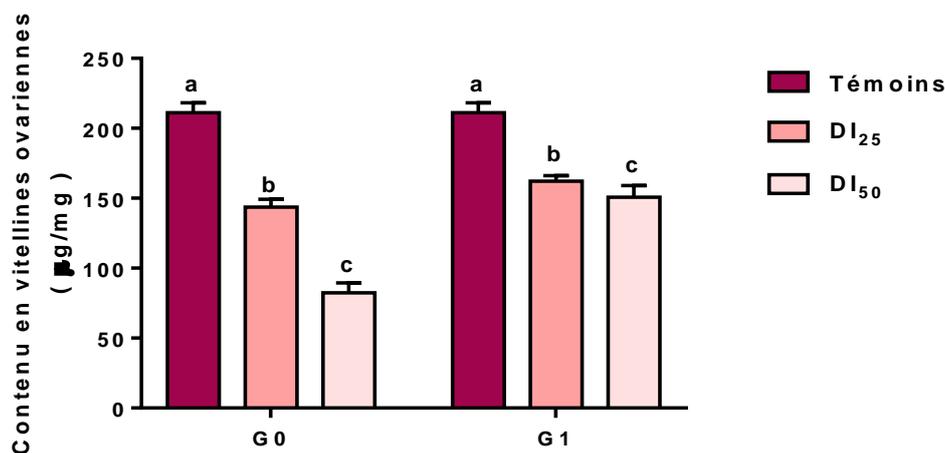
\*\*\* : hautement significatif (p < 0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.7.2. Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur le contenu en vitellines ovariennes chez la G0 et la G1

Les effets de l'huile essentielle du *Thymus munbyanus subsp. Coloratus* administrés *in vivo*, par application topique, le jour de l'exuviation nymphale, ont été évalués, sur le contenu des vitellines ovariennes chez les adultes femelles d'*E.kuehniella* au premier jour après l'émergence de la G0 et la G1 (Fig. 34).

Les vitellines ovariennes, chez les adultes femelles d'*E kuehniella* de la G0, à l'émergence, ont une valeur de l'ordre de  $194.5 \pm 7,03 \mu\text{g}/\text{mg}$  chez les séries témoins. Le traitement à induit une réduction hautement significative ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ) dans le contenu en vitellines ovariennes aux deux doses testées, les valeurs moyennes enregistrées sont de l'ordre de  $143,4 \pm 5,51$  et  $82,38 \pm 7,05 \mu\text{g}/\text{mg}$  respectivement pour la DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>, soit une réduction de 27,17% et 57,64% par rapport aux témoins.

Les vitellines ovariennes de la G1, chez les femelles d'*E kuehniella*, à l'émergence, ont une valeur de l'ordre de  $213,84 \pm 8,38$  chez les séries témoins. Le traitement à l'HE induit une réduction hautement significative ( $p < 0,0001$  ;  $p < 0,0001$ ) dans le contenu en vitellines ovariennes aux deux doses testées, les valeurs moyennes enregistrées sont de l'ordre de  $166,44 \pm 4,01$  et  $150,74 \pm 8,26 \mu\text{g}/\text{mg}$  respectivement pour la DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>, soit une réduction de 22,16% et 29,50% par rapport aux témoins.



**Figure 34.** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le contenu en vitellines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) au stade adulte au cours des générations successives G0 et G1 ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 12$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus de la même génération indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).



**Figure 35.** Photographies montrant les aspects morphologiques des ovocytes basaux chez *E. kuehniella* après traitement à l'HE de *T. munbyanus subsp coloratus* administré *in vivo*, par application topique sur des chrysalides nouvellement exuviées (ID<sub>25</sub> et ID<sub>50</sub>) (A : témoins (G×20) ; B : DI<sub>25</sub> (G×16) ; C : DI<sub>50</sub> (G×16)).

L'HE a induit une réduction significative dans le contenu en vitellines, chez les femelles adultes traitées aux 2 doses de la G<sub>0</sub>. Cette réduction des vitellines est aussi observée chez la G<sub>1</sub> pour les séries traitées. Les femelles adultes de la G<sub>1</sub> présentent une augmentation dans les valeurs des vitellines ovariennes comparativement aux femelles adultes traitées de la G<sub>0</sub>, un retour à des normes physiologiques semble apparaitre. L'analyse de la variance a deux critères de classification révèle un effet génération ( $p < 0,0001$ ) un effet traitement ( $p < 0,0001$ ) et une interaction génération-traitement ( $p < 0,0001$ ) (**Tab. 18**). L'HE du *T. munbyanus* affecte donc le contenu en vitellines chez les adultes femelles au cours des deux générations successives d'*E. kuehniella* suivant le traitement.

**Tableau 18 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le contenu en vitellines ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ ) au stade adulte au cours des générations G<sub>0</sub> et G<sub>1</sub> : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	54604	2	27302	622,4	<0,0001 ***
Génération	7539	1	7539	171,9	<0,0001 ***
Interaction	7503	2	3752	85,52	<0,0001 ***
Erreur résiduelle	1316	30	43,87		

\*\*\* : hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.8. Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur le potentiel reproducteur chez la G0 et G1

Un suivi régulier des couples témoins et traités à l'huile essentielle du *Thymus munbyanus subsp coloratus* (DI<sub>25</sub>, DI<sub>50</sub>) topiquement appliquée sur des chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella*, permet de déterminer les effets *in vivo* sur le potentiel reproducteur des adultes femelles de la G0 et G1, notamment la durée des périodes préovipositoires et ovipositoire, le nombre d'œufs pondus (fécondité) et le pourcentage d'éclosion des œufs (viabilité) dans les conditions expérimentales (température 27°C, humidité relative à 80%).

#### 3.8.1. Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur la durée des périodes préovipositoires et ovipositoire de la G0 et la G1

Le traitement par l'HE de *Thymus munbyanus subsp. coloratus* (DI<sub>25</sub>, DI<sub>50</sub>) chez la génération 0 (G0), a induit une diminution hautement significative ( $p < 0,0001$ ) sur la période préovipositoire, en effets la durée de préoviposition varie avec une relation dose-réponse ( $p < 0,0001$ ). Une diminution hautement significative ( $p < 0,0001$ ) de la durée d'oviposition est également enregistrée aux deux doses testées et ce avec effet dose-réponse ( $p = 0,0133$ ) (**Tab. 19**).

Le traitement par l'HE de *Thymus munbyanus subsp coloratus* (DI<sub>25</sub>, DI<sub>50</sub>) chez la génération 1 (G1), a induit une diminution significative ( $p < 0,0001$ ) uniquement à la DI<sub>50</sub> testée sur la période préovipositoire. Une diminution significative ( $p < 0,0001$ ) de la durée d'oviposition est également enregistrée uniquement pour la DI<sub>50</sub> et ce avec effet dose-réponse ( $p = 0,0133$ ).

**Tableau 19 :** Effet de l’HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d’*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur la durée (jours) des périodes de préoviposition et d’oviposition (jours) ( $m \pm SD$ , n=6). Des lettres minuscules différentes au-dessus du même paramètre indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ). Les pourcentages en rouge représentent les taux de reductions des traités par rapport aux témoins.

	G0	G1	G0	G1
	Préoviposition	Préoviposition	Oviposition	Oviposition
<b>Témoins</b>	1,34±0,005 <b>a</b>	1,34±0,05 <b>a</b>	3,54±0,1 <b>a</b>	3,54±0,019 <b>a</b>
<b>DI<sub>25</sub></b>	0,68±0,012 <b>b</b> 49,25%	1,1±0,02 <b>a</b> 17,91%	3,21±0,041 <b>b</b> 9,32%	3,4±0,04 <b>a</b> 9,60%
<b>DI<sub>50</sub></b>	0,37±0,004 <b>c</b> 72,38%	0,77±0,04 <b>b</b> 42,53%	2,52±0,02 <b>c</b> 28,81%	2,77±0,20 <b>a</b> 21,75%

La comparaison, des effets de l’Huile essentielle *Thymus munbyanus subsp. Coloratus*, sur le potentiel reproducteur au cours du stade adulte chez *E. kuehniella* des deux générations G0 et G1, montre des différences significatives sur les durée des périodes préovipositaires et ovipositaires de la G0 et G1 entre les séries témoins et traitées.

L’Huile essentielle *T. munbyanus subsp. Coloratus* induit chez la G0 une diminution dans la durée de la période préovipositaire chez les adultes d’*E. kuehniella* pour les deux doses testées (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) ( $p < 0,0001$ ). Cette réduction est retrouvée également à la génération suivante chez les adultes d’*E. kuehniella* ( $p < 0,0001$ ). L’analyse statistique montre que la réduction de la durée de la période préovipositaire induite par l’application topique de l’HE est plus importante à la G0 par rapport à la G1.

L’analyse de la variance à deux critère de classification indique des effets hautement significatifs pour la génération ( $p < 0,0001$ ), le traitement ( $p < 0,0001$ ), par ailleurs aucune différence significative est noté pour l’interaction génération-traitement ( $p = 0,3193$ ). L’HE affecte donc la durée de la période préovipositaire chez les deux générations successives d’*E. kuehniella* (**Tab. 20**).

**Tableau 20 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur la durée de la période préovipositaire au stade adulte au cours de deux générations successives (G0 et G1) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	0,6144	1	0,6144	1068	<0,0001***
Génération	1,009	1	1,009	1753	<0,0001***
Interaction	0,0006	1	0,0006	1,043	=0,3193***
Erreur résiduelle	0,01151	20	0,0005753		

\*\*\* : hautement significatif (p <0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

L'Huile essentielle *T. munbyanus subsp. Coloratus* induit chez la G0 une diminution dans la durée de la période ovipositaire chez les adultes d'*E. kuehniella* pour les deux doses testées (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) (p <0,0001). Cette réduction est retrouvée également à la génération suivante chez les adultes d'*E. kuehniella* (p <0,0001). L'analyse statistique montre que la réduction de la durée de la période ovipositaire induite par l'HE est plus importante à la G0 par rapport à la G1. L'analyse de la variance à deux critères de classification indique des effets hautement significatifs pour le traitement (p <0,0001), significative pour la génération (p =0,0264), par ailleurs aucune différence significative est notée pour l'interaction génération-traitement (p =0,7471) (**Tab. 21**). L'HE affecte donc la durée de la période ovipositaire chez les deux générations successives d'*E. kuehniella*.

**Tableau 21.** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur la durée de la période ovipositoire au stade adulte au cours de deux générations successives (G0 et G1) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

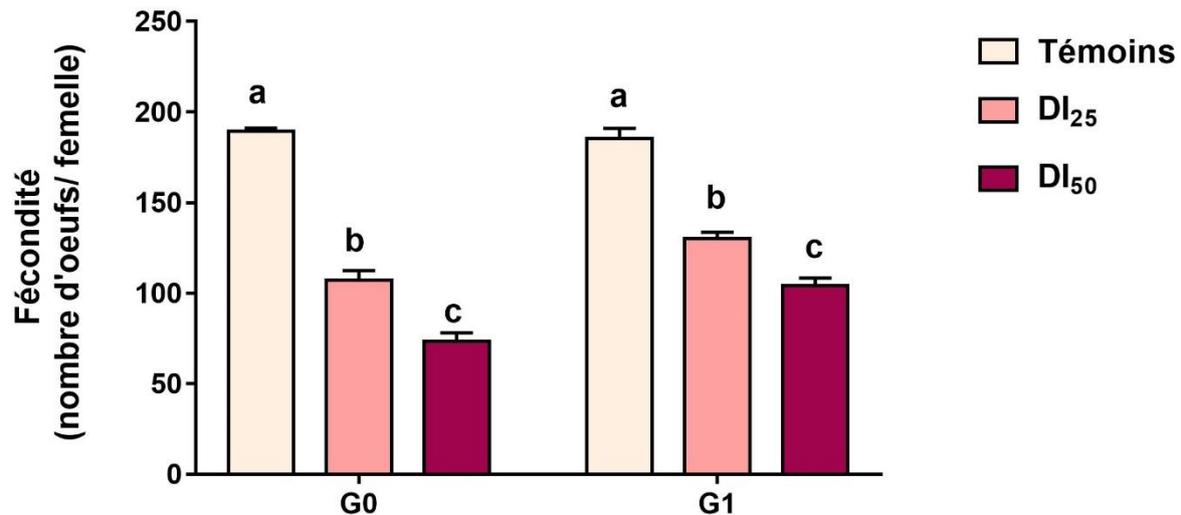
Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P
Traitement	2,614	1	2,614	F (1, 20) = 51,73	<0,0001***
Génération	0,2904	1	0,2904	F (1, 20) = 5,748	=0,0264*
Interaction	0,0054	1	0,0054	F (1, 20) = 0,1069	=0,7471
Erreur résiduelle	1,01	20	0,05052		

\*\*\* : hautement significatif (p <0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p: niveau de significativité.

### 3.8.2. Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur la fécondité des femelles de la G0 et la G1

Le nombre d'œufs pondus par une femelle témoin de la G0 est de  $189,4 \pm 1,67$  pendant toute la période d'oviposition. Ce nombre est très significativement (p <0,0001) affecté par le traitement puisqu'il atteint  $107 \pm 5,40$  et  $73,28 \pm 4,75$  pour la DI<sub>25</sub> et la DI<sub>50</sub> respectivement, soit une réduction de 43,41% et 61,30% par rapport aux témoins (**Fig. 36**).

Pour la G1, le nombre d'œufs pondus par une femelle témoin est de  $185,25 \pm 5,56$  pendant toute la période d'oviposition. Ce nombre est très significativement (p <0,0001) affecté par le traitement puisqu'il atteint  $130,25 \pm 3,40$  et  $104 \pm 4,30$  pour la DI<sub>25</sub> et la DI<sub>50</sub> respectivement, soit une réduction de 29,68% et 43,85% par rapport aux témoins (**Fig. 36**).



**Figure 36.** Effet de l’HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d’*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur la fécondité (nombre d’œufs) des femelles de la G0 et la G1 ( $m \pm SD$ ,  $n=6$ ). Des lettres minuscules différentes au-dessus de la même série indiquent une différence significative ( $p < 0,05$ ).

La comparaison, des effets de l’Huile essentielle *Thymus munbyanus subsp. Coloratus*, sur le potentiel reproducteur au cours du stade adulte chez *E. kuehniella* des deux générations G0 et G1, montre des différences significatives entre les séries témoins et les séries traitées sur le nombre d’œufs pondus par femelle de la G0 ( $p < 0,0001$ ) et G1 ( $p < 0,0001$ ). Par ailleurs, le test HSD de tukey révèle que pour les doses testées (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) de l’Huile essentielle *T. munbyanus* présente des effets persistant sur la fécondité des adultes femelles. Cependant l’analyse statistique montre que la réduction des œufs pondus est plus importante à la G0 par rapport à la G1, Ceci peut être en faveur d’une restauration de la normalité physiologique.

L’analyse de la variance à deux critère de classification indique des effets hautement significatifs pour la génération ( $p < 0,0001$ ), le traitement ( $p < 0,0001$ ) et l’interaction génération-traitement ( $p < 0,0001$ ) (**Tab. 22**). L’HE affecte donc le nombre d’œufs pondus par femelle chez les deux générations successives d’*E. kuehniella*.

**Tableau 22 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephesia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur la fécondité des femelles au stade adulte au cours de deux générations successives (G0 et G1) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

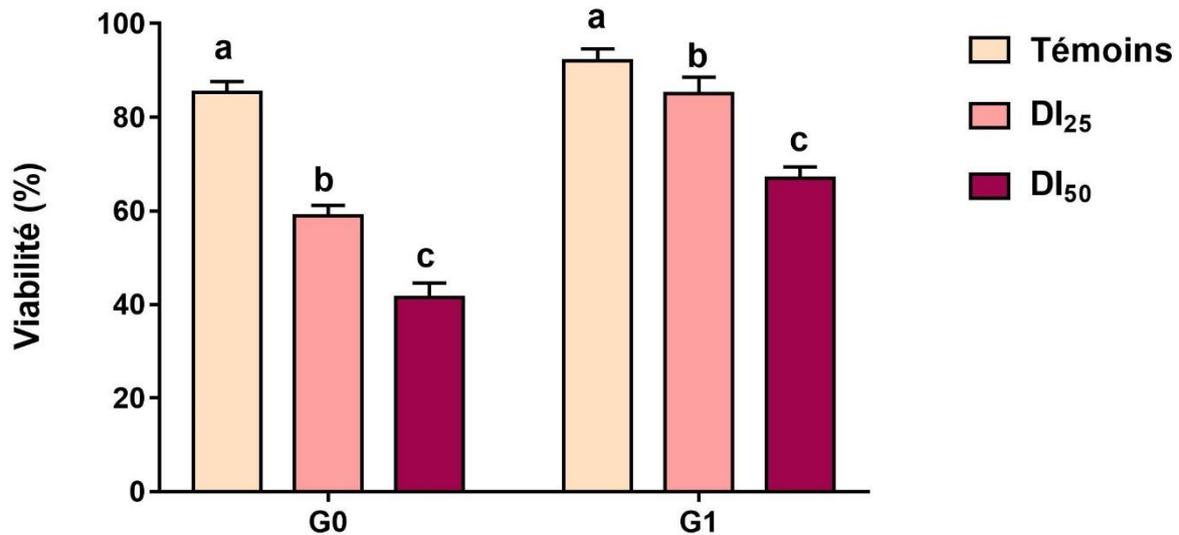
Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	61430	2	30715	1596	<0,0001***
Génération	2482	1	2482	129	<0,0001***
Interaction	2022	2	1011	52,54	<0,0001***
Erreur résiduelle	577,4	30	19,25		

\*\*\* : hautement significatif (p <0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.8.3. Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur la viabilité des Œufs de la G0 et la G1

Concernant la viabilité des œufs, les résultats obtenus indiquent une réduction hautement significative (p <0,0001 ; p <0,0001) du nombre d'œufs éclos par les femelles suite à l'exposition à l'huile essentielle du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* (DI<sub>25</sub>, DI<sub>50</sub>), en effet, la valeur moyenne des œufs éclos chez les témoins est de 85,25 ± 2,36 chez les traitées 59 ± 2,16 et 41,5 ± 3,10 pour la DI<sub>25</sub>, DI<sub>50</sub> respectivement, soit une réduction de 30,79% et 51,31% par rapport aux témoins (**Fig. 37**).

Pour la G1, la valeur moyenne des œufs éclos chez les témoins est de 92 ± 2,60, chez les traitées 85 ± 3,55 et 67,5 ± 2,38 pour la DI<sub>25</sub>, DI<sub>50</sub> respectivement, soit une réduction de 7,60% et 26,63% par rapport aux témoins (**Fig. 37**).



**Figure 37.** Effet de l’HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d’*Ephestia kuehniella* (ID<sub>25</sub> et ID<sub>50</sub>) sur la viabilité des oeufs (%) de la G0 et la G1 (m±SD, n=6). Des lettres minuscules différentes au-dessus de la même série indiquent une différence significative (p<0,05).

L’huile essentielle *T. munbyanus subsp. Coloratus* induit chez la G0 une diminution dans la viabilité des œufs pondus chez *E. kuehniella* pour les deux doses testées (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) (p <0,0001 ; p <0,0001). Cette réduction est retrouvée également à la génération suivante chez les adultes d’*E. kuehniella* (p <0,0001). L’analyse statistique montre que la réduction de la viabilité des œufs induite par l’HE est plus importante à la G0 par rapport à la G1. Ceci peut être en faveur d’une restauration de la normalité physiologique. L’analyse de la variance indique des effets hautement significatifs pour la génération (p <0,0001), le traitement (p <0,0001) et l’interaction génération-traitement (p <0,0001). L’HE affecte donc la viabilité des œufs pondus par les femelles chez les deux générations successives d’*E. kuehniella* (**Tab. 23**).

**Tableau 23 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (ID<sub>25</sub> et ID<sub>50</sub>) sur la viabilité des œufs pondus au cours de deux générations successives (G0 et G1) : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	6989	2	3494	467,2	<0,0001***
Génération	3452	1	3452	461,5	<0,0001***
Interaction	741,1	2	370,6	49,55	<0,0001***
Erreur résiduelle	224,4	30	7,479		

\*\*\* : hautement significatif (p <0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.9. Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* sur la descendance

Les chrysalides d'*E. kuehniella* ont été traitées le jour de l'exuviation nymphale puis les adultes qui ont survécu aux traitements ont été prélevés le jour de l'émergence ; les mâles et les femelles ont ensuite été accouplés chez les individus témoins et traités aux deux doses. Au bout de 48 heures d'accouplement, les différents couples constitués sont retirés et la génération 1 ou G1 est suivie quotidiennement. L'effet différé de l'Huile essentielle de *T. munbyanus* a pu être évalué en procédant au comptage du nombre d'œufs, larves (L5), chrysalides et adultes exuviées pour chaque série d'expérimentations.

Chez les séries témoins le nombre d'œufs pondus est de  $187,66 \pm 7,09$ . Ce nombre diminue significativement (p <0,0001) et atteint des valeurs respectives de  $104 \pm 7$  ;  $72,33 \pm 4,50$  pour les couples M DI<sub>25</sub> x FDI<sub>25</sub> ; MDI<sub>50</sub> x FDI<sub>50</sub> (**Tab. 24**).

Chez les séries témoins le nombre de larves (L5), de chrysalides et d'adultes, est de l'ordre est de  $79 \pm 4$  ;  $72 \pm 5$  et  $69 \pm 3,33$  respectivement. Ce nombre diminue de manière hautement significative (p <0,0001 ; p <0,0001 ; p <0,0001) et atteint des valeurs respectives de  $51 \pm 3$  ;  $39 \pm 3$  et  $36 \pm 4$  pour les couples M DI<sub>25</sub> x FDI<sub>25</sub> et les valeurs respectives de  $30 \pm 3$  ;  $25 \pm 3$  et  $21 \pm 3$  pour les couples MDI<sub>50</sub> x FDI<sub>50</sub> (**Tab. 24**).

L'analyse statistique des données (Tab. 25) révèle, comparativement aux témoins, une diminution significative ( $p < 0,0001$ ) dans le nombre d'œufs, larves, chrysalides et adultes pour 2 séries provenant des adultes ayant survécu au traitement des chrysalides. La comparaison entre les séries traitées pour chaque stade du développement révèle un effet dose significatif entre les différents couples formés ( $p < 0,0001$ ).

**Tableau 24 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur le nombre des descendants (génération G1) provenant des adultes ayant survécu après traitement des chrysalides. ( $m \pm SD$  ;  $n = 3$ ). Comparaison des moyennes à différents couples pour un même stade du développement. Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ). Les pourcentages en rouge représentent les taux de reductions par rapport aux témoins.

	Témoins	DI <sub>25</sub>	DI <sub>50</sub>
<b>Œufs</b>	187,66± 7,09 A	104±7 (44,59%) b	72,33±4,50 (61,45%) c
<b>Larves</b>	76,66± 4,93 A	66,66±5,50 (13,05%) b	60,33±7,57 (21,30%) b
<b>Chrysalides</b>	54,33±3,05 A	39±2 (28,21%) b	33±3,60 (39,26%) b
<b>Adultes</b>	33,33±3,51 A	24±3,60 (27,99%) a	19±2 (42,99%) b

**Tableau 25 :** Effet de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* administrée *in vivo*, par application topique aux chrysalides nouvellement exuviées d'*Ephestia kuehniella* (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) sur la survie de la descendance des individus au cours des différents stades de vie de la génération G1 issue des adultes ayant survécus au traitement des chrysalides dans la G0: Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	11099	2	5550	232,1	<0,0001***
Stades	47407	3	15802	660,9	<0,0001***
Interaction	11654	6	1942	81,23	<0,0001***
Erreur résiduelle	573,8	24	23,91		

\*\*\* : hautement significatif (p <0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.10. Analyse de la qualité de la farine

L'impact de l'infestation de la farine par des couples d'insectes ravageurs des denrées stockées *Ephestia kuehniella* (5, 10 et 20 couples) sur la qualité de la farine a été évalué à travers des analyses physicochimiques au cours du temps (1, 2 et 3 mois).

#### 3.10.1. Granulométrie (Taux d'affleurement)

La granulométrie (taux d'affleurement) dans les lots de farine témoins et infestés par exposition à différents nombres de couples d'*E. kuehniella* (5, 10 et 20 couples) a été déterminée au cours du temps (1, 2 et 3 mois), les résultats obtenus montrent une diminution significative du taux d'affleurement de la série farine infestée est enregistrée après un mois (p <0,0001), 2 mois (p <0,0001) et 3 mois (p < 0,0001) par rapport à la série témoin. Une diminution significative est marquée après 1 mois (**Tab. 26**). L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle des effets significatifs de temps (p < 0,0001), de l'infestation (p < 0,0001) et de l'interaction temps/infestation (p< 0,0001) (**Tab. 27**).

**Tableau 26 :** Effet de l'infestation par différents nombre de couples d'*E.kuehniella* sur le taux d'affleurement de la farine au cours du temps ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).

	Témoins	5 Couples	10 Couples	20 Couples
<b>1 mois</b>	95,8±0,23 <b>a</b> A	95,8±0,1 <b>a</b> A	94±0,3 <b>b</b> A	93,2±0,2 <b>c</b> A
<b>2 mois</b>	95,78±0,32 <b>a</b> A	93,2±0,4 <b>b</b> B	82±0,3 <b>c</b> B	30±0,7 <b>d</b> B
<b>3 mois</b>	95,65±0,45 <b>a</b> A	83±0,2 <b>b</b> C	35,3±0,2 <b>c</b> C	5±0,01 <b>d</b> C

Les moyennes suivies d'une lettre minuscule différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre le nombre de couples ; les moyennes suivies d'une lettre majuscules différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre les temps.

**Tableau 27 :** Effet de l'infestation par différents nombre de couples d'*E.kuehniella* sur le taux d'affleurement de la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
<b>Infestation</b>	1642602	3	547534	4985514	<0,0001***
<b>Temps</b>	1065495	2	532747	4850874	<0,0001***
<b>Interaction</b>	1038468	6	173078	1575944	<0,0001***
<b>Erreur résiduelle</b>	2,636	24	0,1098		

\*\*\* : hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.10.2. Taux de protéines

La teneur en protéines des lots de farine témoins et infestés par exposition à différents nombres de couples d'*E. kuehniella* (5, 10 et 20 couples) a été déterminée au cours du temps (1, 2 et 3 mois), les résultats montrent une diminution significative du taux de protéines dans la série farine infestée (farine exposée à 5, 10 et 20 paires) est enregistrée après 1 mois ( $p < 0,0001$ ), 2 mois ( $p < 0,0001$ ) et 3 mois ( $p < 0,0001$ ) par rapport à la série témoin. Une diminution significative est marquée après 1 mois (**Tab. 28**). L'analyse de la variance à deux critères de

classification a révélé des effets significatifs du temps ( $p < 0,0001$ ), de l'infestation ( $p < 0,0001$ ) et de l'interaction temps/infestation ( $p < 0,0001$ ) (**Tab. 29**).

**Tableau 28** : Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur les teneurs en protéines de la farine au cours du temps ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).

	Témoins	5 Couples	10 Couples	20 Couples
<b>1 mois</b>	<b>10,79±0,001 a</b> A	<b>10,6±0,016 b</b> A	<b>10,22±0,023 c</b> A	<b>9,88±0,019 d</b> A
<b>2 mois</b>	<b>10,79±0,002 a</b> A	<b>9,87±0,02 b</b> B	<b>9,29±0,013 c</b> B	<b>7,17±0,03 d</b> B
<b>3 mois</b>	<b>10,66±0,002 a</b> B	<b>9,03±0,01 b</b> C	<b>7,77±0,018 c</b> C	<b>3,75±0,032 d</b> C

Les moyennes suivies d'une lettre minuscule différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre le nombre de couples ; les moyennes suivies d'une lettre majuscules différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre les temps

**Tableau 29** : Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur les teneurs en protéines de la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
<b>Infestation</b>	29,61	6	4,934	14542	<0,0001***
<b>Temps</b>	39,93	2	19,96	58830	<0,0001***
<b>Interaction</b>	71,4	3	23,8	70135	<0,0001***
<b>Erreur résiduelle</b>	0,008144	24	0,0003393		

\*\*\* : hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.10.3. Taux de Gluten

La teneur en gluten dans les lots de farine témoins et infestés par exposition à différents nombres de couples d'*E. kuehniella* (5, 10 et 20 couples) a été déterminée au cours du temps (1, 2 et 3 mois), les résultats montrent une diminution significative du taux de gluten dans la série de farines infestées (farine exposée à 5, 10 et 20 paires) est enregistrée après un mois ( $p < 0,0001$ ), 2 mois ( $p < 0,0001$ ) et 3 mois ( $p < 0,0001$ ) par rapport à la série témoin. Une

augmentation significative est marquée après 1 mois (**Tab. 30**). L'analyse de la variance à deux critères de classification a révélé des effets significatifs du temps ( $p < 0,0001$  ;  $F(2, 24) = 566590$ ), de l'infestation ( $p < 0,0001$  ;  $F(3, 24) = 583994$ ) et de l'interaction temps/infestation ( $p < 0,0001$  ;  $F(6, 24) = 110628$ ), respectivement (**Tab. 31**).

**Tableau 30** : Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur les teneurs en gluten de la farine au cours du temps ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).

	Témoins	5 Couples	10 Couples	20 Couples
1 mois	31,4±0,01 a A	30,9±0,04 b A	29,7±0,013 c A	28,9±0,04 d A
2 mois	31±0,01 a B	25,3±0,03 b B	21,3±0,022 c B	10,11±0,032 d B
3 mois	31±0,01 a B	22±0,02 b C	17,08±0,05 c C	4,03±0,015 d C

Les moyennes suivies d'une lettre minuscule différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre le nombre de couples ; les moyennes suivies d'une lettre majuscules différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre les temps.

**Tableau 31** : Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur les teneurs en gluten de la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	1343	3	447,8	583994	<0,0001***
Temps (jours)	869	2	434,5	566590	<0,0001***
Interaction	509	6	84,83	110628	<0,0001***
Erreur résiduelle	0,0184	24	0,0007668		

\*\*\* : hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.10.4. Indice de sédimentation ZELENY

L'indice de sédimentation dans les lots de farine témoins et infestés par exposition à différents couples de couples d'*E. kuehniella* (5, 10 et 20 couples a été déterminée au cours du

temps (1, 2 et 3 mois), les résultats montrent une diminution significative de l'indice de ZELENY dans la série de farines infestées (farine exposée à 5, 10 et 20 paires) est enregistrée après 1 mois ( $p < 0,0001$ ), 2 mois ( $p < 0,0001$ ) et 3 mois ( $p < 0,0001$ ) par rapport à la série témoin. Une diminution significative est marquée après 1 mois (**Tab. 32**). L'analyse de la variance à deux critères de classification a révélé des effets significatifs du temps ( $p < 0,0001$ ), de l'infestation ( $p < 0,0001$ ), et de l'interaction temps/infestation ( $p < 0,0001$ ), respectivement (**Tab. 33**).

**Tableau 32** : Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur l'indice de sédimentation de ZELENY de la farine au cours du temps ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).

	Témoins	5 Couples	10 Couples	20 Couples
<b>1 mois</b>	<b>27±0,01 a</b> A	<b>27±0,021 a</b> A	<b>26±0,01 b</b> A	<b>23±0,02 c</b> A
<b>2 mois</b>	<b>27±0,01 a</b> A	<b>24±0,032 b</b> B	<b>21±0,015 c</b> B	<b>19±0,022 d</b> B
<b>3 mois</b>	<b>26±0,02 a</b> B	<b>22±0,036 b</b> C	<b>18±0,021 c</b> C	<b>10±0,031 d</b> C

Les moyennes suivies d'une lettre minuscule différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre le nombre de couples ; les moyennes suivies d'une lettre majuscules différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre les temps.

**Tableau 33** : Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur l'indice de sédimentation de ZELENY de la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
<b>Traitement</b>	433	3	144,3	290020	<0,0001***
<b>Temps (jours)</b>	274,5	2	137,3	275787	<0,0001***
<b>Interaction</b>	129,5	6	21,58	43369	<0,0001***
<b>Erreur résiduelle</b>	0,01194	24	0,0004977		

\*\*\* : hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.10.5. Humidité (teneurs en eau)

Le taux d'humidité dans les lots de farine témoins et infestés par exposition à différents nombres de couples d'*E. kuehniella* (5, 10 et 20 couples) a été déterminée au cours du temps (1, 2 et 3 mois), les résultats montrent une augmentation significative du taux d'humidité de la série de farines infestées (farine exposée à 5, 10 et 20 paires) est enregistrée après un mois ( $p < 0,0001$ ), 2 mois ( $p < 0,0001$ ) et 3 mois ( $p < 0,0001$ ) par rapport à la série témoin. Une augmentation significative est marquée après 1 mois (**Tab. 34**). L'analyse de la variance à deux critères de classification a révélé des effets significatifs du temps ( $p < 0,0001$ ), de l'infestation ( $p < 0,0001$ ) et de l'interaction temps/infestation ( $p < 0,0001$ ), respectivement (**Tab. 35**).

**Tableau 34 :** Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur l'humidité de la farine au cours du temps ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).

	Témoins	5 Couples	10 Couples	20 Couples
<b>1 mois</b>	14,4±0,01 <b>a</b> A	14,6±0,01 <b>b</b> A	14,9±0,05 <b>c</b> A	15,5±0,03 <b>d</b> A
<b>2 mois</b>	14,5±0,001 <b>a</b> B	15,3±0,02 <b>b</b> B	16,2±0,04 <b>c</b> B	17,7±0,02 <b>d</b> B
<b>3 mois</b>	14,5±0,02 <b>a</b> B	16,1±0,01 <b>b</b> C	17,3±0,01 <b>c</b> C	18,9±0,01 <b>d</b> C

Les moyennes suivies d'une lettre minuscule différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre le nombre de couples ; les moyennes suivies d'une lettre majuscules différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre les temps.

**Tableau 35 :** Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur l'humidité de la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
<b>Infestation (couples)</b>	41,03	3	13,68	24490	<0,0001***
<b>Temps (jours)</b>	20,72	2	10,36	18548	<0,0001***
<b>Interaction</b>	9,185	6	1,531	2741	<0,0001***
<b>Erreur résiduelle</b>	0,0134	24	0,0005584		

\*\*\* : hautement significatif ( $p < 0,0001$ ) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.10.6. Taux d'absorption de l'eau

Le taux d'absorption d'eau dans les lots de farine témoins et infestés par exposition à différents nombres de couples d'*E. kuehniella* (5, 10 et 20 couples) a été déterminée au cours du temps (1, 2 et 3 mois), les résultats montrent une augmentation significative du taux d'absorption d'eau dans la série de farines infestées est enregistrée dans la farine exposée à 5, 10 et 20 paires à 1 mois ( $p < 0,0001$ ) 2 mois ( $p < 0,0001$ ) et 3 mois ( $p < 0,0001$ ) par rapport à la série témoin. Une diminution significative du taux d'absorption par rapport à la série témoin après 1 mois (**Tab. 36**). L'analyse statistique de la variance à deux critères de classification a révélé des effets significatifs du temps ( $p < 0,0001$ ), de l'infestation ( $p < 0,0001$ ), et de l'interaction temps/infestation ( $p < 0,0001$ ), respectivement (**Tab. 37**). Cette diminution de l'absorption d'eau est liée à l'augmentation de l'humidité et à la disparition du gluten qui fixe l'eau.

**Tableau 36 :** Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur le taux d'absorption de l'eau dans la farine au cours du temps ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).

	Témoins	5 Couples	10 Couples	20 Couples
<b>1 mois</b>	<b>63±0,01 a</b> <b>A</b>	<b>62±0,021 b</b> <b>A</b>	<b>61±0,011 c</b> <b>A</b>	<b>60,7±0,015 d</b> <b>A</b>
<b>2 mois</b>	<b>62,5±0,02 a</b> <b>B</b>	<b>61,2±0,014 b</b> <b>B</b>	<b>59,6±0,018 c</b> <b>B</b>	<b>56±0,025 d</b> <b>B</b>
<b>3 mois</b>	<b>62±0,011 a</b> <b>C</b>	<b>59±0,032 b</b> <b>C</b>	<b>55±0,0165 c</b> <b>C</b>	<b>49±0,001 d</b> <b>C</b>

Les moyennes suivies d'une lettre minuscule différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre le nombre de couples ; les moyennes suivies d'une lettre majuscules différente sont significativement différentes ( $p < 0,05$ ) entre les temps.

**Tableau 37 :** Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur le taux d'absorption de l'eau dans la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P
Infestation (couples)	100,5	6	16,76	52228	<0,0001***
Temps	182,5	2	91,27	284452	<0,0001***
Interaction	264,7	3	88,23	274985	<0,0001***
Erreur résiduelle	0,007701	24	0,0003209		

\*\*\* : hautement significatif (p <0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

### 3.10.7. Taux de cendres

Le taux de cendres dans les lots de farine témoins et infestés par exposition à différents nombres de couples d'*E. kuehniella* (5, 10 et 20 couples) a été déterminée au cours du temps (1, 2 et 3 mois), les résultats montrent une augmentation significative du taux de cendres dans la série de farines infestées (farine exposée à 5, 10 et 20 paires) est enregistrée après 1 mois (p <0,0001), 2 mois (p <0,0001) et 3 mois (p < 0,0001) par rapport à la série témoin. Une augmentation significative est marquée après 1 mois (**Tab. 38**).

L'analyse statistique de la variance à deux critère de classification a révélé des effets significatifs du temps (p < 0,0001), de l'infestation (p < 0,0001), et de l'interaction temps/infestation (p< 0,0001), respectivement (**Tab. 39**).

**Tableau 38 :** Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur le taux de cendres dans la farine au cours du temps (m ± SD, n = 3).

	Témoins	5 Couples	10 Couples	20 Couples
<b>1 mois</b>	<b>0,65±0,001 a</b> A	<b>0,65±0,02 a</b> A	<b>0,73±0,032 b</b> A	<b>0,93±0,001 c</b> A
<b>2 mois</b>	<b>0,65±0,001 a</b> A	<b>0,69±0,001 a</b> A	<b>0,91±0,026 b</b> B	<b>1,17±0,032 c</b> B
<b>3 mois</b>	<b>0,66±0,001 a</b> A	<b>0,71±0,03 b</b> B	<b>1,12±0,012 c</b> C	<b>1,93±0,052 d</b> C

Les moyennes suivies d'une lettre minuscule différente sont significativement différentes (p< 0,05) entre le nombre de couples ; les moyennes suivies d'une lettre majuscules différente sont significativement différentes (p< 0,05) entre les temps.

**Tableau 39 :** Effet de l'infestation par différents nombre de couple *E.kuehniella* sur le taux de cendres dans la farine au cours du temps : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
<b>Infestation (couples)</b>	2,743	3	0,9142	1595	<0,0001***
<b>Temps</b>	0,8358	2	0,4179	729,2	<0,0001***
<b>Interaction</b>	1,034	6	0,1723	300,7	<0,0001***
<b>Erreur résiduelle</b>	0,01375	24	0,0005731		

\*\*\* : hautement significatif (p <0,0001) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de significativité.

# **DISCUSSION**

## 4. DISCUSSION

### 4.1. Caractéristiques de l'huile essentielle

#### 4.1.1. Rendement en huile essentielle (HE) du *Thymus munbyanus subsp coloratus*

Le rendement en HE des parties aériennes de *T. munbyanus subsp coloratus* isolées par hydrodistillation est de l'ordre de 2,56 % (v/w). Ce résultat est en accord avec les résultats de **Benchabane et al. (2012)** qui ont trouvés pour la même espèce à Azzaga, un rendement de 2,3% (v/w). Dans une autre région d'Algérie à Tlemcen, *T. munbyanus* a des rendements d'huiles essentielles plus élevés de 3% (v/w) (**Tefiani et al., 2015**).

Un rendement de 0,37 % (v/w) a été reporté pour le *Thymus munbyanus subsp. Ciliatus* du Maroc (Itzir) (**Belmalha et al., 2015**). Récemment **Benomari et al. (2020)** ont trouvés des rendements nettement plus bas en HE, également à Tlemcen avec 3 sous-espèces de *T. munbyanus*. Ils ont enregistré 1,38 % (v/w) pour la *subsp. munbyanus*, 0,96 % (v/w) pour la *subsp. eu-ciliatus* et 0,58 % (v/w) pour la *subsp. coloratus*.

Par conséquent, nous concluons que plusieurs facteurs pourraient être à l'origine de ces variations comme la nature du sol, le développement du stade végétatif de la plante qui donne un maximum de rendement au stade de floraison, la partie de la plante soumise à l'extraction et la période de récolte (**Hajji et al., 1989 ; Ainane et al., 2018**) et les facteurs climatiques (vitesse du vents et température) ainsi que l'altitude (**Mehalaine & Chenchouni, 2021**). On peut également supposer que les différences peuvent être liées aux poches glandulaires différentes de sous-espèce à autres (**Bendif et al., 2017**).

#### 4.1.2. Composition chimique de l'huile essentielle du *Thymus munbyanus subsp coloratus*

L'analyse chromatographique de l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* a identifié la présence de 54 composants dont les principales familles dominantes sont les monoterpènes oxygénés (55,86 %), suivis des hydrocarbures monoterpènes (26,49 %). Le carvacrol (39,11 %) puis le paracymène (15,47 %) et la thymoquinone (10,59 %) étaient les principaux composants les plus abondants de l'HE.

Nos résultats concordent avec les conclusions d'une étude précédente de **Benchabane et al. (2012)** sur un échantillon de *T. munbyanus* collecté à Azzazga (centre-nord de l'Algérie), dont le carvacrol s'est avéré être le chémotype dominant (35,20 %), suivis par le thymol (18,50 %) et le para cymène (08,50 %). Aussi, l'HE de *Thymus satureioides* cultivées au Maroc, sa composition chimique montre la dominance de carvacrol (26,18 %) et de bornéol (20,67 %) (**El-Bakkal et al., 2020**). Une autre étude réalisée par **Benomari et al., (2020)** sur un échantillon de *T. munbyanus subsp. ciliatus* collectés dans différentes localités géographiques à Tébessa en Algérie, dans lesquelles le carvacrol s'est avéré être le chémotype majoritaire (65,70 %).

Contrairement à nos résultats, **Chikhoun et al. (2015)**, ont trouvés que le thymol (52 %) était plus abondant que le carvacrol (5,20 %) dans un échantillon prélevé dans la région d'Ouzellaguen (800-1000 m) en Algérie. Ainsi que ceux de **Bendif et al. (2017)** qui ont rapportés que le bornéol était le composé prédominant (31,20 %) suivi du camphre (13,60 %) dans la région de Borj Bou Arreridj en Algérie. **Benomari et al. (2020)** ont également signalés pour l'échantillon de *T. munbyanus subsp. coloratus* collectés au même endroit que le camphre (25,90 %), le myrcène (16,90 %) et le camphène (06,20 %) étaient les principaux composants.

Des facteurs environnementaux tels que l'humidité relative, la température, la durée de l'insolation, l'altitude, ainsi que le rayonnement solaire ultraviolet (UV), qui comprend principalement les UVA (320–400 nm) qui varient selon la saison et la situation géographique, affectent également la composition et la quantité de l'huile essentielle en fonction de l'espèce puisqu'il provoque un métabolisme secondaire (**Mumivand et al., 2022**). Et bien d'autres facteurs influencent directement la proportion des différents constituants d'une huile essentielle, notamment chez les espèces dont les structures sécrétoires sont superficielles (cas des poils sécréteurs des lamiacées) (**Besombes, 2008 ; Selles, 2012 ; Bendif et al., 2017 ; Arruda et al., 2022**).

En effet, les conditions de culture (nature du sol, apport d'engrais), les parties de la plante, les stades de croissance, la génétique, le moment de la collecte, le procédé d'extraction ainsi que le temps d'extraction sont des facteurs modifient la composition chimique des HES (**Kianersi et al., 2021**). D'autres facteurs tels que les traitements préalables (conditions de transport, temps de séchage et de stockage du matériel végétal, etc.) peuvent entraîner une grande variabilité dans le composition d'une huile essentielle, suite à une dégradation enzymatique (**Bendif et al., 2017 ; Oftadeh et al., 2020 ; Kianersi et al., 2021**).

#### 4.2. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* sur l'inhibition de la mue d'adulte

De plus en plus les études proposent l'utilisation des huiles essentielles végétales dans les programmes IPM (Integrated Pest Management) (Sabbour & Abd El-Aziz, 2018). Une variété de métabolites secondaires sont connus pour être de puissants insecticides (Pavela, 2009), car ils agissent comme fumigeant (Choi *et al.*, 2006), comme insecticides de contact (Tang *et al.*, 2007) et comme anti-appétant (Gonzalez-Coloma *et al.*, 2006), peuvent également être utiliser en application topique (Bovornnanthadej *et al.*, 2013). Ces activités biologiques des HEs peuvent affecter certains paramètres biologiques tels que la croissance (Nathan *et al.*, 2008), le développement et la reproduction (Isikber *et al.*, 2006). La toxicité des huiles essentielles extraites de plantes aromatiques a été étudiée sur des insectes ravageurs de denrées stockées (Campolo *et al.*, 2014 ; Mossa, 2016 ; Shahriari *et al.*, 2017 ; 2018 ; 2019 ; Guettal *et al.*, 2020 ; Oftadeh, *et al.*, 2020 ; Shao *et al.*, 2021 ; Qiao *et al.* 2021 ; Majdoub *et al.*, 2022).

Nos résultats indiquent que l'HE de *T. munbyanus subsp coloratus* a montré une activité insecticide intéressante à l'égard d'*Ephestia kuehniella* Zeller. Différentes concentrations (5, 15, 25, 40 et 100 µl/mL d'acétone) ont été appliquées par voie topique sur des chrysalides nouvellement exuviées d'*E. kuehniella* Zeller (moins de 8h), ont provoquées des effets létaux et sub létaux lors de la métamorphose des chrysalides conduisant à une inhibition de l'émergence des adultes.

Certaines huiles essentielles ont été documentées pour avoir une activité insecticide contre différents stades d'*E. kuehniella* (Erler, 2005 ; Ayvaz *et al.*, 2010 ; Karaborklu *et al.*, 2011 , Ercan *et al.*, 2013). En effet, Emamjomeh *et al.*, (2014) ont découvert que *Zataria multiflora* présentait une toxicité élevée par fumigation contre les adultes et les larves d'*E. kuehniella*. De plus, Aouadi *et al.* (2020) ont démontrés le potentiel de fumigation et une toxicité par contact contre *E. kuehniella* par l'huile essentielle de *M. rotundifolia* et l'huile de *M. communis*.

Récemment, Plusieurs études ont démontré l'activité insecticide des huiles essentielles d'espèces du genre *Thymus* ou d'autres genres sur des insectes et même des ravageurs des denrées stockées (Baş & Ersoy, 2020). Selon Ercan *et al.* (2018) les huiles essentielles de *Thymus argaeus* et *Thymus sipyleus* ont montré une efficacité contre le stade larvaire ainsi que le stade œufs d'*E. kuehniella*. Notamment, les huiles essentielles de *Thymus bleicherianus*,

*Thymus capitatus* et *Thymus satureioides* qui ont montrés une activité insecticide contre *Sitophilus oryzae* (Ainane *et al.*, 2018).

Des résultats similaires ont été trouvés avec l'HE du *Thymus vulgaris* qui a montré une activité larvicide intéressante contre les larves de moustiques de *Cx. pipiens* (Bouguerra *et al.*, 2018). Récemment, Guettal *et al.* (2020) ont rapportés que l'huile essentielle de *Citrus limonum* (Sapindales: Rutaceae L.) présentait une toxicité fumigène, avec une relation dose-réponse contre l'insecte de magasin *Sitophilus granarius*. Plus récemment, Kharoubi *et al.* (2021) ont montrés que l'HE de *Mentha x piperita* présente des activités larvicides et ovicides contre *Culex pipiens* L.

Les huiles essentielles sont des mélanges d'hydrocarbures volatils avec une variété de groupes fonctionnels et leurs constituants insecticides sont principalement des monoterpénoïdes (Coats *et al.*, 1991). De plus, la complexité de la composition chimique de la plupart des huiles volatiles leur confère une faible spécificité (Bakkali *et al.*, 2008), de sorte que leur activité n'est pas attribuée à un seul mécanisme d'action, car la grande variété de groupes chimiques qu'elles possèdent touchent par conséquent plusieurs cibles dans la cellule (Burt, 2004 ; Benchaabane *et al.*, 2014).

Bien que de nombreuses études aient signalé l'efficacité insecticide des HEs, peu d'informations sont disponibles sur la relation entre l'effet insecticide et la composition chimique de l'HE, qui est difficile à déterminer car les interactions entre les composés peuvent influencer l'activité du mélange. En principe chaque composé aromatique contenu dans l'HE est unique en termes de structures et d'activités biologiques. Les divers mécanismes d'action des substances individuelles, dont beaucoup restent encore inconnus, peuvent dans leurs combinaisons non seulement fournir une augmentation significative de l'efficacité, mais aussi empêcher le développement de la résistance aux ravageurs (Rattan, 2010).

Vraisemblablement, on suppose que la grande efficacité de l'huile essentielle du thym peut être attribuée à la présence de quantités élevées de composés phénoliques tels que le carvacrol, qui peut jouer un rôle insecticide important grâce à son groupe hydroxyle (-OH) (Anderson., 1997 ; Atti-Santos *et al.*, 2004 ; Gong & Ren, 2020). Plusieurs études confirment la toxicité de ce composant face aux insectes tels que l'étude de Gong & Ren. (2020) qui ont démontrés que l'activité insecticide du carvacrol était 2 à 3 fois supérieure à celle du p-cymène et du  $\gamma$ -terpinène qui sont eux-mêmes des monoterpènes très toxiques. Ces résultats étaient en accord avec ceux d'Abdelgaleil (2010), contre les larves larvaire de *S. littoralis*. De même,

**Zhang et al. (2016)** ont également découvert que le carvacrol était plus toxique que le p-cymène et le  $\gamma$ -terpinène contre *Drosophila melanogaster*.

Les valeurs ID<sub>25</sub> et ID<sub>50</sub> ont été estimées à 15,38 et 25,22  $\mu\text{L}/\text{mL}$  d'acétone, respectivement. Nos résultats indiquent que les doses d'inhibition enregistrées sont inférieures à celles retrouvées dans plusieurs études. **Tchoumboungang et al. (2009)** ont démontré l'activité insecticide du *Thymus* populaire récolté au Cameroun sur des larves d'*Anopheles gambiae* ou la CL<sub>50</sub> obtenue était de  $119 \pm 1,50 \mu\text{g}/\text{mL}$ , et la LC<sub>90</sub> était de  $147 \pm 2,40 \mu\text{g}/\text{mL}$ . Les huiles essentielles issues de *T. vulgaris*, ont un fort potentiel dans la production de nouveaux larvicides et adulticides avec des valeurs de 134,10 $\mu\text{g}/\text{l}$  après 24 h (**Pavela et al., 2009**). De plus, **Dargahi et al., (2014)**, ont étudiés l'activité larvicide de *Thymus transcaspicus*, une plante aromatique du genre *Thymus*, contre *An. Stephensis*, la mortalité la plus élevée a été observée à 250  $\mu\text{g}/\text{L}$  d'HE avec la CL<sub>50</sub>.

Cette différence dans les doses utilisées peut s'expliquer par de multiples raisons, non seulement les espèces de plantes sont différentes donc les HEs varient, par conséquent la composition chimique diffère, en plus de la variations des insectes utilisés et leurs stades de développement lors de l'exposition à ces HEs naturelles (**Bendjedid et al., 2021**). En effet, la concentration nécessaire pour atteindre la mortalité dépend de nombreux facteurs, le stade de développement, la température ambiante et la capacité des substances à pénétrer la cuticule, ainsi que leurs mécanismes d'action (**Rattan, 2010**).

### 4.3. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* sur sur le développement

Chez les insectes, le développement et la reproduction sont contrôlés par des facteurs externes (température, nutrition, photopériode) mais aussi internes comme les hormones et les neurohormones (**Gilbert et al., 2002 ; Lafont et al., 2005 ; Gruntenko & Rauschenbach, 2009 ; Hiruma & Kaneko, 2013**). Cependant, ce développement peut être perturbé par différents insecticides, se traduisant généralement par un allongement de la durée de développement, l'apparition de malformations morphologiques et/ou par une réduction de la longévité (**Louat, 2013**).

En effet, Des travaux sur les biopesticides d'origine végétales ont montré des effets délétères sur la croissance et le développement des insectes, en réduisant le poids des larves, des pupes et des adultes et l'allongement des stades de développement et l'inhibition de

l'émergence des adultes des insectes (Shaalan *et al.*, 2005 ; Talukder, 2006 ; Xu *et al.*, 2019). Nos résultats indiquent que l'application de l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* a affecté à la fois la croissance pondérale des chrysalides ainsi que la durée du stade nymphal mais aussi la longévité des adultes.

Des résultats similaires sur la même espèce *Ephestia kuehniella* ont été signalés par Taffar *et al.* (2021) qui ont enregistré une diminution significative du poids des chrysalides traités avec l'Azadirachtine. Le poids corporel d'autres insectes a été également affecté par divers huiles essentielles, bio insecticides et même des insecticides, tels que *Culex. Pipiens* par l'HE du *Thymus vulgaris* (Bouguerra, 2019), *H. armigera* par un traitement au Thymol (Bovornnanthadej *et al.*, 2013), chez deux espèces de moustiques, *Culex Pipiens* et *Cs. longiareolata* par les HEs de *L. dentata* et *M. piperita* (Dris, 2018). *Drosophila melanogaster* par l'Azadirachtine (Bezzar *et al.*, 2016). La diminution du poids des chrysalides chez *E. kuehniella* pourrait s'expliquer par l'utilisation des réserves énergétiques acquises lors des stades larvaires pour détoxifier le produit toxique, notamment l'HE du thym.

Nos résultats concordent avec ceux de Delimi *et al.* (2013) ou l'HE d'*Artemessia herba alba* appliquée sur des chrysalides d'*E. kuehniella*, a provoqué un prolongement du développement nymphal ainsi qu'une réduction de la longévité des adultes. En effet, divers huiles essentielles (*Satureja thymbra*, *Origanum onites*, *Myrtus communis*, *Origanum majorana*, *Laurus nobilis*, *Citrus limon*, *Chenopodium botrys* et *Tanacetum armenum*) ont provoquées une diminution de la longévité des adultes issue à partir d'œufs d'*E. kuehniella* traités aux HEs (Karaborklu *et al.*, 2011). De plus Lazarević *et al.* (2020) ont révélé des perturbations dans le développement et la survie des adultes d'*Acanthoscelides obtectus* exposés à l'HE de *Thymus vulgaris*. En plus, Un rallongement dans la longévité a été reporté chez *Sitotroga cerealella* après le traitement au trisulfure de diallyle une substance active de huile essentielle d'ail (DAT) (Wu *et al.*, 2020).

D'autre part, l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* s'avère capable de réduire significativement la longévité des adultes sur l'acarien ravageur *Tetranychus Urticae koch* (Aissaoui *et al.* 2018). De même, Kastamonuluoğlu *et al.* (2020) ont démontré que le terbinafine réduit la durée du développement ainsi la longévité de la grande teigne de la cire de *G. mellonella*. Egalement, Hamida *et al.* (2021) ont aussi rapportés les mêmes résultats chez les adultes de *Drosophila melanogaster* traitées avec le spiromesifen.

En effet, Plusieurs études ont également souligné que la durée de développement et la longévité des adultes sont toutes deux liées à des facteurs de stress environnemental tels que l'exposition aux insecticides (Mayer & Baker, 1984 ; Zwaan *et al.*, 1995). De ce fait, la diminution de la durée des stades de développements peut être expliquée par la réduction constatée des réserves énergétiques indispensable à la croissance et au développement (Reim *et al.*, 2006). Cette perturbation de la croissance des insectes peut probablement être due à l'interférence de l'HE avec le métabolisme des ecdystéroïdes.

#### 4.4. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* sur les taux des métabolites

Les réserves énergétiques d'un insecte comprennent les glucides, les protéines et les lipides (Wu *et al.*, 2020). Ses métabolites sont synthétisés principalement dans le corps gras, ils sont ensuite sécrétés dans l'hémolymphe et/ou utilisés par divers tissus (Zhang & Xi, 2014), pour cause ils sont nécessaires à tous les stades de la vie des insectes et sont essentiels à de nombreux processus physiologiques, tels que la reproduction, le vol, la mue et la défense contre les agents pathogènes (Chen *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2016 ; Wu *et al.*, 2020).

Les glucides ou carbohydrates, en tant qu'éléments énergétiques jouant un rôle crucial dans la physiologie des insectes, ils peuvent se transformer ou se convertir en lipides et participent à la production de protéines en contribuant à la production d'acides aminés (Piri *et al.*, 2014). Les lipides sont également des composants importants formant des acides gras qui sont stockés sous forme soit de triglycérides, dans les gouttelettes lipidiques du corps gras et jouent un rôle important dans le métabolisme énergétique (Ng *et al.*, 2015 ; Wu *et al.*, 2020), soit des phospholipides et bien des stérols qui font partie intégrante des parois cellulaires des insectes et contribuent également à d'autres fonctions (Chapman, 1998 ; Bouguerra *et al.*, 2018).

La croissance, la reproduction et la défense contre les agents pathogènes sont essentiellement liées à la présence de molécules lipidiques. Ces molécules font également partie des structures hormonales et constituent également une ressource énergétique en cas de besoin (Klowden 2007 ; Oftadeh *et al.*, 2020). En effet, ces métabolites sont utilisés comme matières premières pour la synthèse d'autres substances et sont interdépendants et transformable (Wu *et al.*, 2020).

Le corps de l'insecte est principalement composé de protéines. Au cours de la croissance et du développement, les protéines sont décomposées en acides aminés par des protéases, qui jouent un rôle essentiel dans divers cycles métaboliques. Les protéines sont donc des substances énergétiques importantes utilisées pour soutenir les activités de la vie des insectes et affectent les caractéristiques associées à la forme physique telles que la fécondité, le taux de croissance et la taille corporelle (Ullah *et al.*, 2019).

La teneur en protéines totales est un paramètre souvent utilisé pour mettre en évidence un stress chez un organisme bioindicateur (Lu *et al.*, 2017). En effet, lorsque les contraintes environnementales (stress hydrique, thermique, oxydant, exposition à une pollution, infection par des agents pathogènes...) sont fortes, la plupart des protéines subissent une dénaturation (Khani & Heidari, 2008). La structure des protéines ainsi que leur fonction peuvent être altérées par les ROS (Les dérivés réactifs de l'oxygène) produites soit par le métabolisme cellulaire ou par des oxydants exogènes (Lu *et al.*, 2017).

Néanmoins, les enzymes du stress antioxydant contribuent au maintien de niveaux non toxiques des ROS, afin d'éviter toute modification des chaînes latérales d'acides aminés, qui pourrait conduire à une altération de la fonction des protéines ou, pourrait activer des voies spécifiques impliquées dans la régulation des fonctions clés cellulaires (Puig & Mattila, 2011).

les métabolites peuvent être inductibles suite à une exposition aux xénobiotiques (Haubruge & Amichot, 1998 ; Bouguerra *et al.*, 2018). Des études ont montrés que les Bio-insecticides stimulent le métabolisme des insectes (Wu *et al.*, 2020). De même, Les huiles essentielles peuvent engendrer des perturbations biochimiques exprimées sur le plan quantitatif par une augmentation ou un déclin en différents métabolites (protéines, carbohydrates, lipides) (Yazdani *et al.*, 2013 ; Gnanamani & Dhanasekaran, 2017).

L'HE du *T.munbyanus subsp coloratus* a induit une forte réduction des métabolites chez les chrysalides et les adultes d'*E. kuehniella*. De même chez *E. kuehniella*, Shahriari *et al.* (2017) qui a signalé des quantités plus faibles de ces macromolécules dans les larves d'*E. kuehniella* traitées avec de l'HE de *Teucrium polium* L. (Lamiaceae) et de l' $\alpha$ -pinène. Ces conclusions étaient conformes à celles de Shahriari *et al.* (2019) ou une réduction des quantités de protéines totales, de glucides et de lipides dans les larves de quatrième stade après le traitement avec les HES d'*E. globulus* et d'*A. sativum* est noté.

L'HE du *Thymus vulgaris* a induit une réduction des réserves énergétiques, notamment lipides, glucides et protéines contenues dans le corps des larves de quatrième stade de *C. pipiens* suite au traitement uniquement 24h après (Bougeurra, 2019). De plus, Ebadollahi *et al.* (2013) ont signalé une diminution de la teneur en glucides, protéines et lipides chez les larves de *T. castaneum* traitées avec l'HE d'*Agastache foeniculum*. Les mêmes observations ont été rapportées par Tarigan & Harahap. (2016) après traitement de *Tribolium castaneum* avec les HES de *Cinnamomum aromaticum*, *Elettaria cardamomum* et *Myristica fragrans*. D'autre part, l'huile essentielle de l'ail accélère le catabolisme du tréhalose, inhibe la synthèse des protéines et endommage le métabolisme énergétique chez *Myzus persicae* un ravageur majeur du pêcher (Sulzer) (Zhang *et al.*, 2016).

De même, Oftadeh *et al.* (2020) ont rapporté que les extraits d'huile essentielle d'*Artemisia annua* provoquaient une diminution de la quantité de protéines, de glucides et de lipides dans les larves traitées de la pyralide du mûrier (*Glyphodes pyloalis*). Les principaux métabolites énergétiques de *Sitotroga cerealella* ont été diminués après le traitement au trisulfure de diallyle (DAT), une substance active issue de l'huile essentielle d'ail (Wu *et al.*, 2020). Guettal *et al.* (2021) ont aussi rapportés une diminution du métabolisme énergétique due à un traitement à l'azadirachtine chez des adultes de *S. greniers*.

Les ressources en composés clés, notamment les protéines, glucides et les lipides, sont vraiment importantes pour les processus physiologiques des insectes. Ceux-ci incluent le développement et la reproduction. Par conséquent, tout obstacle pouvant interférer avec les macromolécules clés affecterait la situation physiologique essentiellement au stade adulte. Les produits secondaires des plantes peuvent avoir des effets délétères sur la physiologie. Par conséquent, l'insecte est tenu de dépenser de grandes quantités de molécules énergétiques clés (Paiva *et al.* 2012 ; Oftadeh, *et al.*, 2020). Dans notre étude, en raison des caractéristiques de non-alimentaires des chrysalides et des papillons adultes, nous pensons que l'HE pourrait accélérer le métabolisme énergétique et synthétiser un grand nombre de protéines pour résister aux perturbations.

Les insecticides ont une forte influence sur la synthèse des protéines chez les insectes. Des protéines telles que les protéines de choc thermique (un type de protéine de stress, est induite par une température élevée ou basse, une teneur élevée en sel, une privation de nutriments, des pesticides et d'autres stimulations), le récepteur de l'ecdysone et la vitellogénine sont essentielles à la croissance, au développement et à la reproduction des insectes (Ullah *et*

*al.*, 2019 ; *wu et al.*, 2020). En effet, cette baisse de la teneur en protéines est probablement due à l'interférence bioinsecticide (HE) avec les hormones régulant la synthèse des protéines (*Ramakoteswara, 1991 ; Sharma et al., 2011*). Puisque les animaux ont besoin d'une énergie élevée dans des conditions de stress et la demande d'énergie peut avoir conduit au catabolisme des protéines (*Gnanamani & Dhanasekaran, 2017*).

La baisse des glucides, pourrait être due au fait que davantage de sucres sont métabolisés pour couvrir les dépenses énergétiques pendant les conditions de stress (*Bouguerra et al., 2018*). La diminution de la quantité de lipides peut être due à la peroxydation lipidique mais aussi à un déplacement du métabolisme énergétique vers le catabolisme lipidique en raison du stress induit par l'HE. Les triglycérides, en tant que substance énergétique principale, sont décomposés en glycérol et en acides gras, libérant de l'ATP et d'autres intermédiaires métaboliques dans le processus métabolique (*Chakroun et al., 2007*).

Au final, La baisse de ces réserves a été justifiée dans des travaux antérieurs par une interférence des extraits avec les hormones régulatrices de la synthèse des protéines et donc l'accélération de leur dégradation (*Ramakoteswara et al., 1991 ; Vijayaraghavan et al., 2010 ; Sharma et al., 2011 ; Gnanamani & Dhanasekaran, 2017*) ; ainsi que l'utilisation excessive des réserves lipidiques et glucidiques pour produire de l'énergie (*Olga et al., 2006 ; Yazdeni et al., 2014*).

Toutes ces modifications dans le profil biochimique témoignent du stress physiologique, qui dépend probablement de l'action de différents composés phytochimiques contenus dans l'HE (*Sharma et al., 2011*). L'évaluation des paramètres biochimiques constitue un moyen majeur pour déterminer le pouvoir toxique des bioinsecticides d'origine végétale et qui ont un grand intérêt dans le contrôle biologique des insectes nuisibles (*Sak et al., 2006*).

#### **4.5. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* sur les réponses des biomarqueurs**

Un biomarqueur est défini comme un changement mesurable dans une réponse biologique ou biochimique (*Joshi et al., 2016*) et mesure l'interaction entre un système biologique et agent environnemental. Ils peuvent être chimiques, physiques ou biologiques (*Depledge, 1994*). L'inhibition ou l'induction de biomarqueurs dépend de l'évaluation du niveau d'exposition et des effets toxiques des xénobiotiques sur l'organisme (*Sturm et al., 2000 ; Varo et al., 2001*). Les principaux biomarqueurs utilisés sont généralement des marqueurs

enzymatiques tels que la catalase, la glutathion peroxydase, l'acétylcholine estérase et la glutathion S-transférase ou bien non enzymatiques tels que le Malondialdéhyde.

#### 4.5.1. Effets sur Les glutathion S-transférases (GSTs)

Les glutathion S-transférases (GSTs) sont un groupe d'enzymes impliquées dans la détoxification et la défense oxydative des insectes contre les produits chimiques d'origine naturelle et synthétique (Wei *et al.*, 2015). Ils sont également impliqués dans le transport intracellulaire, la biosynthèse des hormones et la protection contre le stress oxydatif (Jing *et al.*, 2017). En effet, ces enzymes bénéficient de fonctionnalités si diversifiées basées sur ses propriétés chimiques (présence de groupes thiol impliqués dans les transitions redox, réactions d'échange formation de thioesters et enfin capacité de piégeage radicalaire) (Park & Tak, 2016 ; Oftadeh *et al.*, 2020).

Nos résultats indiquent que l'application de l'huile essentielle du *T. munbyanus* aux doses d'inhibition (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) à l'égard d'*E. kuehniella* induit une induction des activités spécifiques des GSTs dès le premier jour après traitement. Cette augmentation des GSTs à différents temps durant le stade nymphal et qui se poursuit jusqu'au stade adulte par rapport aux témoins, pourrait s'expliquer par une induction du processus de détoxification, une réaction de l'organisme contre l'entrée de l'HE. Ces résultats sont cohérents avec les études précédentes (Khosravi *et al.*, 2011 ; Kumrungsee *et al.*, 2014 ; Shahriari & Sahebzadeh, 2016).

Nos résultats sont en accord avec des travaux antérieurs portant l'activité spécifique des GSTs chez les larves de la même espèce, traitées avec du  $\alpha$ -pinène, du trans-anéthole et du thymol (Shahriari *et al.*, (2018). Les mêmes résultats ont été reportés pour la même espèce suite à un traitement à la saponine de thé (TS) (Shahriari *et al.*, 2021).

D'autres HEs ont également provoquées l'induction du système de détoxification via l'augmentation de l'activité spécifique des GSTs sur divers insectes, tels l'étude faite par Piri *et al.* (2020) sur l'huile essentielle d'*ajwain* (*Carum copticum*, Apiacées) et de ses principaux constituants thymol, p-cymène et  $\gamma$ -terpinène contre *Tuta absoluta*, l'HE de *Hypericum perforatum* chez *Tenebrio molitor* (Baş & Ersoy, 2020), l'huile essentielle de *T. vulgaris* contre les larves de *C. pipiens* (Bouguerra *et al.*, 2018). Plus récemment, Kharoubi *et al.* (2021) ont indiqués que l'huile de *Mentha x piperita* induit une activation du système de détoxification en induisant des activités GSTs chez les larves de *Culex pipiens*.

L'activité enzymatique élevée peut indiquer l'élimination du produit chimique entré dans les tissus ou les cellules, en effet certains métabolites secondaires des HE pourraient être détoxifiés par conjugaison au groupe thiol nucléophile (-SH) du GSH dans la molécule GST (Shahriari *et al.*, 2018). De plus, la peroxydation lipidique perturbe l'organisation structurale des membranes cellulaires, de sorte que les GSTs devraient être induites pour éliminer les produits de la peroxydation lipidique ou les hydroperoxydes des cellules endommagées (Enayati *et al.*, 2005 ; Huang *et al.*, 2017).

Par conséquent, l'activité des enzymes GSTs a augmenté après l'exposition des insectes à des produits chimiques ou à des métabolites secondaires d'huiles essentielles, ce qui reflète l'initiation du processus de détoxification, qui est une forme de défense des insectes contre le pesticide. La diminution de l'activité des GST, observée entre les âges, pourrait s'expliquer par l'implication de ces enzymes dans la biosynthèse hormonale et la régulation du métabolisme et de la physiologie cellulaires (Broard & Menon, 2013).

#### 4.5.2. Effet sur l'acétylcholine estérase (AChE)

L'acétylcholine estérase (AChE) est l'une des enzymes hydrolytiques les plus importantes du système nerveux des insectes qui équilibre la transduction du signal neuronal par hydrolyse rapide du signal de l'acétylcholine dans la fente synaptique en acétate et en choline dans les fentes synaptiques (Jacob & Mason, 2005). Outre les insecticides chimiques comme les organophosphates et les carbamates, l'AChE s'est avérée être une cible importante des monoterpénoïdes (Philippou *et al.*, 2010 ; Kim *et al.*, 2013 ; Li *et al.*, 2013 ; Seo *et al.*, 2013 ; Li *et al.*, 2013 ; Seo *et al.*, 2014).

Les résultats de la présente étude ont révélé que l'HE de *Thymus munbyanus subsp coloratus* aux doses d'inhibition (DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub>) provoquait une réduction significative et importante par rapport aux témoins dans l'activité de l'AChE d'*E. kuehniella* à différents temps dans le stade nymphal et qui se poursuit jusqu'au stade adulte. La diminution de l'activité spécifique de l'AChE tend à confirmer les effets neurotoxiques de l'HE de *T. munbyanus* induit chez *E. kuehniella*.

Des effets similaires ont été observés chez *E. kuehniella* après traitement par des métabolites issue des HEs, l' $\alpha$ -pinène, le trans-anéthole et le thymol (Shahriari *et al.*, 2018).

Plus récemment, les larves d'*E. kuehniella* exposé à l' HEs d'*Allium sativum* et d'*Eucalyptus globulus* montre une diminué de l'activité acétylcholine estérase (**Shahriari et al., 2019**). En accord avec nos résultats **Baş & Ersoy. (2020)** qui ont enregistré une neurotoxicité de l'HE *Hypericum perforatum* chez *Tenebrio molitor*.

Cela pourrait s'expliquer par une inhibition de l'AChE que **Dandlen et al. (2011)** a déjà signalé que différentes huiles essentielles isolées de diverses épices portugaises du genre *Thymus* présentaient une capacité d'inhibition de l'AChE soulignant le fort potentiel d'inhibition de l'AChE de *T. zygis subsp. zygis*, marqué par une quantité relativement élevée du métabolite carvacrol (43,60 %). D'après cette étude, on peut supposer que le carvacrol soit un inhibiteur très actif de l'AChE. De plus, **Seo et al. (2015)** ont signalé l'inhibition de l'AChE par le carvacrol chez *Aedes Albopictus*. **López et al. (2018)** ont rapporté que *Origanum syriacum* et carvacrol inhibaient l'activité de l'AChE chez *Anisakis simplex*.

En général, les huiles essentielles sont de nos jours connues comme des neurotoxines à effets aigus interférant avec les transmetteurs octopaminergiques des Arthropodes (**Aissaoui et al., 2018**). Cependant, l'inhibition de l'AChE peut s'expliquer par différentes causes. Plusieurs études ont montrées que la plupart des huiles essentielles comprenant des composés monoterpènes, peuvent éventuellement se lier à des récepteurs protéiques, conduisant à une compétition réversible inhibant l'enzyme acétylcholinestérase, par l'occupation du site hydrophobe du centre actif de l'enzyme (**Ryan & Byrne, 1988 ; Chaubey et al., 2014**).

En effet, selon **Czerniewicz & Chrzanowski. (2021)** les huiles peuvent aussi inhiber l'activité de l'acétylcholinestérase et de la Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase, des enzymes importantes du système nerveux des insectes. Les preuves de la littérature suggèrent aussi l'implication des HEs dans la transmission cholinergique, conduisant à une altération de la conduction nerveuse des insectes et de la coordination du système neuromusculaire. Cela peut entraîner une altération du comportement des insectes, un manque de coordination motrice, voire la mort (**Maggi & Benelli, 2018 ; Badalamenti et al., 2021**).

**Rattan (2010)** a examiné le mécanisme d'action des métabolites secondaires des plantes rencontrées sur le corps des insectes et a enregistré plusieurs perturbations physiologiques, telles que l'inhibition des canaux chlorure GABA- (par le thymol), la perturbation des échanges d'ions sodium et potassium (par la pyréthrine), et l'inhibition de la respiration cellulaire (par la

roténone), et le blocage mitotique (par l'azadirachtine). Ces études confirment que l'activité insecticide et la neurotoxicité des monoterpènes sont dues à plusieurs mécanismes qui affectent de multiples cibles.

#### 4.5.3. Effets sur le malondialdéhyde MDA

Le MDA un aldéhyde dérivé, c'est le principal produit du processus de peroxydation des acides gras polyinsaturés. Il indique le niveau de peroxydation lipidique (LPO) et constitue donc un indicateur précoce d'une agression toxique comme l'exposition à certains pesticides, de ce fait il est utilisé comme biomarqueur du stress oxydatif (lié aux dommages oxydatifs des lipides) (Büyükgüzel *et al.*, 2010 ; Baş & Kalender, 2016 ; Baş & Ersoy, 2020). Ces perturbations fonctionnelles peuvent aboutir à la mort des cellules. Ainsi, la peroxydation lipidique est une source endogène des dommages de l'ADN (Marnett, 2002).

La présente thèse montre que l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* appliqué sur les chrysalides 0 jour d'*E. kuehniella* augmente rapidement le taux de MDA (1 jour après le traitement) par rapport aux témoins. Ceci révèle que l'HE induit un stress oxydatif qui conduit à la peroxydation des lipides. Le statut normal est restauré 3 jours après traitement, ce qui suggère l'activation d'un système de détoxification des peroxydes lipidiques. Le stress oxydatif mis en évidence par l'augmentation du niveau de MDA pourrait être lié à réduction de l'activité des enzymes antioxydantes.

Nos résultats sont en conformité avec la littérature où des effets similaires ont été également enregistrés chez *E. kuehniella* traitée avec les HEs d'*Allium sativum* et d'*Eucalyptus globulus* (Shahriari *et al.*, 2019), l' $\alpha$ -pinène, le trans-anéthole et le thymol (Shahriari *et al.*, 2018), la saponine de thé (TS) (Shahriari *et al.*, 2021). Divers HEs et bio-pesticides ont induit un accroissement du taux de l'MDA chez divers insectes tels que, *Thymus vulgaris*, ainsi que le chémotype thymol chez d'*A. obtectus* (Lazarević *et al.*, 2020), *Hypericum perforatum* chez *Tenebrio molitor* (Baş & Ersoy, 2020), HEs chez *Musca domestica* (Chintalchere *et al.*, 2020), la juglone un métabolite secondaire naturellement synthétisé dans les feuilles et les enveloppes vertes des espèces de noyer. chez *Galleria mellonella* L. (Pyralidae: Lepidoptera) (Altuntaş *et al.*, 2020).

#### 4.6. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* sur les taux des vitéllogénines et des vitellines

Le développement et la reproduction des insectes sont contrôlés par des facteurs externes (température, nutrition, photopériode) mais aussi internes comme les hormones et les neurohormones (Gilbert *et al.*, 2002 ; Lafont *et al.*, 2005 ; Gruntenko & Rauschenbach, 2009 ; Hiruma & Kaneko, 2013). Les deux principales hormones, agissant en coordination dans ces processus physiologiques, sont les ecdystéroïdes et l'HJ. Chez les insectes, le corps gras, analogue au tissu adipeux et foie des vertébrés, régit la plupart des processus métaboliques et de synthèse (Liu *et al.*, 2009 ; Zhang & Xi, 2014) ; il intervient dans la reproduction en participant à la vitellogénèse (Denardi *et al.*, 2012).

Ce processus, est une phase d'accroissement des ovocytes qui est contrôlé par la 20E et l'HJ, ces hormones jouent un rôle crucial dans la métamorphose et la reproduction des insectes (Wu *et al.*, 2018). Les deux hormones stimulent la production des vitéllogénines dans le corps gras mais aussi leur absorption par les ovocytes permettant la croissance rapide des follicules vitellogéniques (Richard *et al.*, 1998). Parallèlement à la synthèse des vitéllogénines, l'HJ contrôle également la transcription des gènes des vitéllogénines et leur synthèse (Hoffman & Sorge, 1996 ; Li *et al.*, 2004 ; Tufail *et al.*, 2014). Les deux hormones montrent une dualité d'action dans le contrôle de la vitellogénèse en l'activant ou en l'inhibant (Swevers *et al.*, 2005 ; Huang *et al.*, 2008) mais jouent surtout un rôle essentiel dans le maintien de l'expression des gènes des vitéllogénines (Tufail *et al.*, 2014).

La vitellogénèse est une condition préalable à la production d'œufs (Ovocytes) des insectes et au développement embryonnaire après la ponte. Par ce processus qui nécessite une énergie considérable et qui doit s'adapter en permanence à des paramètres nutritionnels fluctuants (Jouandin *et al.*, 2014), le précurseur de la protéine vitelline, la Vitellogénine (Vg) synthétisée dans le corps adipeux est transporté par l'hémolymphe et absorbé par les ovocytes en cours de maturation (Wu *et al.*, 2018). En effet, Les vitellines jouent un rôle nutritionnel essentiel au cours de l'embryogenèse (Hagedorn & Kunkel, 1979 ; Masuda & Oliveira, 1985 ; Swevers *et al.*, 2005).

La vitellogénèse, chez *Ephestia kuehniella*, s'effectue pendant la vie nymphale (Zimowska *et al.*, 1991) et une augmentation dans le contenu en vitéllogénines est notée entre 3 et 5 jours chez les séries témoins ; ce pic dans les valeurs des vitéllogénines est contemporain avec l'augmentation des ecdystéroïdes signalée dans divers travaux (Zimowska *et al.*, 1991 ; Yezli-Touiker & Soltani-Mazouni 2011 ; Yezli-Touiker *et al.*, 2016 ; Taffar, 2022).

Les résultats obtenus chez *E. kuehniella* après traitement à l'huile essentielle de *T. munbyanus* ont montré une réduction des taux de vitellogénines au stade nymphal et des vitellines au stade adulte par rapport aux témoins. Nos résultats sont en conformité avec la littérature où il est noté que les huiles essentielles peuvent affecter le processus de reproduction chez divers insectes *via* les vitellogénines ou/et les vitellines.

En effet les résultats observés chez *Podisus nigrispinus* (Reis *et al.*, 2018) et chez de la pyralide du mûrier (*Glyphodes pyloalis*) suite à l'ingestion d'HE d'*A. annua* ce qui a provoqué une réduction des granules vitellines dans les ovocytes des femelles émergeant des larves traitées (Oftadeh *et al.*, 2020). De plus, une inhibition de la vitellogenèse a également été rapportée chez *E.kuehniella* traité au méthoxyfénoside et à l'azadirachtine respectivement (Soltani-Mazouni *et al.*, 2012 ; Taffar, 2022) ; chez *D. melanogaster* traité à l'azadirachtine (Boulehbal *et al.*, 2015 ; Ferrdenache *et al.*, 2019) ; chez *D.melanogaster* traité à l'Oberon (Kissoum *et al.*, 2020).

La reproduction des insectes est fortement affectée par la disponibilité des substances énergétiques (Wu *et al.*, 2020). De ce fait, le métabolisme énergétique est donc crucial pour la maturation des ovocytes. Cette énergie provient de divers substrats, notamment des glucides, des acides aminés et des lipides (Sutton-McDowall *et al.*, 2010). Les teneurs en glucides ovariens montrent une réduction chez les individus traités. Cette diminution pourrait s'expliquer par la diminution du métabolisme de base des ovocytes qui implique une diminution de l'accumulation des vitellines indispensable à la croissance et à la maturation des ovocytes donnant ainsi des altérations morphologiques des ovocytes (Kissoum *et al.*, 2020).

Ainsi, la réduction pourrait être attribuée à une activité métabolique accrue en raison de la consommation de la graisse corporelle dans les processus de détoxification conduisant à l'inhibition ou à la réduction de la synthèse de la vitellogénine, le processus qui est sous le contrôle de l'HJ (Davey, 2007 ; Reis *et al.*, 2018 ; Oftadeh *et al.*, 2020).

Vraisemblablement, il semblerait que l'HE puisse agir secondairement comme un perturbateur endocrinien affectant la vitellogenèse et donc la reproduction *via* les neurohormones et hormones (effet neurotoxique déjà mit en avant auparavant dans nos résultats) qui jouent un rôle essentiel dans ces processus altérant ainsi l'ovogenèse et la croissance ovocytaire (Gade & Hoffman 2005 ; Swevers *et al.*, 2005 ; De loof *et al.*, 2014 ; Belles & Piulachs, 2015).

#### 4.7. Effets de l'HE du *Thymus munbyanus subsp coloratus* sur le potentiel reproducteur et la descendance

Le potentiel reproducteur des insectes reste le facteur le plus important de leur indéniable pullulation. L'étude de la reproduction est donc capitale dans toute approche raisonnée pour diminuer sensiblement les dégâts causés par les insectes (Farsi *et al.*, 2020). Le succès reproducteur d'un individu représente sa capacité à produire une descendance viable et capable de se reproduire à son tour (Barnes *et al.*, 2008). La fécondité des femelles, estimée par le nombre d'œufs pondus, est un indicateur de la condition physique largement utilisé (Swevers *et al.*, 2005). En effet, la ponte joue un rôle très important dans la vie de la femelle et chaque facteur qui affecte la ponte peut affecter la fécondité (Farsi *et al.*, 2020). Par conséquent, l'inhibition de l'oviposition (la ponte) à l'aide d'huiles essentielles représente un critère pertinent pour contrôler les infestations de ravageurs et gérer les produits stockés (Singh & Pandey, 2018).

Chez *E. kuehniella*, les étapes de la vitellogénèse s'effectuent pendant la vie nymphale l'accouplement et la fécondation ont lieu pendant les 12 premières heures après l'exuviation adulte (période de préoviposition) et la période d'oviposition dure 3 à 4 jours (Taïbi, 2007 ; Khebbeb *et al.*, 2008 ; Soltani-Mazouni *et al.*, 2011 ; Yezli, 2014 ; Taffar, 2022).

Nos résultats montrent une diminution dans les périodes pré ovipositaires et ovipositaires ainsi que la fertilité et la viabilité chez les 2 générations succédant le traitement à l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* et on notera également une réduction dans le nombre de descendants (œufs, larves, pupes et d'adultes) G1 provenant de parents ayant survécu au traitement des chrysalides de la G0. La réduction de la fertilité observée chez *E. kuehniella* confirme un effet des agonistes des ecdystéroïdes sur le processus de vitellogenèse via la production d'hormone de mue.

En accord avec nos résultats des travaux similaires sur *E. kuehniella*, en effet Divers huiles essentielles (*Satureja thymbra*, *Origanum onites*, *Myrtus communis*, *Origanum majorana*, *Laurus nobilis*, *Citrus limon*, *Chenopodium botrys* et *Tanacetum armenum*) ont provoquées une diminution du pourcentage de développement d'adultes (progéniture F1) issue à partir d'œufs traités d'*E. kuehniella* (Karaborklu *et al.*, 2011). À cet égard, L'HE d'*Artemessia herba alba* appliquée sur les chrysalides d'*E. kuehniella*, a perturbé la reproduction des adultes, en prolongeant la période de pré oviposition et en réduisant la période

de dépôt des œufs puisque les femelles fécondées, ce qui réduit le nombre d'œufs déposés (**Delimi et al., 2013**). **Ulukanli et al. (2014)** ont souligné que les huiles essentielles extraites du cortex de *Pinus pinea* et *Pinus brutia* présentaient une activité ovicide sur les œufs d'*E. kuehniella*.

D'autre part, **Sabbour & Abd El-Aziz, (2019)** ont notamment enregistré une inhibition de la ponte, une réduction dans le nombre d'œufs pondus et en supprimant presque les pourcentages d'émergence de la descendance (F1) chez *E. kuehniella* et *E. cautella*. Une combinaison entre quatre HEs (anis, eucalyptus, ail et romarin) et de l'agent microbien *Metarhizium anisopliae* contre *E. cautella* et *E. kuehniella* a provoqué une inhibition de la ponte ainsi qu'une réduction des œufs déposés et les adultes émergés de la F1 (**Sabbour & Abd El-Aziz, 2018**).

Les HEs de *Mentha communis* et *Mentha rotundifolia* utilisés par fumigation sur *E. kuehniella* ont significativement réduit la longévité, la fécondité, la fertilité, le taux d'éclosion ainsi que le pourcentage de dissuasion de ponte et le taux de copulation (**Aouadi et al., 2020**). **Tunç et al. (2000)** ou les HEs du cumin et de l'anis ont induit une mortalité de 100 % des œufs d'*E. kuehniella*. De même, **Bachrouch et al. (2010)** ont cité que *Pistacia lentiscus* (HE) était toxique contre *E. kuehniella* et réduisait la longévité, la fécondité, le taux d'éclosion et le taux de copulation des adultes.

Par ailleurs, Dans une étude de **Lazarević et al. (2020)**, il a été démontré que l'HE du thym (*Thymus vulgaris* L) a exercé une influence significative sur l'indice de dissuasion de ponte affectant ainsi la survie des adultes de la descendance F1 d'*A. obtectus*. Le thymol un isomère du carvacrol, est capable d'inhiber la reproduction des adultes de *H. armigera* sous différents modes d'application (orale et topiques). En effet, il provoque la réduction du nombre d'œufs pondus (la fécondité), la viabilité des œufs et les périodes préovipositoire et ovipositoire (**Bovornanthadej et al., 2013**). Il a également été démontré que le thymol inhibe l'oviposition de certains insectes (**Rice & Manteau, 1994 ; Dimetry et al., 2003 ; Singh et al., 2010**).

Les résultats d'**Ismahane et al. (2021)** montre que les huiles essentielles d'*A. herba-alba* et *A. compestris* ont des effets ovicides (réduction du taux d'éclosion (%) des œufs) et adulticides contre *E. ceratoniae*. Au surplus, Les HEs de *T. mongolicus*, *C. verum* et *O. vulgare* ont réduit la production et le taux d'éclosion des œufs, entraînant une moindre efficacité de reproduction encore plus faible chez les tiques *Haemaphysalis longicornis*, ces résultats

indiquent que les HE peuvent inhiber la ponte des tiques *H. longicornis* (Qiao *et al.*, 2021). L'HE de chanvre réduit considérablement le taux d'éclosion des œufs de *Hyalomma dromedarii* (Tabari *et al.*, 2020).

De plus, la sécrétion de phéromones, le taux de ré accouplement et de fécondation et le nombre d'œufs produits ont tous été significativement diminués après un traitement par trisulfure de diallyle, un métabolite actif dans l'HE de l'ail (DAT) chez *S. cerealella*. (Chang *et al.*, 2020). D'autant plus, Benelli *et al.* (2018) ont démontré que l'HE de *Ridolfia segetum* a considérablement réduit la longévité, la fécondité, la fertilité et la natalité des adultes survivants (la descendance) de *M. domestica*. D'autre part, l'huile essentielle de *Rosmarinus Officinalis* s'avère capable de réduire significativement la fécondité des femelles, le temps de génération et la longévité des adultes sur l'acarien ravageur *Tetranychus Urticae koch* (Aissaoui *et al.*, 2018). Kastamonuluoğlu *et al.* (2020) ont démontré que le terbinafine réduit la fécondité, la viabilité des œufs de *G. mellonella*.

La fécondation et la fertilité sont directement liés à l'ovogénèse et la vitellogenèse et sont des processus soumis au même contrôle endocrine et peuvent donc être affectés de la même manière. En effet, L'ovogénèse, la vitellogénèse, la maturation des œufs et l'oviposition sont contrôlés par les ecdystéroïdes et l'HJ (Swevers *et al.*, 2005 ; Jagadeeshan *et al.*, 2015). L'inhibition de l'oviposition est due à l'absence de sécrétion de facteurs stimulants de l'oviposition, qui sont normalement présents dans hémolymphe des femelles fécondées non traitées, chez *S. exempta*, *S. exigua* et *L. decemlineata* (Dhadialla *et al.*, 1998). De plus, le RH-5849 interfère avec l'ovulation et l'oviposition, puisque les ecdystéroïdes stimulent les cellules neurosécrétrices pour la synthèse de l'hormone myotropique d'ovulation (Smaghe & Degheele, 1994).

L'HE du *T. munbyanus* pourrait avoir entraîné une perturbation de l'ovogénèse et de la vitellogenèse mais aussi des diverses étapes de la reproduction et du développement durant les deux stades nymphal et adulte. Par conséquent, la réduction dans le contenu des vitellogénines dans le corps gras et des vitellines dans les ovaires et la réduction de la durée du stade de développement (nymphal) et de la longévité mais aussi la baisse du nombre d'individus dans la descendance chez *E. kuehniella*, peuvent être expliquées par l'interférence de l'HE avec les principales hormones de la reproduction (hormone juvénile et ecdystéroïdes), vue l'activité neurotoxique de l'HE enregistrée, ou encore avec d'autre neuropeptides qui sont impliqués dans le contrôle endocrine de ce processus.

Ceci est corrélé avec la réduction des réserves énergétiques, qui ont été considérées comme des biomarqueurs prédictifs d'effets sur la dynamique et la structure des populations (Le Gal *et al.*, 1997 ; Scott- Fordsmand *et al.*, 2000). De plus, de nombreux auteurs ont montré une corrélation positive entre les réserves énergétiques et le succès reproducteur des organismes (De Coen & Janssen, 2003 ; Hamida, 2021).

#### 4.8. Effets de l'infestation sur la qualité de la farine

La granulométrie d'une farine permet de caractériser la distribution en taille et en nombre des particules qui la composent ; le comportement des farines lors de leur transformation, notamment le taux d'hydratation ainsi que les conditions de stockage en dépendent (Feillet, 2000 ; Papanikolaou *et al.*, 2021). La norme algérienne (1991), fixe un taux de refus sur un tamis de maille 200 microns pour la farine commune, inférieur à 10% et pour la farine supérieure un taux de refus inférieur à 5% ; et pour le taux d'affleurement (95 %) (NA 1828-1991).

D'après les résultats obtenus, on constate que le taux d'extraction de la farine témoin est de 95,52%, ce qui est donc conforme à la norme algérienne (>95%). Le taux d'affleurement diminuait, avec le temps plus la farine restait exposée aux ravageurs plus son taux d'affleurement diminuait. On pourrait expliquer que les lots infestés par les couples *E.kuehniella* qui au cours de leur cycle de vie passent par plusieurs stades au cours desquels le ravageur est enveloppé par un minuscule fil de soie, qui servira de cocon au stade nymphal avant de devenir adulte (papillon) (Kurtulus *et al.*, 2020). Ces fils de soie mélangés à la farine créent des grumeaux consistants conduisant à la longue à la dégradation de l'aspect physique, en plus de la respiration et des diverses excréments et déchets produits par le ravageur (Hansen & Jensen, 2002) et donc nous aurons un taux de rejet beaucoup plus élevé dans le tamis.

La connaissance de la teneur en protéines renseigne bien sur la capacité technologique de la farine car elle exerce une influence considérable sur les propriétés viscoélastiques de la pâte et sur la qualité du pain (Feillet, 2000). C'est aussi un paramètre important sur le plan nutritionnel, notamment parce que les céréales entrent pour une part importante dans la ration alimentaire de la population, il varie selon la variété, les conditions de culture et le stade de maturité des grains (Selselet, 1991 ; Papanikolaou *et al.*, 2021). La teneur en protéines selon

les normes algériennes est supérieure à 9 % (NA 1158–1990, ISO1871). Cependant, de nombreux auteurs préconisent des teneurs en protéines supérieures ou égales à 13% MS (Sissons, 2008 ; Sharma *et al.*, 2020).

La forte diminution de la teneur en protéines dans la farine infestée pourrait s'expliquer d'un point de vue nutritionnel (Skourti *et al.*, 2020). Il est bien connu que les glucides et les protéines solubles sont efficacement utilisés par les insectes et que de nombreuses espèces tirent l'essentiel de leur alimentation de ces nutriments (Ishaaya *et al.*, 1986 ; Sissons, 2008 ; Skourti *et al.*, 2020). les protéines restent une source riche et abondante d'énergie disponible pour *E. kuehniella* (Papanikolaou *et al.*, 2021).

Il existe 2 types de protéines : les protéines métaboliques (protéines de structure) : Albumines et Globulines et les protéines de réserve (prolamines) qui sont les Gliadines et les Gluténines. Les protéines, bien qu'en quantités moindres, jouent également un rôle vital dans la construction du gluten (Shewry *et al.*, 1986 ; Eliasson & Larsson, 2018). Le gluten est la forme de stockage des protéines de réserve dans le blé, il se forme à la suite de l'hydratation de la farine en se combinant avec d'autres composés présents tels que les lipides, les pentosanes et les minéraux pour former une masse viscoélastique (Feillet, 2000).

Les farines usuelles ont des teneurs en gluten de l'ordre de 27% à 37% indiquées par la norme algérienne (NA ISO 21415-1 (NA 15212)- 2012). Les farines de blé très fort peuvent avoir des teneurs jusqu'à 45% alors que moins de 25% indiquent une farine faible (Feillet, 2000). La forte diminution de la teneur en gluten dans les farines infestées résulte en effet de la diminution du taux de protéines, puisque les protéines forment le gluten. L'indice de Zélény donne une indication globale de la quantité et de la qualité du gluten, il est admis qu'il est lié à la force boulangère (22 à 30 ml / NA ISO 5529 (NA 1184) 2008). La diminution de l'indice de Zeleny est liée à la diminution du gluten c'est une relation proportionnelle (corrélative).

La détermination de l'humidité est importante puisqu'elle conditionne d'une part la précision des différents résultats analytiques liés à la matière sèche et d'autre part celle de la mise en œuvre de tests technologiques comme le test de panification (Calvel, 1984 ; Papanikolaou *et al.*, 2021). La teneur en eau de la farine est un paramètre important qui doit être inférieur ou égal à 15,5% (NA 11 –32 –1991) pour que la farine puisse être conservée correctement et dans le temps. Le processus de respiration d'*Ephestia kuehniella* provoque une augmentation de l'humidité de la farine (Hansen & Jensen, 2002) ; en plus de cela, il peut y

avoir une relation avec la diminution de la teneur en gluten qui a un pouvoir fixateur d'eau, rendant la farine humide. La présence des couples *Ephestia kuehniella* dans la farine est corrélée à l'augmentation de l'humidité.

La capacité d'hydratation est directement liée à la qualité de la farine. Elle correspond à la quantité d'eau à ajouter à la farine pour obtenir la consistance d'une pâte. Cette capacité doit normalement être comprise entre 62 et 65 % et peut monter jusqu'à 69 % (Papanikolaou *et al.*, 2021). Selon (Feillet, 2000) les protéines ont la capacité d'absorber de l'eau 1,5 à 2 fois leur masse. Une capacité d'absorption élevée se traduit par un remarquable effet de rétention d'eau par les composés biochimiques responsables de l'élasticité et de la résistance du gluten (Skourti *et al.*, 2020). Les farines analysées montrent une baisse de l'absorption comprise entre 69,7 et 72,2 (NA 6458-2007). Cette diminution de l'absorption d'eau est liée à l'augmentation de l'humidité et à la disparition du gluten qui fixe l'eau.

La teneur en cendres est considérée comme un bon indicateur de la pureté des produits meuniers de la semoule et de la farine. Elle est directement liée au taux d'extraction et renseigne sur la minéralisation des grains broyés (Cubadda *et al.*, 2009). Des niveaux de cendres inférieurs à 0,80 à 0,90 % indiquent que les échantillons sont assez purs (NA 733) (Troccoli *et al.*, 2000 ; Nuttall *et al.*, 2017). L'augmentation du taux de cendres est due aux larves d'*E. kuehniella* qui peuvent produire des quantités considérables de fils de soie qui provoquent de la condensation, les fils de soie peuvent créer des conditions d'humidité propices à la croissance de moisissures toxigènes (Cubadda *et al.*, 2009). En plus de la contamination de la farine par les excréments de ce papillon. Outre les dégâts directs, les larves provoquent des dégradations quantitatives indirectes sur les produits stockés infestés du fait de leurs déjections et toiles (Abeledo *et al.*, 2008).

L'étude a été réalisée sur des farines non infestées ainsi que sur des farines infestées par *Ephestia kuehniella* à travers des analyses physico-chimiques. Les résultats tirés des différentes analyses effectuées ont montré une forte dégradation de la qualité de la farine. L'impact de ces ravageurs est désastreux sur la qualité, en effet il a rendu ces valeurs nutritionnelles hors normes donc la farine est devenue inconsommable et inutilisable.

**CONCLUSION**

**ET**

**PERSPECTIVES**

## 5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Cette étude a évalué l'effet de l'huile essentielle du *Thymus munbyanus subsp. coloratus*, sur la biochimie, le développement et la reproduction d'un Lépidoptère ravageur des denrées stockées : *Ephestia kuehniella* ainsi que l'impact de l'infestation de ces ravageur sur la qualité de la farine.

L'HE de la plante appartenant à la famille des Lamiaceae présente un rendement de  $2,56 \pm 0,34$  de la matière sèche de la partie aérienne de *T. munbyanus subsp coloratus*. L'analyse chimique par CPG-SM de l'HE extraites de *T. munbyanus subsp coloratus* a révélé la présence de 54 composants dont l'abondance des composés monoterpéniques dominés par la présence de Carvacrol (39,11%).

Nous avons évalué la toxicité de l'HE du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* administré par application topique à des chrysalides nouvellement exuviées d'un ravageur des denrées stockées : *Ephestia kuehniella* afin de tester l'efficacité de cette l'HE. La mortalité a été relevée à l'émergence de l'adulte. Les doses d'inhibition de l'exuviation des adultes sublétales et létales (DI<sub>25</sub>, DI<sub>50</sub>), déterminées à partir de la régression non linéaire et sont de l'ordre de 15,38 µl/mL et 25,22 µl/mL respectivement. L'huile essentielle du *T. munbyanus subsp. Coloratus* par ces deux doses d'inhibition ont affecté la croissance du ravageur en causant une diminution de la durée du développement nymphal, une diminution du poids des chrysalides durant la métamorphose et une réduction de la durée de survie des adultes.

Ensuite l'huile essentielle du *T. munbyanus subsp. coloratus* a été évalué sur les biomarqueurs d'*E. kuehniella* et la comparaison entre les séries témoins et traités montre une augmentation de l'activité spécifique des Glutathion S-Transférases (GSTs) chez les chrysalides d'*E. kuehniella* tout au long du stade nymphal pour la DI<sub>25</sub> et la DI<sub>50</sub>. L'activité spécifique des GSTs se poursuit chez les adultes d'*E. kuehniella* après leur émergence. En effet, l'HE du *T. munbyanus subsp coloratus* agit avec un effet dose réponse et entraine une induction du processus de détoxification dès le premier jour du stade nymphal après traitement et se poursuit jusqu'au stade adulte. De plus, La comparaison entre les séries témoins et traités montre que l'HE induit une diminution de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

(AChE) chez les chrysalides et les adultes d'*E. kuehniella* tout au long du stade nymphal et adulte, on supposera donc une activité neurotoxique de l'HE.

Les taux du Malondialdéhyde (MDA), ont été déterminés au cours du stade nymphal et au stade adulte. La comparaison entre les séries témoins et traités montre que l'HE du *T. munbyanus* induit une augmentation des taux du MDA chez les chrysalides tout au long du développement nymphal ainsi que chez les adultes d'*E. kuehniella*. En outre, les conséquences de l'exposition à certains pesticides se manifestent en premier lieu par une peroxydation des lipides membranaires avec le malondialdéhyde (MDA) comme produit final, le MDA constitue un indicateur précoce d'une agression toxique et, par conséquent la peroxydation lipidique est une source endogène des dommages de l'ADN.

Le traitement a affecté le taux des métabolites dans le corps, en effet, une diminution a été notée sur les taux des protéines, la teneur en glucides et la teneur en lipides testés au cours des stades nymphal et adulte. Par conséquent une augmentation du taux d'épuisement des réserves énergétiques (NDI) chez les séries traitées par rapport aux deux stades nymphal et adulte est soulignée. Ceci peut être expliqué par une demande et une consommation accrue des métabolites suite au stress oxydative causé par l'HE afin de permettre la continuité des différents processus physiologiques tout en assurant la détoxification du produit.

Puis, on a examiné les taux des vitéllogénines dans le corps gras au cours de la métamorphose (0, 1, 3, 5 et 7 jours) et des vitellines dans les ovaires ont été testés. L'HE entraîné une diminution du taux des vitellogenines, ainsi qu'une diminution des vitellines de la génération G0 et G1. Cette réduction peut avoir des causes différentes soit une diminution de leur synthèse et/ou de leur libération dans l'hémolymphe par le corps gras, soit une perturbation de leur incorporation dans l'ovocyte, en d'autre terme, cette diminution peut être due à un effet perturbateur hormonal de l'huile ou de un ou plusieurs de ces composants interagissant en perturbant ou bloquant la vitellogénèse.

Le traitement affecte également le potentiel reproducteur de l'insecte en diminuant les périodes de préoviposition et oviposition, la fécondité des femelles ainsi que la viabilité des œufs, sur les deux générations G0 et G1. L'HE a également affecté la descendance de la G1 en diminuant le nombre d'œufs pondus, le nombre de larves (L5), le nombre de chrysalides et d'adultes chez les traités au deux doses DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub> par rapport aux témoins.

## CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Tous ces résultats pourraient être expliqués par le fait que l'HE pourrait avoir une activité perturbatrice de la croissance avec des effets antagonistes sur les différentes hormones qui régulent et modulent les processus physiologiques révélant ainsi l'action différée de l'HE sur le développement, la reproduction et la biochimie de ces lépidoptères. D'autre part, L'infestation de la farine par des couples d'*Ephestia kuehniella* a causé la dégradation de la qualité de cette dernière.

A l'avenir, il serait intéressant d'envisager des expériences complémentaires pour obtenir des informations plus précises sur l'impact du traitement chez *Ephestia kuehniella* :

- Etudier le comportement sexuel des adultes
- Une analyse des hydrocarbures cuticulaires
- Un dosage de l'ADN et l'ARNm ainsi que le PCR afin d'identifier un possible dommage sur l'ADN
- Identifier, isoler et évaluer les effets du chémotype actifs ou une combinaison de plusieurs chémotypes présents dans l'huile essentielle et déterminer leur activité ainsi que leur mode d'action.
- Evaluation et suivi du profil des hormones de mue et des ecdystéroïdes (en corrélation avec la croissance des ovocytes) suite au traitement à l'HE.
- Un test de répulsion avec l'HE et le ravageur et la farine.
- Evaluation de l'impact des variations saisonnières sur le rendement, la composition chimique et l'efficacité de ces huiles essentielles.

**REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1) **Abbott WW., 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.* **18** : 265-267.
- 2) **Abdelgaleil S., 2010.** Molluscicidal and insecticidal potential of monoterpenes on the white garden snail, *Theba pisana* (Muller) and the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisduval). *Appl Entomol Zool.* **45** : 425–433.
- 3) **Abeledo LG., Savin R., Gustavo A. & Slafer S., 2008.** Wheat productivity in the Mediterranean Ebro Valley: Analyzing the gap between attainable and potential yield with a simulation model. *Eur. J. Agron.* **28** : 541-550.
- 4) **Adams RP., 2007.** Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th ed., Allured Publishing: Carol Stream, IL, USA.
- 5) **Ainane A., Khammour F., El kouali M., Talbi M., Abba EH., Cherroud S. & Ainane T., 2018.** Chemical composition and anti-insecticidal activity of essential oils of *Thymus* from Morocco: *Thymus Capitatus*, *Thymus Bleicherianus* and *Thymus Satureioides*. *Proceedings BIOSUNE.* **1** : 96-100.
- 6) **Aissaoui AB, El Amrani A., Zantar S. & Toukour L., 2018.** Activité acaricide des huiles essentielles de *Mentha pulegium*, *Origanum compactum* et *Thymus capitatus* sur l'acarien phytophage *Tetranychus Urticae Koch* (Acari : Tetranychidae). *EUR. Sci. J.* **14 (3)** : 119-124.
- 7) **Akantetou KP., Nadio NA., Bokobana EM., Tozoou P., Poutouli W., Koba K. & Sanda K., 2020.** Effet aphicide de l'huile essentielle de *Ocimum basilicum L.* et de son composé majoritaire sur le puceron du cotonnier *Aphis gossypii Glover* (Homoptera : Aphididae) au Togo. **14** : 1.
- 8) **Altuntaş H., Duman E. & Kılıç G., 2020.** La juglone a induit un stress oxydatif et génotoxique chez l'insecte modèle *Galleria mellonella L.* (Pyralidae :

- Lepidoptera). *Journal international de la science des insectes tropicaux*. **40 (3)** : 611-619.
- 9) **Ameen, F., Javed H., Erum S. & Tabassum S., 2013.** An overview on medicinal importance of *Thymus vulgaris*. *J. Asian Sci. Res.* **3(10)** : 974-982.
- 10) **Anderson ME., 1997.** Glutathione and glutathione delivery compounds. *Adv. Pharmacol.* **38** : 65-78.
- 11) **Aouadi G., Haouel S., Soltani A., Ben Abada M., Boushah E., Elkahoui S., Taibi F., Mediouni-Ben Jemâa J. & Bennadja S., 2020.** Screening for insecticidal efficacy of two Algerian essential oils with special concern to their impact on biological parameters of *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). *JPDP*. **127** : 471-482.
- 12) **Arruda F., Rosa JS., Rodrigues A., Oliveira L., Lima A., Barroso JG. & Lima E., 2022.** Essential Oil Variability of Azorean *Cryptomeria japonica* Leaves under Different Distillation Methods, Part 1: Color, Yield and Chemical Composition Analysis. *Appl. Sci.* **12** : 452.
- 13) **Atti-Santos AC., Pansera MR., Paroul N., Atti-Serafini L. & Moyna P., 2004.** Seasonal Variation of Essential Oil Yield and Composition of *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) from South Brazil. *J. Essent. Oil. Res.* **16(4)** : 294-295.
- 14) **Ayvaz A., Sagdic O., Karaborklu V. & Ozturk I., 2010.** Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored product insects. *J Insect Sci.* **10** : 21.
- 15) **Bachrouh O., Jemâa JMB., Wissem AW., Talou T., Marzouk B. & Abderraba M., 2010.** Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of stored products research.* **46(4)** : 242-247.
- 16) **Badalamenti N., Iardi V., Bruno M., Pavela R., Boukouvala MC., Kavallieratos NG., ... & Benelli G., 2021.** Chemical composition and broad-spectrum insecticidal

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- activity of the flower essential oil from an ancient Sicilian food plant. *Ridolfia segetum. Agriculture*. **11(4)** : 304.
- 17) Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. & Idaomar M., 2008.** Biological effects of essential oils – a review. *Food Chem. Toxicol.* **46** : 446–475.
- 18) Balashowsky K., 1972.** Blood sucking ticks (Ixodidae) - Vectors of diseases of man and animals. *Mix. Publ. Ent. Soc. Am.* (**8**): 161-376.
- 19) Barnes AI., Wigby S., Boone JM., Partridge L. & Chapman T., 2008.** Feeding, fecundity and lifespan in female *Drosophila melanogaster*. *Proc. R. Soc. B: Biol. Sci.* **275 (1643)**: 1675-1683.
- 20) Baş H. & Ersoy DE., 2020.** Fumigant toxicity of essential oil of *Hypericum perforatum* L. 1753 (Malpighiales: Hypericaceae) to *Tenebrio molitor* L. 1758 (Coleoptera: Tenebrionidae). *Turk. entomol. Derg.* **44 (2)**: 237-248.
- 21) Baş H. & Kalender Y., 2016.** Nephrotoxic effects of lead nitrate exposure in diabetic and non-diabetic rats: involvement of oxidative stress and the protective role of sodium selenite. *Environ Toxicol.* **31** : 1229-1240.
- 22) Bataille A., Anton M., Mollat F., Bobe M., Bonneau C., Caramaniam MN., Geraut G. & Dupas D., 1985.** Respiratory allergies among symptomatic bakers and pastry cooks: initial results of a prevalence study. (French). *Allergie et immunologie.* **27 (1)**: 7-10.
- 23) Belles X. & Piulachs MD., 2015.** Ecdysone signalling and ovarian development in insects: from stem cells to ovarian follicle formation. *Biochim Biophys Acta.* **1849 (2)**: 181- 186.
- 24) Belmalha S., El Idrissi M., Amechrouq A. & Echchgadda G., 2015.** Chemical characterization of some species of Moroccan middle atlas Thyme (Region of Midelt). *Glob. J. Pure Appl. Chem. Res.* **3** : 43-52.

- 25) **Benchabane O., 2014.** Chemical Composition And Insecticidal Activities of Essential oils of two Algerian endemic plants: *Ferula Vesceritensis* Coss. Et Dur. And *Thymus Pallescens* De Noe. *Int. J. Agric. Sci.* **4(6)**: 185-192.
- 26) **Benchabane O., Hazzit M., Baaliouamer A. & Mouhouche F., 2012.** Analysis and Antioxidant Activity of the Essential Oils of *Ferula vesceritensis* Coss. et Dur. and *Thymus munbyanus* Desf. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* **15 (5)** : 774 – 781.
- 27) **Bendif H., Boudjeniba M., Miara MD., Biqiku L., Bramucci M., Lupidi G., Quassinti L., Vitali LA. & Maggi F., 2017.** Essential oil of *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* from Algeria: Chemo typification and in vitro biological activities. *Chem Biodivers.* **14** : 3.
- 28) **Bendjedid H., Yezli-Touiker S., Taffar A. & Soltani N., 2021.** Phytochemical composition and insecticidal activities of essential oil of *Thymus munbyanus* (Lamiales: Lamiaceae) aerial parts and its properties against biomarkers of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* **24 (4)** : 792-807.
- 29) **Benelli G. & Mehlhorn H., 2018.** Essential Oils from Aromatic and Medicinal Plants as Effective Weapons against Mosquito Vectors of Public Health Importance. In Mosquito-borne Diseases. *Parasitology Res. Monog.* **10**.
- 30) **Benomari FZ., Djabou N., Moumani M., Hassani F., Muselli A. & Costa J., 2020.** Chemical variability of essential oils of three subspecies of *Thymus munbyanus* Boiss. & Reut. from Western Algeria. *J. Essent. Oil Res.* DOI: 10.1080/10412905.2020.1772134
- 31) **Besombes C., 2008.** Contribution to the study of the phenomena of hydro thermomechanical extraction of aromatic herbs. Generalized applications. Doctoral thesis, University of La Rochelle, France.
- 32) **Bezzar-Bendjazia R., Kilani-Morakchi S. & Aribi N., 2016.** Larval exposure to azadirachtin affects fitness and oviposition site preference of *Drosophila melanogaster*. *Pest. Bioch. Physiol.* **133** : 85-90.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 33) Bistgani ZE., Siadat SA., Bakhshandeh A., Pirbalouti AG., Hashemi M., Maggi F. & Morshedloo MR., 2018. L'application d'engrais combinés améliore la biomasse, le rendement en huile essentielle, le profil aromatique et les propriétés antioxydantes de *Thymus daenensis* Celak. *Cultures et produits industriels*. **121** : 434-440.
- 34) Bliss CI., 1938. The transformation of percentages for use in the analysis of variance. *Ohio J. Sci.* **38**: 9-12.
- 35) Boudreau A. & Ménard G., 1992. Le blé : éléments fondamentaux et transformation. *PUL*. 439.
- 36) Bouguerra N., 2019. Efficacité comparée des extraits de deux plantes, *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Composition chimique, Toxicité, Biochimie et Biomarqueurs. Thèse de Doctorat en sciences. Spécialité : Biologie Animale. Université Badji Mokhtar, Annaba. 147 pages
- 37) Bouguerra N., Tine-Djebbar F. & Soltani N., 2018. Effect of *Thymus vulgaris* L. (Lamiales: Lamiaceae) Essential Oil on Energy Reserves and Biomarkers in *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) from Tebessa (Algeria) *J. Essent. Oil-Bear. Plants*. **21(4)** : 1082-1095.
- 38) Bouhadi D., Ibri K., Hariri A., Benattouche Z. & Belkhodja H., 2020. Effet de l'ajout de la farine de malt sur les caractéristiques fonctionnelles et technologiques de la farine de blé tendre. *Revue Nature et Technologie*. **12 (2)** : 54-62.
- 39) Boulahbel B., Aribi N., Kilani-Morakchi S. & Soltani N., 2015. Insecticidal activity of azadirachtin on *Drosophila melanogaster* and recovery of normal status by exogenous 20- hydroxyecdysone. *Afr. Entomol.* **23 (1)**: 224-233.
- 40) Bousmaha-Marroki L., Atik-Bekkara F., Tomi F. & Joseph C., 2007. Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Thymus ciliates* (Desf.) Benth. ssp. *eu-ciliatus* Maire from Algeria. *J. Essent. Oil Res.* **19**: 490-493.

- 41) **Bovornnanthadej T., Boonsoong B., Taylor D., Kainoh Y., Koul O. & Bullangpoti V., 2013.** Effect of thymol on reproductive biology of *Helicoverpa armigera hübner* (Lepidoptera: noctuidae). *comm. appl. biol.* **78(2)**: 311.
- 42) **Bradford MM., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* **72 (1-2)**: 248-254.
- 43) **Broard PG. & Menon D., 2013.** Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochim biophys acta.* **1830 (5)**: 3267-3288.
- 44) **Burt S., 2004.** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* **94**: 223–253.
- 45) **Buyukguzel, E., Hyršl P. & Buyukguzel K., 2010.** Eicosanoids mediate hemolymph oxidative and antioxidative response in larvae of *Galleria mellonella* L. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A.* **156 (2)**: 176-183.
- 46) **Calvel R., 1984.** La boulangerie moderne, Ed EGROLLE. France : p 459.
- 47) **Campolo O., Malacrinò A., Zappalà L., Laudani F., Chiera E., Serra D., Russo M. & Palmeri V., 2014.** Fumigant bioactivity of five Citrus essential oils against *Tribolium confusum*. *Phytoparasitica.* **42** : 223-233.
- 48) **Campolo, O., Cherif, A., Ricupero, M. et al. 2017.** Citrus peel essential oil nanoformulations to control the tomato borer, *Tuta absoluta*: chemical properties and biological activity. *Sci Rep.* **7** : 13036 . <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13413-0>
- 49) **Campolo O., Giunti G., Russo A., Palmeri V. & Zappalà L., 2018.** Essential Oils in Stored Product Insect Pest Control. *J. Food Qual.* 6906105. <https://doi.org/10.1155/2018/6906105>
- 50) **Cavalca L., Zanchi R., Corsini A., Colombo M., Romagnoli C., Canzi E. & Andreoni V., 2010.** Bactéries résistantes à l'arsenic associées aux racines de la plante sauvage *Cirsium arvense* (L.) provenant d'un sol pollué par l'arsenic, et criblage des

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- caractéristiques potentielles favorisant la croissance des plantes. *Microbiologie systématique et appliquée*. **33 (3)** : 154-164.
- 51) Chakroun A., Jemmali A., Ben Hamed K., Abdelli C. & Druart P., 2007.** Effet du nitrate d'ammonium sur le développement et l'activité des enzymes anti-oxydantes du fraisier (*Fragaria x ananassa* L.) micropropagé. *BASE*. **11 (2)** : 89-95
- 52) Chang MM., Shah S. Wu MY., Zhang SS., Wu G. & Yang FLE., 2020.** Effect of diallyl trisulfide on the reproductive behavior of the grain moth, *Sitotroga cerealella* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Insects*. **11**: 21.
- 53) Chapman, RF., 1998.** The insects structure and function fourth. *Ed. Cambridge University Press, Cambridge*. 782p.
- 54) Chaubey MK., 2014.** Biological activities of *Allium sativum* essential oil against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). *Herba Pol.* **60(2)**: 41-55.
- 55) Chikhoun A., Stouvenel L., Iguer-Ouada M., Hazzit M., Schmitt A., Lorès Pa., Wolf JP., Aissat K., Auger J., Vaiman D. & Touré A., 2015.** In-vitro effects of *Thymus munbyanus* essential oil and thymol on human sperm motility and function. *Reprod. Biomed. Online*. **31** : 411–420.
- 56) Chintalchere JM., Dar MA., ChaitaliShaha C. & Pandit RS., 2020.** Impact of essential oils on *Musca domestica* larvae: oxidative stress and antioxidant responses. *Int J Trop Insect Sci.* **(41) 1** : 821-830. <https://doi.org/10.1007/s42690-020-00272-y>.
- 57) Choi WS., Park BS., Lee YH., Jang DY., Yoon HY. & Lee SE., 2006.** Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriellamali* adults. *J. Crop Prot.* **25** : 398- 401.
- 58) Cipola C., Lugo G., Sassi C., Belisario A., Nucci MC., Palermo A., Pascarolli MA., Nobile M. & Raffi GB., 1996.** A new risque of occupational disease: allergic rhinoconjunctivitis in persons working with beneficial arthropods. *Insect. Arch. Occup. Environ Health.* **68** : 133-135.

- 59) Clevenger JF., 1928. Apparatus for the determination of volatile oil. *J. Am. Pharm. Assoc.* **17**: 345-349.
- 60) Coats JR., Karr LL. & Drewes CD., 1991. Toxicity and neurotoxicity effects of monoterpenoids in insects and earthworms. In : Naturally Occurring Pest Bioregulators, (Ed., P.A. Hedin). ACS Symp. Ser. Am. Chem. Soc. **449(20)**: 305-316.
- 61) Coimbra A., Miguel S., Ribeiro M., Coutinho P., Silva L., Duarte AP. & Ferreira S., 2022. *Thymus zygis* Essential Oil: Phytochemical Characterization, Bioactivity Evaluation and Synergistic Effect with Antibiotics against *Staphylococcus aureus*. *Antibiotics*. **11** : 146. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11020146>
- 62) Colpaert P., 2006. *Thymus vulgaris*: technical sheet. Morlanwelz; Mariemont-Chapelle, FR: Ed. horticulture Department of Athénée provincial Warocqué Morlanwelz-Mariemont-Chapelle.
- 63) Cubadda F., Aureli F., Raggi A., & Carcea, M. 2009. Effect of milling, pasta making and cooking on minerals in durum wheat. *Journal of Cereal Science*. **49(1)** : 92-97.
- 64) Czerniewicz P. & Chrzanowski G., 2021. The Effect of *Santolina chamaecyparissus* and *Tagetes patula* Essential Oils on Biochemical Markers of Oxidative Stress in Aphids. *Insects*. **12**: 360. <https://doi.org/10.3390/insects12040360>
- 65) Dandlen SA., Miguel MG., Duarte J., Faleiro ML., Sousa MJ., Lima AS., Figueiredo AC., Barroso JG. & Pedro LG., 2011. Acetylcholinesterase Inhibition Activity of Portuguese *Thymus* Species Essential Oils. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*. **14(2)** : 140-150. DOI: 10.1080/0972060X.2011.10643914
- 66) Dargahi L., Razavi-Azarkhiavi K., Ramezani M., Reza Abaee M. & Behravan J., 2014. Insecticidal activity of the essential oil of *Thymus transcaspicus* against *Anopheles stephensi*. *Asian Pac J Trop Biomed*. **4** : 589-91.
- 67) Davey KG., 2007. The interaction of feeding and mating in the hormonal control of egg production in *Rhodnius prolixus*. *J. Insect Physiol.* **53**: 208–215. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2006.10.002>.

- 68) De Coen WM. & Janssen CR., 2003.** The missing biomarker link : Relationships between effects on the cellular energy allocation biomarker of toxicant-stressed *Daphnia magna* and corresponding population characteristics. *Environmental Toxicology International Journal*. **22(7)** : 1632-1641.
- 69) Delhoum H., 2016.** Interaction de la 20 hydroxyecdysone et de l'insuline chez un modèle biologique *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera-Pyralidae) : reproduction et pouvoir antioxydant. Thèse de Doctorat en sciences. Spécialité : Reproduction et développement. Université Badji Mokhtar, Annaba. 110 pages
- 70) Delhoum H., Aribi N., Kilani-Morakchi S. & Soltani N., 2016.** Effects of 20-Hydroxyecdysone and insulin application on reproduction in *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Anim. Plant Sci.* **26 (3)** : 823-832.
- 71) Delimi A., Taibi F., Fissah A., Gherib S., Bouhkari M. & Cheffrou A., 2013.** Bio-activité des huiles essentielles de l'Armoise blanche *Artemessia herba alba*: effet sur la reproduction et la mortalité des adultes d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera). *Afr. sci.* **9(3)** : 82-90.
- 72) De-Loof A., De-Haes W., Janssen T. & Schoofs L., 2014.** L'essence de la métamorphose et du vieillissement des insectes : recâblage électrique des cellules piloté par les principes de l'homéostasie du Ca<sup>2+</sup> hormono-dépendant juvénile. *Comp. gén. Endocrinol.* **199** : 70-85.
- 73) Denardi SE., Bechara GH., Oliveira PR. & Camargo Mathias MI., 2012.** Ultrastructural analysis of the oocytes of female *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) ticks subjected to the action of *Azadirachta indica* A. Juss (Neem). *Ultrastructural Pathology.* **36(1)** : 56-67.
- 74) Depledge MH., 1994.** The rationale basis for the use of biomarkers as ecotoxicological tools. Non destructive biomarkers in vertebrates. *FOSSI, M.C., LEONZIO, C., Eds.* Lewis Publishers. 271-296.

- 75) Deravel J., Lemièrre S., Coutte F., Krier F., Van Hese N., Béchet M., ... & Jacques, P., 2014. Mycosubtilin and surfactin are efficient, low ecotoxicity molecules for the biocontrol of lettuce downy mildew. *Applied microbiology and biotechnology*. **98(14)** : 6255-6264.
- 76) Dhadialla TS., Carlson GR. & Le DP., 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu. Rev. Entomol.* **43** : 545 -569.
- 77) Dhadialla TS., Retnakaran A. & Smaghe G., 2005. Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comp. Insect Mol.Sci. Elsevier*, Oxford, UK. **6**: 55–116.
- 78) Dhadialla TS., Retnakaran A. & Smaghe G., 2010. Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert L.I. & Gill S.S. (Eds). *Insect Control. Elsevier*, New York. USA. 121-166.
- 79) Dimetry N., Hafez M. & Abbass MH., 2003. Efficacy of some oils and neem formulations against the cow pea beetle, *Callosobruchus maculatus* (Fabricius) (Coleoptera: Bruchidae). *Biopesticide and Pest Management*. **2** : 1-10
- 80) Draper HH. & Hadley M., 1990. Malondialdehyde determination as index of lipid Peroxidation. *Meth. in enzymo.* **186** : 421-431.
- 81) Dris D., 2018. Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). Thèse de Doctorat en sciences. Spécialité : Biologie Animale. Université Badji Mokhtar, Annaba. 140 pages.
- 82) Duchateau G. & Florin M., 1959. Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem*, **67** : 306-314.
- 83) Dupin H., 1992. *Alimentation et nutrition humaines* . ESF éditeur.

- 84) **Ebadollahi A., Ziaee M. & Palla F., 2020.** Essential Oils Extracted from Different Species of the Lamiaceae Plant Family as Prospective Bio agents against Several Detrimental Pests. *Molecules*. **25** : 1556.
- 85) **Ebadollahi A., (2013).** Essential oils isolated from Myrtaceae family as natural insecticides. *Annual Research & Review in Biology*. 148-175.
- 86) **El Abdali Y., Agour A., Allali A., Bourhia M., El Moussaoui A. Eloutassi N., Salamatullah AM., Alzahrani A., Ouahmane L. & Aboul-Soud MAM. 2022.** Lavandula dentata L.: Phytochemical Analysis, Antioxidant, Antifungal and Insecticidal Activities of Its Essential Oil. *Plants*. **11**: 311.
- 87) **El-Bakkal SE., Zeroual S., Elouazkiti M., Mansori M., Bouamama H., Zehhar N. & El-Kaoua M., 2020.** Comparison of Yield Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils Obtained from *Thymus pallidus* and *Thymus satureioides* Coss. Grown in Wild and Cultivated Conditions in Morocco. *J. Essent. Oil-Bear. Plants*. DOI: 10.1080/0972060X.2019.1708216
- 88) **Elbali W., Djouahri A., Djerrad Z., Saka B., Aberrane S., Sabaou N., Baaliouamer, A. & Boudarene, L., 2018.** Chemical variability and biological activities of *Marrubium vulgare* L. essential oil, depending on geographic variation and environmental factors, *J. Essent. Oil Res.* **30(6)** : 470-487.
- 89) **Eliasson AC. & Larsson K., 2018.** Les céréales en panification : une approche colloïdale moléculaire. *Routledge*.
- 90) **Ellman GL., Courtney KD., Andres V. & Featherstone RM., 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem. Pharmacol.* **7** : 88-95.
- 91) **Emamjomeh L., Imani S., Talebi K., Moharramipour S. & Larijani K., 2014.** Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss (Lamiaceae) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Pelagia Res Libr.* **4(3)** : 253-257.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 92) Enayati AA., Ranson H. & Hemingway J., 2005. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Mole. Biol.* **14** : 3–8.
- 93) Ercan F., Baş H., Koç M., Pandir D. & Öztemiz S., 2013. Activité insecticide de l'huile essentielle de *Prangos ferulacea* (Umbelliferae) contre *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera : Pyralidae) et *Trichogramma embryophagum* (Hymenoptera : Trichogrammatidae). *Journal turc de l'agriculture et de la foresterie.* **37 (6)** : 719-725.
- 94) ERCAN N., 2018. L'effet de l'huile essentielle de thym ajoutée aux régimes de cailles sur le métabolisme antioxydant dans la viande de poitrine. *Erciyes Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi.* **15 (2)** : 142-147.
- 95) 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.
- 96) Fadel H., Benayache F., Chalchat, JC., Figueredo G., Chalard P., Hazmoune H. & Benayache S., 2019. Essential oil constituents of *Juniperus oxycedrus* L. and *Cupressus sempervirens* L. (Cupressaceae) growing in Aures region of Algeria, *Nat. Prod. Res.* 1-5.
- 97) FAO Statistics, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2021. <http://faostat.fao.org/>
- 98) FAO Statistics, Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2022. <http://faostat.fao.org/>
- 99) Farsi F., Goldansaz SH. & Ashouri A., 2020. Effect Of Different Light Spectra On Fecundity Of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Actaentomol. Serb.* **25(1)** : 21-28.

- 100) Fedala N., Mekimene L., Mokhtarib M., Haddam AEM. & Fedala NS. 2015. Consommation du pain en Algérie : état des lieux. *Anal. Endocrino.* **76(4)** : 570  
<https://doi.org/10.1016/j.ando.2015.07.917>
- 101) Feillet P., 2000. Le grain de blé, composition et utilisation, Ed: INRA, paris.
- 102) Ferdenache M., Bezzar-Bendjazia R., Marion-Poll F. & Kilani-Morakchi S., 2019. Transgenerational effects from single larval exposure to Azadirachtin on life history and behavior traits of *Drosophila melanogaster*. *Nature.* **9** : 17015
- 103) Fisher RA. & Yates F., 1957. Statical tables for biological agricultural and medical research. 5ème edition, Olivier et Boyd. London: 64-66.
- 104) Gäde G. & Hoffmann KH., 2005. Neuropeptides regulating development and reproduction in insects. *Physiol Entomol.* **30** :103-121.
- 105) Gilbert LI., Rybczynski R. & Warren JT., 2002. Control and biochemical nature of the ecdysteroidogenic pathway. *Annu. Rev. Entomol.* **47 (1)** : 883-916.
- 106) Giunti G., Palermo D., Laudani F., Algeri GM., Campolo O. & Palmeri V., 2019. Repellence and acute toxicity of a nano-emulsion of sweet orange essential oil toward two major stored grain insect pests. *Ind Crops Prod.* **142** : 111869.
- 107) Gnanamani R. & Dhanasekaran S., 2017. Efficacy of Azadirachta Indica Leaf Extract on the Biochemical Estimation of a Lepidopteran Pest *Pericallia ricini* (Lepidoptera: Arctiidae). *World. Appl. Sci. J.* **35(2)** : 177-181.
- 108) Goldworthy GJ., Mordue W. & Guthkelch J., 1972. Studies on insect adipokinetic hormones. *Gen. Comp. Endocrinol.* **18 (3)** : 545.
- 109) Gong X. & Ren Y., 2020. Larvicidal and ovicidal activity of carvacrol, p-cymene, and  $\gamma$ -terpinene from *Origanum vulgare* essential oil against the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner). *Environmental Science and Pollution Research.* <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08391-2>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 110) **González JOW., Gutiérrez MM., Ferrero AA., & Band BF., 2014.** Nanoformulations d'huiles essentielles pour la lutte antiparasitaire des produits stockés – Caractérisation et propriétés biologiques. *Chimiosphère*. **100** : 130-138.
- 111) **Gonzalez-Coloma A., Martín-Benito D., Mohamed N., Garcia-Vallejo MC. & Soria AC., 2006.** Anti feedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri* L. *Biochem. Syst. Ecol.* **34**: 609-616.
- 112) **Gruntenko N. & Rauschenbach I., 2009.** 20-hydroxyecdysone, juvenile hormone and biogenic amines : Mechanisms of interaction in control of *Drosophila* reproduction under normal and stressful conditions. In Ecdysone. *Structures and Functions*. Springer, Dordrecht. 317- 332.
- 113) **Grunwald J. & Christof JM., 2004.** Guide de la phytothérapie. La thérapeutique par les plantes. La santé par les plantes. Un répertoire des plantes. Des conseils pratiques. *1ère édition*. Marabout: Italie. 360-361.
- 114) **Guettal S., Tine S., Tine-Djebbar F. & Soltani N., 2020.** Evaluation of *Citrus limonum* (Sapindales: Rutaceae) L. essential oil as protectant against the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). *Allelopathy J.* **51 (1)** : 79-92.
- 115) **Habig WH., Pabst MJ. & Jackoby WB., 1974.** Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* **249(22)** : 7130-7139.
- 116) **Hagedorn HH. & Kunkel JG., 1979.** Vitellogenin and vitellin in insects. *Annu Rev Entomol.* **24** : 475-505.
- 117) **Hajji F., El Idrissi A., Fkih-Tetouani S. & Bellakhdar J., 1989.** Study of the chemical compositions of some species of Eucalyptus from Morocco. *Al Biruniya, Rev, Mar, Pharm.* **5 (2)**: 125-132.
- 118) **Hamel D., Rozman V. & Liška A., 2020.** Storage of Cereals in Warehouses with or without Pesticides. *Insects.* **11**: 846.

- 119) **Hami M., Taibi F. & Soltani-Mazouni N., 2004.** Toxicité comparée de quelques mimétiques de l'hormone de mue à l'égard des chrysalides d'*Ephestia kuehniella*. *Euro Mediterranean Workshop on Animal Ecology*. 22-24.
- 120) **Hamida ZC., 2021.** Effet subléta1 d'un produit phytosanitaire à faible risque environnemental (Oberon) sur les réponses physiologique et comportementale chez la Drosophile. Spécialité : physiologie et environnement. Université Badji Mokhtar, Annaba. 113 pages
- 121) **Hamilton Jamora A., Wada-Katsumata A., Ko A. & Schal C., 2020.** Effets de l'ingestion et de l'application topique de novaluron sur le développement et la reproduction de blattes allemandes (*Blattella germanica*). *Pest Manag Sci.* **77 (2)**: 877-885.
- 122) **Hansen L.S. & Jensen K.M., 2002.** Effect of temperature on parasitism and hostfeeding of *Trichogramma turkestanica* (Hymenoptera: trichogrammatidae) on *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* **95 (1)** : 50-56.
- 123) **Haubruge É. & Amichot M., 1998.** Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnol. Agron. Soc.* **2(3)** : 161-174.
- 124) **Hazzit M., Baaliouamer A., Faleiro M.L. & Miguel, M.G. (2006).** Composition of the essential oils of *Thymus* and *Origanum* species from Algeria and their antioxidant and antimicrobial activities. *J. Agric. Food Chem.* **54**: 6314-6321.
- 125) **Hazzit M., Baaliouamer A., Verissimo AR., Faleiro ML. & Miguel MG., 2009.** Chemical composition and biological activities of Algerian *Thymus* oils. *Food Chemistry.* **116** : 714-721.
- 126) **Hegnauer R., (1986).** Phytochemistry and plant taxonomy—An essay on the chemotaxonomy of higher plants. *Phytochemistry.* **25(7)** : 1519-1535.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 127) **Hiruma K. & Kaneko Y., 2013.** Hormonal Regulation of Insect Metamorphosis with Special Reference to Juvenile Hormone Biosynthesis. *Curr. Top. Dev. Biol.* **103**: 73- 100.
- 128) **Hoffmann KH. et Sorge D., 1996.** Vitellogenin levels in allectomized female crickets *Gryllus bimaculatus* de geer (Ensifera, Gryllidae). *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* **32**: 549 -558.
- 129) **Hoffmann KH., Meyering-Vos. et Lorenz WM., 1999.** Allatostatins and allatotropins : is the regulation of corpora allata activity their primary function. *Eur. J. Entomol.* **96** : 255-266.
- 130) **Hossain MA., Alrashdi YBA. & Touby SA., 2022.** A review on essential oil analyses and biological activities of the traditionally used medicinal plant *Thymus vulgaris* L. *I.J.S.M.* **9** (1): 103-111.
- 131) **Huang V., Yun X., Rao W. & Xiao C., 2017.** Antioxidative cellular response of lepidopteran ovarian cells to photoactivated alpha-terthienyl. *Pestic. Biochem. Physiol.* **137**: 1-7.
- 132) **Huang Z., Shi P., Dai J. & Du J., 2004.** Protein metabolism in *Spodoptera litura* (F.) is influenced by the botanical insecticide azadirachtin. *Pestic. Biochem. Physiol.* **80**: 85-93.
- 133) **Ishaaya I., 1986.** Interactions nutritionnelles et allélochimiques insectes-plantes liées à la digestion et à la prise alimentaire : quelques exemples. *Interactions insectes-plantes.* 191-223
- 134) **Isikber AA., Navarro S., Finkelman S. & Rindner M., 2006.** Propylene oxide: a potential quarantine and pre-shipment fumigant for disinfestation of nuts. *Phytoparasitica.* **34**(4) : 412-419.
- 135) **Ismahane L., Khaoula B., Rahim A., Ibrahim M., Seghir M., Ayoub H. & Laid O., 2021.** Effect of Two Essential Oils From the Asteraceae Family Against

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Ectomyelois Ceratoniae* Zell. (Lepidoptera, Pyralidae): Case Of *Artemisia Herba-Alba* Asso. And *Artemisia Compestris* L. *J. Biosci.* **29** (2) : 9–17.
- 136) Isman MB. & Grieneisen ML., 2014.** Recherche botanique sur les insecticides : nombreuses publications, données utiles limitées. *Tendances de la phytologie.* **19** (3) : 140-145.
- 137) Isman MB., 2006.** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* **51**(1) : 45-66.
- 138) Isman MB., 2020.** Botanical Insecticides in the Twenty-First Century—Fulfilling Their Promise? *Annu. Rev. Entomol.* **65** : 11.1–11.17.
- 139) Ivănescu B., Burlec AF., Crivoi F., Roșu C. & Corciovă A., 2021.** Secondary Metabolites from *Artemisia* Genus as Biopesticides and Innovative Nano Based Application Strategies. *Molecules.* **26**(10) : 3061.
- 140) Jacob RF. & Mason RP., 2005.** Lipid peroxidation induces cholesterol domain formation in model membranes. *J. Biol. Chem.* **280**: 39380-39387.
- 141) Jagadeeshan S., Shah U., Chakrabarti D. & Singh RS., 2015.** Female choice or male sex drive? The advantages of male body size during mating in *Drosophila melanogaster*. *PloS. One.* **10** (12): 0144672
- 142) Jalali Sendi J. & Ebadollahi A., 2013.** Biological Activities of Essential Oils on Insects. *RPMP.* **37**: Essential Oils–II
- 143) Jayaraj R., Megha P. & Sreedev P., 2016.** Les pesticides organochlorés, leurs effets toxiques sur les organismes vivants et leur devenir dans l'environnement. *Toxicologie interdisciplinaire.* **9** (3-4) :90.
- 144) Jennings W. & Shibamoto T., 1980.** Qualitative analysis of flavour and fragrance volatile by glass capillary gas chromatography. New York: Academic Press.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 145) **Jing TX., Wu YX., Li T., Wei DD., Smaghe GG. & Wang JJ., 2017.** Identification and expression profiles of fifteen delta-class glutathione S-transferase genes from a stored-product pest, *Liposcelis entomophila* (Enderlein) (Psocoptera: Liposcelididae). *Comp. Biochem. Physiol.B.* **206** : 35-41.
- 146) **Joshi R., Wani SH., Singh B., Bohra A., Dar ZA., Lone AA. & Singla-Pareek SL., 2016.** Transcription factors and plants response to drought stress: current understanding and future directions. *Frontiers in Plant Science.* **7** : 1029.
- 147) **Jouandin P., Ghiglione C. & Noselli S., 2014.** Starvation induces FoxO-dependent mitotic- to-endocycle switch pausing during *Drosophila oogenesis*. *Development.* **141 (15)**: 3013-3021.
- 148) **Kabouche Z., Boutaghane N., Laggoune S., Kabouche A., Ait-Kaki ZB. & Benlabeled K., 2005.** Comparative antibacterial activity of five Lamiaceae essential oils from Algeria. *Int. J. Aromather.* **15** : 129-133.
- 149) **Kah M., Beulke S., Tiede K. & Hofmann T., 2013.** Nanopesticides : état des connaissances, devenir environnemental et modélisation de l'exposition. *Examens critiques en sciences et technologies de l'environnement.*
- 150) **Karaborklu S., Ayvaz A., Yilmaz S. & Akbulut M., 2011.** Chemical Composition and Fumigant Toxicity of Some Essential Oils Against *Ephestia kuehniella*. *J. Econ. Entomol.* **104(4)** : 1212-1219.
- 151) **Kastamonuluoğlu S., Büyükgüzel K. & Büyükgüzel E., 2020.** The Use of Dietary Antifungal Agent Terbinafine in Artificial Diet and Its Effects on Some Biological and Biochemical Parameters of the Model Organism *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Economic Entomology.* 1–8. doi: 10.1093/jee/toaa039
- 152) **Kathirvelu C., Hariprasad Y. & Narayanasamy P., 2020.** Portée de l'application des cendres volantes en remplacement des pesticides chimiques pour la lutte antiparasitaire dans certaines poches de culture des régions de Neyveli et de

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Virudhachalam au Tamil Nadu, en Inde. Dans *Économie circulaire et gestion des cendres volantes* Springer, Singapour. 13-25.
- 153) Kebbi S., Fadel H., Chalchat J.C., Figueredo G., Chalard P., Hazmoune H., Benayache F., Benayache S. & Seghiri R., 2020.** Chemical Composition of Algerian *Thymus algeriensis* Boiss. & Reut. And *Marrubium vulgare* L. (Lamiaceae) Essential Oils from the Aures Region. *Acta nat. sci.* **7 (2)** : 1–14.
- 154) Khani M.N. & Heidari R., 2008.** Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties. *Turkish Journal of Biology.* **32(1)** : 23-30.
- 155) Kharoubi R., Rehim N., Khaldi R., Haouari – Abderrahim J. & Soltani N., 2021.** Phytochemical Screening and Insecticidal Activities of Essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiales: Lamiaceae) and their Enzymatic Properties against Mosquito *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* **24(1)** : 134-146.
- 156) Khebbeb M.E.H., Gaouaoui R. & Bendjeddou F., 2008.** Tebufenozide effects on the reproductive potentials of the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. *Afr. j. biotechnol.* **7 (8)**: 1166-1170.
- 157) Khosravi R., Sendi J.J., Ghadamyari M. & Yazdani E., 2011.** Effect of sweet worm wood *Artemisia annua* crude leaf extracts on some biological and physiological characteristics of the lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis*. *J Insect Sci.* **11** : 1-13.
- 158) Kianersi F., Aboughadareh A., Majdi M. & Poczai P., 2021.** Effect of Methyl Jasmonate on Thymol, Carvacrol, Phytochemical Accumulation, and Expression of Key Genes Involved in Thymol/Carvacrol Biosynthetic Pathway in Some Iranian Thyme Species. *Int. J. Mol. Sci.* **22** : 11124. <https://doi.org/10.3390/ijms222011124>
- 159) Kim S.W., Kang J. & Park I.K., 2013.** Fumigant toxicity of Apiaceae essential oils and their constituents against *Sitophilus oryzae* and their acetylcholinesterase inhibitory activity. *J. Asia Pac. Entomol.* **16** : 443-447.

- 160) **Kissoum N., Bensafi-Gheraibia H., Hamida ZC. & Soltani N., 2020.** Evaluation of the pesticide Oberon on a model organism *Drosophila melanogaster* via topical toxicity test on biochemical and reproductive parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C : Toxicology & Pharmacology*. **228** : 108666. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2019.108666>.
- 161) **Klowden MJ., 2007.** Physiological Systems in Insects, **2nd ed.** Academic Press, USA.
- 162) **Kumrungsee N., Pluempanupat W., Koul O. & Bullangpoti V., 2014.** Toxicity of essential oil compounds against diamondback moth, *Plutellaxylostella*, and their impact on detoxification enzyme activities. *J. Pest. Sci.* **87** : 721-729.
- 163) **Kurtulus A., Pehlivan S., Achiri TD. & Atakan E., 2020.** Influence of different diets on some biological parameters of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Stored Prod. Res.* **85**: 101554. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2019.101554>
- 164) **Lafont R., Dauphin-Villemant C., Warren JT. & Rees H., 2005.** Ecdysteroid chemistry and biochemistry. *Comprehensive Insect Molecular Science. Elsevier*. **3** : 125-195.
- 165) **Lazarević J., Jevremović S., Kostić I., Kostić M., Vuleta A., Manitašević Jovanović S. & Šešlija Jovanović D., 2020.** Toxic, Oviposition Deterrent and Oxidative Stress Effects of *Thymus vulgaris* Essential Oil against *Acanthoscelides obtectus*. *Insects*. **11**: 563.
- 166) **Le Gal Y., Lagadic L., Le Bras S. & Caquet T., 1997.** Charge énergétique en adénylates (CEA) et autres bio marqueurs associés au métabolisme énergétique. In : Lagadic L., Caquet T., Amiard J.C., Ramade F.(Eds.). *Biomarqueurs en écotoxicologie. Aspects Fondamentaux*. Masson, Paris: 53–66.
- 167) **Li SG., Li MY., Huang YZ., Hua RM., Lin HF., He YJ., Wei LL. & Liu ZQ., 2013.** Fumigant activity of *Illicium verum* fruit extracts and their effects on the

- acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activities in adult *Sitophilus zeamais*. *J. pest sci.* **86**: 677-683.
- 168) Li Y., Hernandez-Martinez S. & Noriega FG., 2004.** Inhibition of juvenile hormone biosynthesis in mosquitoes, effect of allatostatic head factors, PISCF and YXFCLAmid- allatostatins. *Regul. pept.* **118 (3)** : 175-182
- 169) Liu Y., Sheng Z., Liu H., Wen D., He Q., Wang S., Shao W., Jiang RJ., An S., Sun Y., Bendena WG., Wang J., Gilbert LL., Wilson TG., Song Q. & Li S., 2009.** Juvenile hormone counteracts the bHLH-PAS transcription factors MET and GCE to prevent caspase-dependent programmed cell death in *Drosophila*. *Development.* **136 (12)** : 2015-2025.
- 170) López V., Cascella M., Benelli G., Maggi F. & Gómez-Rincón C., 2018.** Green drugs in the fight against *Anisakis simplex* larvicidal activity and acetylcholinesterase inhibition of *Origanum compactum* essential oil. *Parasitol Res.* **117**: 861–867.
- 171) Louat F., 2013.** Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophila melanogaster*. Thèse de doctorat. Sciences agricoles. Université d'Orléans.
- 172) Lu K., Chen X., Liu WT., Zhang ZC., Wang Y., You KK., Li Y., Zhang RB. & Zhou Q., 2017.** Characterization of heat shock protein 70 transcript from *Nilaparvata lugens* (Stål): Its response to temperature and insecticide stresses. *Pest. Biochem. Physiol.* **142** : 102–110.
- 173) Maggi F., Benelli G., Pavela R., Giordani C., Casettari L., Curzi G., Cappellacci L. & Petrelli R., 2018.** Acute and sub-lethal toxicity of eight essential oils of commercial interest against the filariasis mosquito *Culex quinquefasciatus* and the housefly *Musca domestica*. *Ind. Crops Prod.* **112**: 668–680.

- 174) **Majdoub, S., Chaabane-Banaoues, R., Mokni, R.E. et al., 2022.** Composition, Insecticidal and Antifungal Activities of Tunisian *Daucus setifolius* Essential Oil. *Waste Biomass Valor* (2022). <https://doi.org/10.1007/s12649-022-01733-w>
- 175) **Marnett LJ., 2002.** Oxy radicals, lipid peroxidation and DNA damage. *Toxicology*. **181-182**: 219-222.
- 176) **Martinez LC., Plata-Rueda A., Colares HC., Campos JM., Dos Santos MH., Fernandes FL., Serrão JE. & Zanuncio JC., 2017.** Toxic effects of two essential oils and their constituents on the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. *Bull. Entomol. Res.* **108 (6)**: 716–725.
- 177) **Masuda H. & Oliveira PL., 1985.** Characterization of vitellin and vitellogenin from *Rhodnius prolixus*. *Insect Biochem.* **15** : 543-550.
- 178) **Mayer PJ. & Baker III G T., 1984.** Developmental time and adult longevity in two strains of *Drosophila melanogaster* in a constant low-stress environment. *Mechanisms of ageing and development.* **26 (2-3)**: 283-298.
- 179) **Mehalaine S. & Chenchouni H., 2021.** Quantifying how climatic factors influence essential oil yield in wild-growing plants. *Arab J. Geosci.* **14**: 1257
- 180) **Mehalaine S., 2018.** Seed germination and propagation for regeneration of some medicinal plants growing wild in semiarid region of Algeria. *Handbook of Environmental Materials Management.* p. 1-24. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-58538-3\\_140-1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-58538-3_140-1).
- 181) **Morshedloo MR., Craker LE., Salami A., Nazeri V., Sang H. et Maggi F., 2017.** Effect of prolonged water stress on essential oil content, compositions and gene expression patterns of mono-and sesquiterpene synthesis in two oregano (*Origanum vulgare* L.) subspecies. *Plant physiology and biochemistry.* **111** : 119-128.
- 182) **Mossa ATH., 2016.** Green pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management. *J. Environ. Sci. Technol.* **9**: 354-378.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 183) Mumivand H., Shayganfar A., Tsaniklidis G., Emami Bistgani Z., Fanourakis D. & Nicola S. 2022. Pheno-Morphological and Essential Oil Composition Responses to UVA Radiation and Protectants: A Case Study in Three *Thymus* Species. *Horticulturae*. **8** : (31) 1-21.
- 184) Nathan SS., Choi MY., Seo HY., Paik CH., Kalaivani K. & Kim JD., 2008. Effect of azadirachtin on acetylcholineesterase activity and histology of brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal). *Ecotoxicol Environ Saf*. **70** : 244-250.
- 185) National Center for Biotechnology Information (NCBI), 2018. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/taxonomyhome.html/>
- 186) Ng WC., Chin JSR., Tan KJ. & Yew JY., 2015. The fatty acid elongase Bond is essential for *Drosophila* sex pheromone synthesis and male fertility. *Nat. Commun*. **6** : 1–9.
- 187) Nikolić M., Glamoclija J., Ferreira ICFR., Calhelha RC., Fernandes Â., Markovic T. & Sokovic M., 2014. Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum* L., *Thymus algeriensis* Boiss and Reut and *Thymus vulgaris* L. essential oils. *Ind Crops Prod*. **52** : 183-190.
- 188) Nishimura H., 2001. Aroma constituents in plants and their repellent activities against mosquitoes. *Aroma Res*. **2** : 257–267
- 189) Nuttall JG., O'leary GJ., Panozzo JF., Walker CK., Barlow KM. & Fitzgerald GJ., 2017. Modèles de qualité des grains de blé - Une revue. *Recherche sur les grandes cultures*. **202** : 136-145.
- 190) Oftadeh M., Sendi JJ. & Ebadollahi A., 2020. Toxicity and deleterious effects of *Artemisia annua* essential oil extracts on mulberry pyralid (*Glyphodespyloalis*). *PESTIC BIOCHEM PHYS*. **170**: 104702. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2020.104702>

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 191) **Olga S., Fevizi U. & Ekrem E., (2006).** Effects of Cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* L. (Hymenoptera: Ichneumonidae). *The Belgian Journal of Zoology*. **136 (1)** : 53-58.
- 192) **Ouakouak H., Benarfa A., Messaoudi M., Begaa S., Sawicka B., Benchikha N. et Simal-Gandara J., 2021.** Propriétés biologiques des huiles essentielles de *Thymus algeriensis* Boiss. *Plantes*. **10** : 786.
- 193) **Paiva PMG., Pontual EV., Napoleao TH., Coelho LCBB., 2012.** Effects of plant lectins and trypsin inhibitors on development, morphology and biochemistry of insect larvae. In: Pourali, K., Raad, V.N. (Eds.), *Larvae: Morphology, Biology and Life Cycle*. Nova Science Publishers Inc., New York, USA, 37–55.
- 194) **Pakyari H., Amir-Maafi M., Moghadamfar Z. & Zalucki M., 2018.** Estimating development and temperature thresholds of *Ephestia kuehniella*: Toward improving a mass production system. *Bull. Entomol. Res.* 1-8.
- 195) **Papanikolaou NE., Kavallieratos NG., Boukouvala MC. & Malesios C., 2021.** (Quasi)-Binomial vs. Gaussian Models to Evaluate Thiamethoxam, Pirimiphos-Methyl, Alpha-Cypermethrin and Deltamethrin on Different Types of Storage Bag Materials Against *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) and *Tribolium confusum* Jacquelin du Val (Coleoptera: Tenebrionidae). *Insects*. **12** : 182. <https://doi.org/10.3390/insects>
- 196) **Park YL. & Tak JH., 2016.** Essential oils for arthropod pest management in agricultural production systems. In: Preedy, V.R. (Ed.), *Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands. 61–70. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00006-7>
- 197) **Pavela R., 2009.** Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Ind Crops Prod.* **30** : 311-315.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 198) Pavela R., Vrchotová N. & Tříška J., 2009.** Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris L.*) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *J Parasitol Res.* **105**: 1365-70.
- 199) Pavela R., 2018.** Essential oils from *Foeniculum vulgare* Miller as a safe environmental insecticide against the aphid *Myzus persicae* Sulzer. *ESPR.* **25 (11)**: 10904–10910.
- 200) Pavela, R., Maggi, F., Iannarelli, R. & Benelli, G., 2019.** Des extraits de plantes pour développer des larvicides contre les moustiques : du laboratoire au terrain, avec un éclairage sur les modes d'action. *Acta tropica.* **193** : 236-271.
- 201) Pavoni L., Pavela R., Cespi M., Bonacucina G., Maggi F., Zeni V., Canale A., Lucchi A., Bruschi F. & Benelli G., 2019.** Green micro-and nanoemulsions for managing parasites, vectors and pests. *Nanomaterials (Basel).* **9(9)**: 1285.
- 202) Payne ND., 1966.** The differential effects of environmental factors Upon Mici bracon hebetor and its most *Ephestia kuehniella*. *Bull. Mar. Biol. Lab.*
- 203) Pener MS. & Dhadialla TS., 2012.** Un aperçu des perturbateurs de croissance des insectes ; aspects appliqués. *Avancées en physiologie des insectes.* **43** : 1-162.
- 204) Philippou D., Field L. & Moores G., 2010.** Metabolic enzyme(s) confer imidacloprid resistance in a clone of *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) from Greece. *Pest Manag. Sci.* **66**: 390-395.
- 205) Pibiri MC., 2005.** « Assainissement microbiologique de l'air et des systèmes de ventilation au moyen des huiles essentielles », Thèse de doctorat de l'institut des infrastructures des ressources et de l'environnement- Section d'architecture-Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne-France. 177p.
- 206) Piri A., Sahebzadeh S., Zibaee A., Sendi JJ., Shamakhi L. & Shahriari M., 2020.** Toxicity and physiological effects of ajwain (*Carumcopticum*, Apiaceae) essential oil and its major constituents against *Tutaabsoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Chemosphere.* **256**: 127103.

- 207) **Piri F., Sahragard A. & Ghadamyari M., 2014.** Sublethal effects of spinosad on some biochemical and biological parameters of *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Plant Prot. Sci.* **50**: 135–144.
- 208) **Puig O. & Mattila J., 2011.** Understanding Forkhead box class O function: lessons from *Drosophila melanogaster*. *Antioxidants & redox signaling.* **14(4)** : 635-647.
- 209) **Quézel P. & Santa S., 1963.** New flora of Algeria and southern desert regions. Volume II. Editions of the National Center for Scientific Research, Paris 7th, 603 p.
- 210) **Rahardjo IB., Marwoto B. & Budiato K., 2020.** Efficacy of selected plant extracts to control leafminer (*Liriomyza* spp.) in chrysanthemum. *Agrivita J. agric. Sci.* **42**: 2245-2256.
- 211) **Ramakoteswara S., Chiia KC. & Kameshwara P., 1991.** Studies on the effect of certain plant extracts on the protein metabolism of *Spodoptera litura* (F.). *Indian. J. Entomol.* **57(4)** : 406- 408.
- 212) **Rastoin JL. & Benabderrazik EH., 2014.** Céréales et oléo-protéagineux au Maghreb. Pour un co-développement de filières territorialisées. *Ipemed, Paris.* 136p.
- 213) **Rattan RS., 2010.** Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Prot.* **29**: 913-920.
- 214) **Reim C., Teuschl Y. & Blanckenhorn WU., 2006.** Size-dependent effects of larval and adult food availability on reproductive energy allocation in the Yellow Dung Fly. *Functional Ecology.* **20(6)** : 1012-1021.
- 215) **Reis TC., Soares MA., Dos Santos JB., Conceição A., Santos D., Serrão JE., Zanuncio JC. & Ferreira EA., 2018.** Atrazine and nicosulfuron affect the reproductive fitness of the predator *Podisusnigrispinus* (Hemiptera: Pentatomidae). *An. Acad. Bras. Cienc.* **90 (4)** : 3625–3633. <https://doi.org/10.1590/0001-3765201820170748>.

- 216) Rice PJ. & Coat JR., 1994.** Insecticidal properties of several monoterpenoids to the housefly (Diptera: Muscidae), red flour beetle (Coleoptera: Tenebrionidae), and southern corn rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *J. Econ. Entomol.* **87**: 1182-1179.
- 217) Richard DS., Watkins NL., Serafin RB. & Gilbert LI., 1998.** Ecdysteroids regulate yolk protein uptake by *Drosophila melanogaster* oocytes. *J. Insect Physiol.* **44** (7-8): 637–644.
- 218) Ryan MF. & Byrne O., 1988.** Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. *J. Chem. Ecol.* **14**: 1965–1975.
- 219) Sabbour MM. & Abd-El-Aziz SE., 2018.** The combined effect of *Metarhizium anisopliae* and some natural oils against *Ephestia kuehniella* and *Ephestia cutella* (Lepidoptera- Pyralidae) under laboratory and store conditions. *BiosciRes.* **15**(4): 3480-3489.
- 220) Sabbour MM. & Abd El-Aziz, SE., 2019.** Impact of certain nano oils against *Ephestiakuehniella* and *Ephestia cutella* (Lepidoptera-Pyralidae) under laboratory and store conditions. *Bull Natl Res Cent.* **43**: 80. <https://doi.org/10.1186/s42269-019-0129-3>.
- 221) Sadou N., Boughendjioua H., Seridi R. & Hamel T., 2020.** Effect of solvent extraction and growth stages on the content phenolics and antioxidant activity of *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.). *PhytoChem & Bio Sub Journal.* **14** (3) : 2170-1768.
- 222) Saidj, R. (2006).** Les gènes BRCA et FANC: implication dans la réparation des cassures double brin de l'ADN chez l'homme (Doctoral dissertation, Paris 5).
- 223) Sak O., Uçkan F. & Ergin E. 2006.** Effects of cypermethrin on total body weight, glycogen, protein, and lipid contents of *Pimpla turionellae* (L.)(Hymenoptera: Ichneumonidae). *Belg. J. Zool.* **136**: 53–58.

- 224) **Salles C., 2012.** Promotion of a medicinal plant with anti-diabetic activity from the Tlemcen region: *Anacyclus pyrethrum L.* Application of the aqueous extract to the corrosion inhibition of mild steel in 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. PhD thesis from Abou Bekr Belkaid University, Tlemcen, Algeria.
- 225) **Scott-Fordsmand JJ., Krogh PH. & Weeks JM., 2000.** Responses of *Folsomia fimetaria* (Collembola : Isotomidae) to copper under different soil copper contamination histories in relation to risk assessment. *Environmental Toxicology and Chemistry*. **19(5)**: 1297-1303.
- 226) **Selselet A., 1991.** Technologie des céréales et produits dérivés, Document à l'usage des étudiants. Option : technologie agro-alimentaire. Ed. Tee. et Doc. Lavoisier, Paris, **14** : 7.
- 227) **Seo SM., Shiu, W. K., Malkinson, J. P., Rahman, M. M., Curry, J., Stapleton, P., Gunaratnam, M., ... & Gibbons, S. (2013).** A new plant-derived antibacterial is an inhibitor of efflux pumps in *Staphylococcus aureus*. *International journal of antimicrobial agents*. **42(6)** : 513-518.
- 228) **Seo SM., Kim J., Kang J., Koh SH., Ahn YJ., Kang KS. & Park IK., 2014.** Fumigant toxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of 4 Asteraceae plant essential oils and their constituents against Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). *Pestic. Biochem.Physiol.* **113**: 55-61.
- 229) **Seo SM., Jung CS., Kang J., Lee HR., Kim SW., Hyun J. & Park IK., 2015.** Larvicidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of Apiaceae plant essential oils and their constituents against *Aedes albopictus* and formulation development. *J Agric Food Chem.* **63**: 9977–9986.
- 230) **Shaalán EAS., Canyon D., Younes MWF., Abdel-Wahab H. & Mansour AH., 2005.** A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential. *Environment international*. **31(8)** : 1149-1166.

- 231) **Shahriari M., Sahebzadeh N., Sarabandi M. & Zibae A., 2016.** Oraltotoxicity of thymol,  $\alpha$ -pinene, diallyldisulfide and trans-anethole, and their binary mixtures against *Tribolium castaneum* Herbst Larvae (Coleoptera: Tenebrionidae). *Jord J. BiolSci.* **9**: 213-19.
- 232) **Shahriari M. & Sahebzadeh NE., 2017.** Effect of diallyl disulfide on physiological performance of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Arch. Phytopathol. Plant Protect.* **50** : 33–46.
- 233) **Shahriari M., Zibae A., Sahebzadeh N. & Shamakhi L., 2018.** Effects of  $\alpha$ -pinene, trans anethole, and thymol as the essential oil constituents on antioxidant system and acetylcholine esterase of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Ypest.* doi:10.1016/j.pestbp.2018.06.015
- 234) **Shahriari M., Zibae A., Shamakhi L., Sahebzadeh N., Naseri D. & Hoda H., 2018.** Bio-efficacy and physiological effects of *Eucalyptus globulus* and *Allium sativum* essential oils against *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Toxin Rev.* **39(4)**: 1–12.
- 235) **Shahriari M., Sahebzadeh N.E. & Arash Z. 2019.** Effects of *Teucrium polium* L. (Lamiaceae) essential oil and  $\alpha$ -pinene on the detoxifying- and intermediary engaged enzymes of *Ephestia kuehniella* Zeller, 1879 (Lepidoptera : Pyralidae). *Acta Agric. Slov.* **113(2)** : 251.
- 236) **Shahriari M., Zibae A., Shamakhi L., Sahebzadeh N., Naseri D. & Hoda H., 2019.** Bio-efficacy and physiological effects of *Eucalyptus globulus* and *Allium sativum* essential oils against *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Toxin Rev.* DOI: 10.1080/15569543.2018.1554588
- 237) **Shao YZ., Hou QZ., Xie ZY., Yang YY., He CY., Zhou F., Zhang J. & Liang JY., 2021.** Bioactivities and Chemical Constituents of Essential Oils Extracted from *Caryopteris mongholica* Bunge against Two Stored-Product Insects. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* **24(1)**: 22-30.

- 238) **Sharma P., Mohan L., Dua KK. & Srivastava CN., 2011.** Status of carbohydrate, protein and lipid profile in the mosquito larvae treated with certain phytoextracts. *Asian. Pac. J. Trop. Med.* 301-304.
- 239) **Shewry PR., Tatham AS., Forde J., Kreis M. & Mifflin BJ., 1986.** La classification et la nomenclature des protéines de gluten de blé : une réévaluation. *Journal of cereal science.* **4 (2)** : 97-106.
- 240) **Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyneck C., New Hall A. & Freidman L., 1966.** A method for the sequential quantitative separation an glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.* **19**: 415-428.
- 241) **Singh P. & Pandey AK., 2018.** Prospective of Essential Oils of the Genus *Mentha* as Biopesticides: A Review. *Front. Plant Sci.* **1295 (9)**: 1664-462X. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.01295>.
- 242) **Singh R., Koul O. & Rup PJ., 2010.** Effect of some essential oil on the oviposition and feeding behavior of the Asian armyworm, *Spodoptera litura* F. (Lepidoptera: Noctuidae). *Biopestic. Int.* **6** : 52-66
- 243) **Sissons M., 2008.** Role of durum wheat composition on the quality of pasta and bread. *Food.* **2(2)**: 75-90.
- 244) **Skourti A., Kavallieratos NG. & Papanikolaou NE., 2020.** Suitability of semolina, cracked wheat and cracked maize as feeding commodities for *Tribolium castaneum* (Herbst, Coleoptera: Tenebrionidae). *Insects.* **11**: 99.
- 245) **Smagghe G. & Degheele D., 1994.** Action of the non steroidal ecdysteroid mimic RH- 5849 on larval development and adulte reproduction of insects of differents order. *Invert. Reprod. Dev.* **25** : 227- 236.
- 246) **Smahi MDJE., 2007.** Evaluations biométrique et énergétique de la biomasse d'espèces végétales aromatiques spontanées prépondérantes de la région de

- Tlemcen: Artemisia herba alba et *Thymus ciliatus*. Mémoire de Magister : Energétique. Tlemcen : Université Abou –Bakr Belkaid. 101p.
- 247) Soltani-Mazouni N., Hami M. & Gramdi H., 2012.** Sublethal effects of methoxy - fenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Invertebr. Reprod. Dev.* **56 (2)** : 157-163.
- 248) Soltani-Mazouni N., Hami M. et Gramdi H., 2011.** Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Invertebrate Reproduction and Development*. DOI : 10.1080/07924259.582695
- 249) Stathers T., Holcroft D., Kitinoja L. et al., 2020.** Un examen de la portée des interventions pour la réduction des pertes post-récolte en Afrique subsaharienne et en Asie du Sud. *Nat Sustain.* **3** : 821–835. <https://doi.org/10.1038/s41893-020-00622-1>
- 250) Sturm A., Worgam J., Segner H. & Liess M., 2000.** Different sensitivity to organophosphate of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from three-spined stickleback (*Gasterosteus vaculeatus*): application on biomonitoring. *Environmental Toxicology and Chemistry.* **19** : 1607 - 1617.
- 251) Sutton-McDowall ML., Gilchrist RB. & Thompson JG., 2010.** Le rôle central du métabolisme du glucose dans la détermination de la compétence développementale des ovocytes. *Reproduction.* **139 (4)**: 685.
- 252) Swevers L., Raikhel AS., Sappington TW., Shirk P. & Iatrou K., 2005.** Vitellogenesis and post-vitellogenic maturation of the insect ovarian follicle. In: Gilbert, L.I. Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Molecular Insect Science. Elsevier, Oxford, U.K.* **6**: 87–156.
- 253) Taffar A., 2022.** Effets d'un biopesticide l'Azadirachtine, sur la reproduction d'un Lépidoptère ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*. Thèse de Doctorat en sciences. Spécialité : physiologie et environnement. Université Badji Mokhtar, Annaba. 113 pages

- 254) Taffar A., Yezli-Touiker S., Bendjedid H., Soltani N., 2021.** Evaluation of azadirachtin, a biopesticides, on growth, development and cuticle secretion of Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *J. Entomol. Res.* **45 (3)**: 436-443.
- 255) Taïbi F., 2007.** Etude comparée du développement et de la reproduction chez deux ravageurs des denrées stockées *Ephestia kuehniella* et *Tenebrio molitor*: Aspect endocrinien en rapport avec l'impact d'un mimétique de l'hormone de mue, le RH-0345. Thèse de doctorat en Biologie et Physiologie Animale. Université d'Annaba. Algérie.
- 256) Tak JH. & Isman MB., 2016.** Metabolism of citral, the major constituent of lemongrass oil, in the cabbage looper, *Trichoplusia ni*, and effects of enzyme inhibitors on toxicity and metabolism. *Pestic. Biochem. Physiol.* **133** : 20-25. DOI: 10.1016/j.pestbp.2016.03.009.
- 257) Talukder, FA 2006.** Produits végétaux en tant qu'agents potentiels de gestion des insectes stockés dans les produits stockés - Une mini revue. *Journal de l'Alimentation et de l'Agriculture des Emirats.* 17-32.
- 258) Tang GW., Yang CJ. & Xie LD., 2007.** Extraction of *Trigonella foenum-graecum* L. By supercritical fluid CO<sub>2</sub> and its contact toxicity to *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: *Bostrichidae*). *J Pest Sci.* **80**: 151-157.
- 259) Tarigan SI. & Harahap IS., 2016.** Effets toxicologiques et physiologiques des huiles essentielles contre *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae) et *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera : Bruchidae). *Journal of Biopesticides.* **9 (2)**: 135.
- 260) Tchoumboungang F., Jazet Dongmo PM., Lambert Sameza M., Nkouaya Mbanjo EG., Tiako Fotso GB. & Amvam Zollo PH., 2009.** Larvicidal activity on *Anopheles gambiae* giles and chemical composition of essential oils extracted from four plants cultivated in Cameroon. *Biotechnol Agron Soc Environ.* **13**: 77-84.

- 261) **Tefiani C., Riazi A., Youcefi F., Aazza S., Gago C., Faleiro ML., Pedro LG., Barroso JG., Figueired AC., Megías C., Cortés-Girald I., Vioque J. & Miguel MG., 2015.** *Ammoides pusilla* (Apiaceae) and *Thymus munbyanus* (Lamiaceae) from Algeria essential oils: Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antiproliferative activities. *J. Essent. Oil Res.* (27) 2: 131-139. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2015.1006739>.
- 262) **Thierrey M., 2005.** Guide de la flore méditerranéenne de collioure à Menton. Arrière-pays et littoral. *Ed. Sud-ouest: France.* 16p.
- 263) **Thompson SN., 2003.** Advances in Insect Physiology. Trehalose The Insect 'Blood' Sugar; Simpson. *S.J. Ed. Academic Press: NY, USA.* 31 : 205–285.
- 264) **Troccoli A., Borrelli GM., De Vita P., Fares C. & Di Fonzo N., 2000.** Mini review: durum wheat quality: a multidisciplinary concept. *Journal of Cereal Science.* 32(2) : 99-113.
- 265) **Tufail M., Nagaba Y., Elgendy AM. & Takeda M., 2014.** Regulation of vitellogenin genes in insects. *Entomol. Sci.* 17 (3): 269–282.
- 266) **Tunç İ., Berger BM., Erler FEDAI. & Dağlı F., 2000.** Ovicidal activity of essential oils from five plants against two stored-product insects. *Journal of stored products research.* 36(2): 161-168.
- 267) **Ullah F., Gul H., Desneux N., Tariq K., Ali A., Gao XW. & Song DL., 2019.** Clothianidin-induced sublethal effects and expression changes of vitellogenin and ecdysone receptors genes in the melon aphid, *Aphis gossypii*. *Entomol. Gen.* 39: 137–149.
- 268) **Ulukanli Z., Karabörklü S., Bozok F., Ates B., Erdogan S., Cenet M. & Karaaslan MG., 2014.** Composition chimique, activités antimicrobiennes, insecticides, phytotoxiques et antioxydantes des huiles essentielles de résine de *Pinus brutia* méditerranéen et de *Pinus pinea*. *Chin J Nat Med.* 12 (12): 901-10.

- 269) **Varo I., Navarro JC., Amat F. & Guilhermino L., 2001.** Characterization of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere*. **48**: 563 - 569.
- 270) **Vijayaraghavan C., Sivakumar C., Kavitha Z. & Sivasubramanian P., 2010.** Effect of plant extracts on biochemical components of cabbage leaf webber, *Crociodolomia binotalis* Zeller. *J. Biopestic.* **3(1)**: 275-277.
- 271) **Wang L., Li J., Zhao X., Qian C., Wei G., Zhu B. & Liu C., 2016.** Expression and characterization of a lipase-related protein in the malpighian tubules of the Chinese oak silkworm, *Antheraea pernyi*. *Bull. Entomol. Res.* **106**: 615–623.
- 272) **Waongo A., Yamkoulga M., Dabire-Binso CL., Ba, MN. & Sanon A. 2013.** Conservation post-récolte des céréales en zone sud-soudanienne du Burkina Faso : perception paysanne et évaluation des stocks. *Int. J. Biol. Chim. Sci.* **7** : 1157-1167.
- 273) **Wei H., Liu J., Li B., Zhan ZH., Chen Y., Tian H., Lin S. & Gu X., 2015.** The toxicity and physiological effect of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* against the diamond back moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Crop Prot.* **76**: 68-74.
- 274) **Wu M-Y., Ying YY., Zhang SS., Li XG., Yan WH., Yao YC., Shah S., Wu G. & Yang FL., 2020.** Effects of Diallyl Trisulfide, an Active Substance from Garlic Essential Oil, on Energy Metabolism in Male Moth *Sitotroga cerealella* (Olivier). *Insects.* **11**: 270. doi:10.3390/insects11050270
- 275) **Wu X., Chen Z., Gao Y., Wang L., Sun X., Jin Y. & Liu W., 2018.** Le facteur de type krüppel Dar1 limite la prolifération des cellules souches intestinales de *Drosophila*. *FEBS J.* **285 (21)**: 3945-3958.
- 276) **Xu G., Hou J., Zhao Y., Bao J., Yang M., Fa H. & Hou C., 2019.** Dual-signal aptamer sensor based on polydopamine-gold nanoparticles and exonuclease I for ultrasensitive malathion detection. *Sensors and Actuators B : Chemical.* **287** : 428-436.

- 277) **Yazdani E., Jalali Sendi J. & Aliakbar A., 2013.** Chemical composition, toxicity and physiological effects of essential oil of *Rosemarinus officinalis* on lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* walker (Lep: Pyralidae). *J. Crop Protec.* **3(4)**: 461-476.
- 278) **Yazdani E., Jalal Jalali S. & Hajizadeh J., 2014.** Effect of *Thymus vulgaris* L. and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research.* **54 (1)**: 53-61.
- 279) **Yezli S., 2014.** Effet d'un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine le captopril, sur le développement et la reproduction d'un ravageur des denrées stockées, *Ephestia kuehniella* (Lépidoptère, Pyralidae) : Etude biochimique et endocrinologique. Thèse de Doctorat en sciences. Spécialité : Biologie Animale. Université Badji Mokhtar, Annaba. 112 pages
- 280) **Yezli-Touiker S. & Soltani-Mazouni N., 2011.** Profil des ecdystéroïdes durant la métamorphose et rapport avec le cycle cuticulaire chez *Ephestia kuehniella* (Insecta, Lepidoptera, Pyralidae). *Synthèse.* **22**: 49–55.
- 281) **Yezli-Touiker S., Soltani-Mazouni N., Kirane-Amrani L. & Soltani N., 2016.** Delayed effects of caproptil on the mediterranean flour moth: reproductive events, of ovaries. Biochemical composition and molting hormone contents of ovaries. *Fresenius Environ. Bull.* **25 (4)**: 1190-1205.
- 282) **Yezli-Touiker S., Taffar A., Meskache R. et Soltani N., 2018.** Impact of captopril on *Ephestia kuehniella*: Ovarian Nucleic Acid Amounts and Protein Analysis. *Tunis. J. Plant Prot.* **13**: 77-85.
- 283) **Yezli-Touiker S., Kirane-Amrani L., Meskache R. & Soltani N., 2019.** Effect of captopril on growth development and cuticular secretion in pupae of the

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Fresenius Environ. Bull.* **28** (2): 526-531.
- 284) Zeller PC., 1879.** Lepidopterologische Bemerkungen. *Entomologische Zeitung herausgegeben von dem entomologischen vereine zu Stettin.* **40**: 462-473.
- 285) Zhang Q., Liang WB., Du XY., Fa YH. & Wang XG., 2016.** Effects of garlic essential oil on biological activity, physiology and Bio- chemistry of *Myzms persicae*. *Gui Agric. Sci.* **44**: 68–71.
- 286) Zhang X., Ordóñez de Pablos P. & Xu Q., 2014.** Culture effects on the knowledge sharing in multi-national virtual classes: A mixed method. *Comput. Hum. Behav.* **31**: 491-498. <https://doi.org/10.1016/j.chb.2013.04.021>.
- 287) Zhang ZL, Yang T, Zhang YK, Wang LH, Xie YJ., 2016.** Fumigant toxicity of monoterpenes against fruitfly, *Drosophila melanogaster*. *Ind Crop Prod.* **81**:147–151.
- 288) Zimowska G., Shirk PD., Silhacek DL. & Shaaya E., 1995.** Termination of vitellogenesis in follicles of the moth, *Plodia interpunctella*: changes in oocyte and follicular epithelial cell activities. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **29**: 357-380.
- 289) Zwaan B., Bijlsma R. & Hoekstra R F., 1995.** Direct selection on life span in *Drosophila melanogaster*. *Evolution.* (4): 649-659.

# RESUMES

## RÉSUMÉ

L'huile essentielle du *Thymus munbyanus subsp. coloratus* a été utilisée *in vivo* par application topique sur des chrysalides nouvellement exuviées d'*E. kuehniella*. Dans un premier temps, l'HE a été évaluée sur l'inhibition de l'émergence des adultes, la durée du développement nymphale, la croissance pondérale et la longévité des adultes. L'HE du *T. munbyanus* a été testée, ensuite, en traitement simple sur l'activité spécifique des Glutathion S-Transférases (GSTs), l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE), les taux du Malondialdéhyde (MDA), le taux des métabolites dans le corps (protéines, glucides et lipides), les taux d'épuisement des réserves énergétiques (NDI). Les taux des vitellogenines dans le corps gras et des vitellines dans les ovaires, le potentiel reproducteur (périodes de préoviposition et oviposition, la fécondité et la viabilité des œufs), et enfin sur la descendance de la G1.

L'huile essentielle extraite par hydrodistillation du *Thymus munbyanus subsp. Coloratus* a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplés à la spectrométrie de masse. Le criblage par la GC/MS a permis d'identifier 54 constituants avec le cavacrol (39,11 %) comme composé dominant, suivi du paracymène (15,47 %) puis de la thymoquinone (10,59 %), d'autres composés comme le  $\alpha$ -pinène (3,92 %), le linalol (2,37 %) et Le D-limonène (2,34 %) ont été identifiés comme composants mineurs.

L'HE entraîne une inhibition de l'émergence adulte avec une relation dose-réponse. Les doses d'inhibition (DI) DI<sub>25</sub> et DI<sub>50</sub> déterminées, grâce à une régression non linéaire, sont de l'ordre de 15,38  $\mu$ l/mL et 25,22  $\mu$ l/mL respectivement. *T. munbyanus* perturbe le développement d'*E. kuehniella* en entraînant une diminution de la durée du développement nymphale, une diminution du poids des chrysalides au cours du temps durant la métamorphose ainsi qu'une réduction de la durée de survie des adultes. Le traitement, appliqué le jour de l'exuviation nymphale, entraîne une augmentation de l'activité spécifique des Glutathion S-Transférases (GSTs) et une diminution de l'activité spécifique de l'acétylcholinestérase (AChE) ainsi qu'une augmentation des taux du Malondialdéhyde (MDA). L'HE induit également une augmentation du taux d'épuisement des réserves énergétiques (NDI) et perturbe le taux des vitellogénines et des vitellines en les diminuant. Le traitement affecte également le potentiel reproducteur de l'insecte en diminuant les périodes de préoviposition et oviposition, la fécondité des femelles ainsi que la viabilité des œufs, sur les deux générations G0 et G1. L'HE a également affecté la descendance de la G1 en diminuant le nombre d'œufs pondus, le

nombre de larves (L5), le nombre de chrysalides et d'adultes chez les traités au deux doses  $DI_{25}$  et  $DI_{50}$  par rapport aux témoins.

Tous ces résultats montrent que l'HE peut être utilisé comme bio pesticide car elle présente des activités neurotoxiques, reprotoxiques, ovicides et insecticides en général qui peuvent être trans générationnels.

**Mot clés :** *Ephestia kuehniella*, Huile essentielle, *Thymus munbyanus subsp. coloratus*, Biochimie, Développement, Reproduction.

**ABSTRACT**

The essential oil of *Thymus munbyanus subsp. coloratus* has been used *in vivo* by topical application to newly exuviated pupae of *E. kuehniella*. First, the essential oil was evaluated on the inhibition of adult emergence, duration of pupal development, weight growth and survival time of adults. The EO of *T. munbyanus* was then tested in simple treatment on the specific activity of Glutathione S-Transferases (GSTs), the specific activity of acetylcholinesterase (AChE), levels of Malondialdehyde (MDA), the rate of metabolites in the body (proteins, carbohydrates and lipids), the rates of depletion of energy reserves (NDI), the levels of vitellogenins in the fatty body and of vitellins in the ovaries, reproductive parameters (periods of preoviposition and oviposition, fecundity and viability of eggs), and finally on the offspring of the first generation.

EO induces inhibition of adult emergence with a dose-response relationship. The ID<sub>25</sub> and ID<sub>50</sub> inhibition doses (ID) determined by non-linear regression are 15.38 µl / mL and 25.22 µl / mL respectively. *T. munbyanus* disrupts the development of *E. kuehniella* by causing a decrease in the duration of pupal development, a decrease in the weight of the pupae over time during metamorphosis as well as a reduction in the survival time of adults. The treatment, applied on the day of pupal exuviation, leads to an increase in the specific activity of Glutathione S-Transferases (GSTs) and a decrease in the specific activity of acetylcholinesterase (AChE) as well as an increase in levels. Malondialdehyde (MDA).

The essential oil also induces an increase in the rate of depletion of energy reserves (NDI), and disrupts the level of vitellogenins and vitellins by reducing them. The treatment also affects the insect's reproductive parameters by reducing the periods of preoviposition and oviposition, the fecundity of females as well as the viability of the eggs, in the two generations G<sub>0</sub> and G<sub>1</sub>. EO also affected the G<sub>1</sub> offspring by decreasing the number of eggs laid, the number of larvae (L<sub>5</sub>), the number of pupae and adults in the two-dose ID<sub>25</sub> and ID<sub>50</sub> treated compared to controls.

All these results show that HE can be used against *E. kuehniella* as a biopesticide because it has neurotoxic, reprotoxic, ovicidal and insecticidal activities in general which can be transgenerational.

**Keywords:** *Ephestia kuehniella*, Essential oil, *Thymus munbyanus subsp. coloratus*, Biochemistry, Developpement, Reproduction.

## ملخص

تم استخدام الزيت العطري لـ (*Thymus munbyanus subsp. coloratus*) في الجسم الحي عن طريق التطبيق الموضوعي للعدارى المنبعثة حديثاً من (*E. kuehniella*).

أولاً ، تم تقييم الزيت العطري بناءً على تثبيط ظهور البالغين ، ومدة نمو العذراء ، ونمو الوزن ، ووقت بقاء البالغين. تم بعد ذلك اختبار الزيت العطري لـ (*T. munbyanus*) في علاج بسيط على النشاط المحدد لـ Glutathione S-Transferases (GSTs) ، والنشاط المحدد لأستيل كولينستراز (AChE) ، ومستويات (Malondialdehyde MDA) ، ومعدل الأيضات في الجسم (البروتينات والكربوهيدرات والدهون) ، ومعدلات استنفاد احتياطات الطاقة (NDI) ، ومستويات الفيتيلوجينين في الجسم الدهني والفيتيلينينات في المبايض ، ومعايير التكاثر (فترات التوضيع المسبق ووضع البيض ، وخصوبة البويضات وحيويتها) ، وأخيراً على نسل الجيل الأول.

يؤدي الزيت العطري إلى تثبيط ظهور البالغين بعلاقة الاستجابة للجرعة. جرعات تثبيط ID<sub>25</sub> و ID<sub>50</sub> المحددة بواسطة الانحدار غير الخطي هي 15.38 ميكرو لتر / مل و 25.22 ميكرو لتر / مل على التوالي. (*T. munbyanus*) يعطل نمو (*E. kuehniella*) عن طريق التسبب في انخفاض مدة نمو العذراء ، وانخفاض وزن الخادرة بمرور الوقت أثناء التحول وكذلك تقليل فترة بقاء البالغين. العلاج ، الذي يتم تطبيقه في يوم نضح العذراء ، يؤدي إلى زيادة في النشاط المحدد لـ (Glutathione S-Transferase (GSTs) وانخفاض في النشاط المحدد لـ (Acetylcholinesterase (AChE) بالإضافة إلى زيادة في المستويات (MDA). يؤدي الزيت العطري أيضاً إلى زيادة معدل استنفاد احتياطات الطاقة (NDI) ، ويعطل مستوى الفيتيلوجينين والفيتيلينينات عن طريق تقليلها. يؤثر العلاج أيضاً على العوامل التناسلية للحشرة من خلال تقليل فترات ما قبل التبويض ووضع البويضات ، وخصوبة الإناث وكذلك قابلية بقاء البيض في الجيلين G0 و G1. أثر الزيت العطري أيضاً على نسل G1 عن طريق تقليل عدد البيض الذي تم وضعه ، وعدد اليرقات (L5) ، وعدد الخوادر والبالغات في الجرعة المزدوجة ID<sub>25</sub> و ID<sub>50</sub> المعالجة مقارنةً بالضوابط. كل هذه النتائج تظهر أنه يمكن استخدام HE ضد بكتريا *E. kuehniella* كمبيد حيوي لأنه يحتوي على أنشطة سامة للأعصاب ، وتكاثر ، ومبيدات حشرية بشكل عام والتي يمكن أن تنتقل عبر الأجيال.

**الكلمات المفتاحية:** *Ephestia kuehniella* ، *Essential oil* ، *Thymus munbyanus subsp. coloratus* ، الكيمياء الحيوية ، التنمية والتكاثر.

**ANNEXE :**

**PRODUCTION**

**SCIENTIFIQUE**

## PRODUCTION SCIENTIFIQUE

### Publications :

1. **BENDJEDID H.**, YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A., SOLTANI N., 2021. Phytochemical composition and insecticidal activities of essential oil of *Thymus munbyanus* (Lamiales : Lamiaceae) aerial parts and its proprieties against biomarkers of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera : Pyralidae). *Journal of Essential Oil-bearing Plants*. Vol. 24 (4), SI: 792-807.
2. TAFFAR A., YEZLI-TOUIKER S., **BENDJEDID H.**, SOLTANI N., 2021. Evaluation of azadirachtin, a biopesticides, on growth, development and cuticle secretion of Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Journal of Entomological Research*. Vol. 45 (3), SI : 436-443.

### Communications internationales et nationales :

#### Communications internationales :

1. TAFFAR A., YEZLI-TOUIKER S., **BENDJEDID H.** & SOLTANI N., 2019. Effets letaux d'un biopesticide l'azadirachtine sur la fécondité et la morphometrie des œufs d'un lepidoptère ravageur des denrées stockées, *Ephestia kuehniella*. Séminaire International Environnement et Toxicologie « SINENTOX 2019 », Université Frères Mentouri Constantine 1, Du 18 au 19 février 2019. (**Communication affichée**).
2. YEZL-TOUIKER S., TAFFAR A., **BENDJEDID H.** & SOLTANI N., 2019. Impact de l'exposition nymphale à un biopesticide l'azadirachtine sur la survie des adultes d'un lépidoptère ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*. Premier Colloque International sur la Lutte Biologique et Intégrée en Algérie, du 4 au 6 février 2019 à L'Université Mostefa Ben Boulaid (Batna 2). (**Communication orale**).
3. YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A., **BENDJEDID H.** & Soltani N., 2019. Toxicity of azadirachtin against Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. 18<sup>th</sup> International Conference on Organic Agriculture, Food Security and Public Health (OAFPH-19) Sept. 17-19, 2019 Istanbul (Turkey). (**Communication affichée**).
4. **BENDJEDID H.**, YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A. & SOLTANI N., 2019. Etude des infestations d'un insecte ravageur des denrées stockées (*Ephestia kuehniella*) sur la qualité de la farine. The international conférence (SINAAN 2019) – progress in natural antioxydants : sources. Mechanisms of actions ans valorisation in health, du 16-17 octobre 2019 université de Béjaia. Algérie. (**Communication affichée**).

5. **BENDJEDID H.**, YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A. & SOLTANI N., 2019. Contrôle de la qualité de la farine par des analyses physico-chimiques suite à une infestation par un insecte ravageur (*Ephestia kuehniella*). The 3rd Mediterranean congress on bio-analysis from 13th to 15th December, 2019 in Mahdia TUNISIA. (**Communication orale**).
6. YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A., **BENDJEDID H.** & SOLTANI N., 2020. Lethal effects of a biopesticide Azadirachtin on development of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller: The 20<sup>th</sup> International Symposium on Environmental Pollution and its Impact on Life in the Mediterranean Region, Greece October 26-27, 2020. (**Communication affichée**).
7. YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A., **BENDJEDID H.** & SOLTANI N., 2020. Evaluation d'un bio-pesticide, l'azadirachtine à l'égard d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* : Effets toxicologiques. International Conference on Biodiversity in service of Biotechnologies Université Mila Février 2020. (**Communication affichée**).
8. YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A., **BENDJEDID H.** & SOLTANI N., 2021. Impacts of pupal exposure to azadirachtin on a biomarker of damage vitellogenin and effects on the oviposition a lepidopteron pest of stored products, *Ephestia kuehniella*. International Seminar on Biodiversity, Valorization and Conservation of Urban and Forest Ecosystems: (In support of sustainable development) Mohamed Boudiaf University of M'sila Faculty of Sciences, March 28 - 29, 2021. (**Communication affichée**).
9. YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A., **BENDJEDID H.** & SOLTANI N., 2021. Impacts d'un insecticide naturel, l'azadirachtine, sur la reproduction d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*: Profil électrophorétique des protéines ovariennes. Pour le Congrès du Groupe Français de recherche sur les Pesticides, Tenue en ligne les 20 et 27 mai 2021. (**Communication affichée**).
10. **BENDJEDID H.**, YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A. & SOLTANI N., 2021. Toxicité de l'huile essentielle de *Thymus munbyanus* à l'égard d'un d'insectes ravageurs des denrées stockés, la pyrale méditerranéenne de la farine *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). SÉMINAIRE INTERNATIONAL SUR LES SCIENCES NATURELLES ET DE LA VIE en ligne (webinaire), organisé par International Journal of Human Settlements le 19 et 20 Février 2021, avec un poster. (**Communication affichée**).
11. **BENDJEDID H.**, YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A. & SOLTANI N., 2021. Mesure d'un biomarqueur, la Glutathione-S-Transferases (GSTs) chez un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) traitée par l'huile essentielle de *Thymus munbyanus*. SÉMINAIRE INTERNATIONAL SUR LES

SCIENCES NATURELLES ET DE LA VIE en ligne (webinaire), organisé par International Journal of Human Settlements le 19 et 20 Février 2021, avec un poster. **(Communication affichée).**

**12. BENDJEDID H., YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A. & SOLTANI N., 2021.** Consequences of an essential oil treatment of Thyme on the life cycle of an insect pest of stored products Mediterranean flour moth. International Seminar on Biodiversity, Valorization and Conservation of Urban and Forest Ecosystems: (In support of sustainable development) 28/29.04.2021. **(Communication affichée).**

**13. BENDJEDID H., YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A. & SOLTANI N., 2021.** Evaluation de la toxicité de l'huile essentielle de *Thymus munbyanus* chez un Lépidoptère ravageur des denrées stockées, *Ephestia kuehniella* : Réponses des biomarqueurs d'effet et de dommage. le Congrès du Groupe Français de recherche sur les Pesticides, Tenue en ligne les 20 et 27 mai 2021. **(Communication orale).**

**14. YEZLI-TOUIKER S., BENDJEDID H., TAFFAR A. & SOLTANI N., 2021.** Effects of a biopesticide azadirachtin on cuticular secretion in pupae of the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. 1er Séminaire International sur les innovations technologiques au service de l'agriculture durable (SIITA, 2021). Le 24-25 Octobre 2021 via Google Meet Université Milla.

**Communication nationales :**

1. TAFFAR A., YEZLI-TOUIKER S., **BENDJEDID H.** & SOLTANI N., 2019. Effets létaux d'un bio-pesticide : l'azadirachtine sur le taux des protéines ovariennes d'un ravageur des denrées stockées : *Ephestia kuehniella* (Lépidoptère : Pyralidae). 1<sup>er</sup> Séminaire National : L'Apport des Biotechnologies sur la Protection de l'Environnement : Le 15-16 décembre à l'Université Mohamed Boudiaf de M'sila (SNABPE2019). (**Communication affichée**).
2. TAFFAR A., YEZLI-TOUIKER S., **BENDJEDID H.** & SOLTANI N., 2019. Effets sublétaux d'un Biopesticide l'azadirachtine sur le potentiel reproducteur d'un ravageur des denrées stockées, *Ephestia kuehniella* (Lépidoptère : Pyralidae). Séminaire National de Biodiversité, Biologie Médicale et Ecotoxicologie Environnementale le 30-31 octobre 2019 à l'Université 20 Aout 1955 (SNBBMEE 2019). (**Communication orale**).
3. YEZLI-TOUIKER S., TAFFAR A., **BENDJEDID H.** & SOLTANI N., 2019. Toxicity of Azadirachtin against Mediterranean Flour Moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. 18th International Conference on Organic Agriculture, Food Security and Pulic Health (OAFPH-19) ; Istanbul (Turkey). (**Communication affichée**).
4. **BENDJEDID H.**, YEZL-TOUIKER S., TAFFAR A. & SOLTANI N., 2019. Contrôle de la qualité de la farine par des analyses physico-chimiques suite à une infestation par un insecte ravageur (*Ephestia kuehniella*). Séminaire national de biodiversité, biologie médicale et Ecotoxicologie Environnementale Skikda le 30-31 Octobre 2019. (**Communication orale**).
5. **BENDJEDID H.**, YEZL-TOUIKER S., TAFFAR A. & SOLTANI N., 2019. Evaluation de l'activité insecticide d'une huile essentielle du thym contre un ravageur de denrées stockées *Ephestia kuehniella*. 1<sup>er</sup> séminaire national : L'apport des Biotechnologies sur la Protection de l'Environnement, le 15-16 Décembre 2019 a M'sila (**Communication affichée**).
6. YEZLI-TOUIKER S., **BENDJEDID H.**, TAFFAR A. & SOLTANI N., 2021. Effet de l'huile essentielle de *Thymus munbyanus* sur la fécondité d'un insecte ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). Séminaire National sur les Applications Biotechnologiques en Agriculture, 2021 le Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila.



## Phytochemical Composition and Insecticidal Activities of Essential oil of *Thymus munbyanus* (Lamiales: Lamiaceae) Aerial Parts and Its Properties Against Biomarkers of *Ephestia kuehniella zeller* (Lepidoptera: Pyralidae)

Bendjedid Hadjira, Yezli-Touiker Samira, Taffar Asma, Hamel Tarek & Soltani Nouredine

To cite this article: Bendjedid Hadjira, Yezli-Touiker Samira, Taffar Asma, Hamel Tarek & Soltani Nouredine (2021) Phytochemical Composition and Insecticidal Activities of Essential oil of *Thymus munbyanus* (Lamiales: Lamiaceae) Aerial Parts and Its Properties Against Biomarkers of *Ephestia kuehniella zeller* (Lepidoptera: Pyralidae), Journal of Essential Oil Bearing Plants, 24:4, 792-807, DOI: [10.1080/0972060X.2021.1984315](https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1984315)

To link to this article: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2021.1984315>



Published online: 30 Sep 2021.



Submit your article to this journal [↗](#)



View related articles [↗](#)



View Crossmark data [↗](#)



Taylor & Francis  
Taylor & Francis Group

Journal of Essential  
Oil-Bearing Plants

ISSN: 0972-060X (Print); ISSN: 0976-5026 (Online)

<https://www.tandfonline.com/loi/teop>

## Article

### Phytochemical Composition and Insecticidal Activities of Essential oil of *Thymus munbyanus* (Lamiales: Lamiaceae) Aerial Parts and Its Properties Against Biomarkers of *Ephestia kuehniella zeller* (Lepidoptera: Pyralidae)

Bendjedid Hadjira, Yezli-Touiker Samira\*, Taffar Asma, Hamel Tarek, Soltani Nouredine

Laboratory of Applied Animal Biology Department of Biology, University of Badji Mokhtar Annaba, Algeria

\* Corresponding Author: [yezlitouikersamira@yahoo.fr](mailto:yezlitouikersamira@yahoo.fr) (Yezli-Touiker Samira)

Received 20 May 2021; Received in revised form 03 September 2021; Accepted 12 September 2021

**Abstract:** This research aimed to assess the chemical composition of the essential oil (EO) of *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* cultivated in Annaba (Northeast Algeria) and to evaluate its potential insecticidal activity against newly molted pupae of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). The yields of EO calculated from the dry matter of the aerial part of the plant were estimated at 2.56 % (w / w). Its chemical composition has been analyzed using gas chromatography/mass spectroscopy (GC / MS). 54 Compounds were identified and the main components were carvacrol (39.11 %), para- cymene (15.47 %), and thymoquinone (10.59 %). In preliminary bioassays, various doses (5, 15, 25, 40, and 100  $\mu$ l / mL) of the *T. munbyanus* EO were tested on newly molted pupae and the inhibition doses (ID) of adult emergence were determined. In a follow-up experiment, EO of *T. munbyanus* applied at its ID<sub>25</sub> (15.38  $\mu$ l / mL) and ID<sub>50</sub> (25.22  $\mu$ l / mL) was evaluated on acetylcholinesterase (AChE) and glutathion S-transferases (GSTs) activities. Biomarkers measurements in the treated pupae and adults (ID<sub>25</sub> and ID<sub>50</sub>) revealed an inhibition in AChE activity and activation of the detoxification system as evidenced by induction in GSTs activities. Lastly, our results proved the potential use of this material as an alternative to synthetic insecticides for controlling stored product pests.

**Keywords:** Biomarkers, *Ephestia kuehniella*, Essential oil, GC / MS, *Thymus munbyanus*.

## Introduction

The threatening expansion of humanity led to a strengthening in the importance of food manufacture that is long-lasting and harmless<sup>1</sup>. Insect pests can harmfully affect agricultural production crops or post-harvest and cause nutritional quality alteration of grains leading to tremendous economic casualties<sup>2</sup>. Chemical handle approaches are generally employed to manage pest infestation in stockpile product facilities and it relies principally on the usage of chemically synthesized pesticides<sup>3,4</sup>. However,

they caused environmental pollution and several side effects, such as contamination of drinking water, residues on food, acute or chronic negative effects on mammals and non-target organisms, and development of pest resistance<sup>5</sup>. Economic, social and environmental concerns have prompted an effort to discover and development of natural pesticides called botanical insecticides<sup>6</sup>. They are currently recognized as biodegradable, selective, ecologically friendly, and are widely supported in organic agriculture systems<sup>7</sup>. The high interactions between plants and insects led plants

to develop defense mechanisms against pests, therefore these are excellent sources of new insecticidal substances<sup>8</sup>. Plant secondary metabolites contain a broad range of phenols alkaloids and terpenoids showing significant toxicity toward insect pests<sup>9,10</sup>.

The *Thymus* sp. (Thyme) are small permanent therapeutic botanical herbs native to the Mediterranean region. They belong to the Lamiaceae family, which is one of the largest families among flowering plants, practically, with almost a range of 220 genera and 4000 species in the world<sup>11,12,13</sup>. Among them, the species *Thymus munbyanus* shows different biological activities like anti-microbial, anti-bacterial, and anti-proliferative activity on human cells<sup>14</sup> and also antioxidant activity<sup>15</sup>. *T. munbyanus* essential oil presents various families of compounds such as monoterpenes, sesquiterpenes, diterpenes, oxygenated derivatives also aromatic hydrocarbons, aldehydes, and ketones. The chemical composition and the compounds identified vary from a subspecies to another, indeed the major compounds of subsp. *abylaesus* are  $\alpha$ -terpinyl acetate,  $\alpha$ -terpineol, and borneol, for subsp. *ciliatus* carvacrol,  $\gamma$ -terpinene, and p-cymene are predominant, however, camphor, myrcene, and 1,8-cineole are the main for the subsp. *coloratus*<sup>16</sup>.

One of the major pests in industrial flour mills in temperate climates is the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera : Pyralidae). This species is distributed worldwide and considered as a serious pest of stored grain products as well as flour and other milled products<sup>17</sup>. This research aimed to assess the topical toxicity of *T. munbyanus* essential oil from Algeria as well as to determinate chemical composition of essential oil (EO). To give additional information on its mode of action, the activities of detoxifying enzyme (GSTs) and the biomarker of neurotoxicity (AChE) were measured.

## Materials and methods

### Plant collection

The plant material consists of aerial parts samples subspecies of Algerian *T. munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss & Reut) Greuter & Burdet. The

harvest was carried out in June 2020 when the plant was fluorescent (the flowering stage), with an amount of 8.7 kg in the municipality of Chetaibi (Northeast Algeria, Annaba; 36°56'47.4"N 7°23'43.9"E), then dried at room temperature ( $27 \pm 2^\circ\text{C}$ ) for 15 days, to obtain 2.7 kg of the shade-dried plant. Dr. Hamel Tarek based on Algerian flora<sup>18</sup> identified the plant and the voucher specimen (N°145394) was deposited in the herbarium of the Department of Botany (Faculty of Science, University of Badji Mokhtar Annaba, Algeria).

### Isolation of essential oil

The Isolation was done by hydrodistillation and it consists of immersing the cut aerial part of *T. Munbyanus* (100 g) directly in a 4-liter flask filled with distilled water (1 L) using a Clevenger type apparatus<sup>19</sup>. The whole is then brought to a boil for 3 hours, then the oil is separated from the aqueous phase in the presence of anhydrous sodium<sup>2</sup> sulfate to remove all traces of water and the essential oil was stored in a little opaque bottle at 4°C in the dark. The hydrodistillation was performed six times. The yield is calculated following the AFNOR,<sup>20</sup> formula:

oil % (w / w) = weight of essential oil (g) / weight of plant material (g)  $\times$  100.

### Insect rearing

*Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) is a major pest of stored food all over the world. In Algeria, it is particularly abundant in grains stores and wheat flour<sup>2</sup>. The insect was reared in the laboratory at a temperature of 27°C and a humidity of 80 % in almost continuous darkness as previously described<sup>17</sup>.

### Gas chromatography-mass spectrometry analysis of essential oil

Gas chromatography-mass spectrometry (GC / MS) analysis was performed with an HP (Hewlett Packard) Agilent 6890 plus equipped with a HP-5MS column (a length of 30 m  $\times$  internal diameter of 0.25 mm, and 0.25  $\mu\text{m}$  film thickness). The column oven temperature was set at 60°C for 8 min, and then increased to 250°C at the rate of 2°C / min. The injector and detector temperatures

were kept respectively at 250 and 270°C. The carrier gas was helium, the flow through the column was 0.5 mL/min and the split ratio was set to 50:1 with injection of 0.2 µL of oil sample. The mass spectrometry (MS) analysis was performed with a HP spectrometer (Hewlett Packard Agilent 5973) that operated at 70 eV.

Constituent's identification was based on a comparison of retention times with those of corresponding reference standards using the NIST 02 and by comparison of the retention index to *n*-alkanes of the components with published data<sup>21</sup>. Quantification was done by an external standard method using calibration curves generated by running GC analysis of representative compounds.

### Toxicity assays

For the bioassay *T. munbyanus* (Boiss & Reut) EO was dissolved in acetone, the toxicity tests were replicated three times for the different doses each experiment used 30 individuals, five doses were considered 5, 15, 25, 40, and 100 µL / mL. The treatment was administered *in vivo* to newly molted unsexed pupae of *Ephestia kuehniella*, by topical application throughout the ventral side of the pupa's abdomen). Pupae in the control groups were treated with solvent acetone (2 µL / pupa). A correction of the inhibition percentages of adult emergence was done according to Abbott,<sup>22</sup>. A nonlinear regression had determined the inhibition doses (ID) ID<sub>25</sub> and ID<sub>50</sub> (doses causing inhibition of adult emergence in 25 % and 50 % of the treated insects, respectively) together with their corresponding 95% fiducial limits (95 % FL).

### Biomarkers activities

The assay of Glutathione-S-Transferases (GSTs) was carried out according to Habig *et al.*<sup>23</sup> as previously described<sup>20</sup> using 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) as an artificial substrate. Control and treated individuals of *Ephestia kuehniella* (headless body) were collected at different ages (pupae at 1, 2, 3, 5, and 7 days while adults at 1, 2, and 3 days) and homogenized individually in 1 mL of phosphate buffer (0.1 M, pH 6). After centrifugation (14 000 / min for 30 min), an aliquot of 200 µL of the supernatant is

added with 1.2 mL of a mixture of CDNB (1 mM) / GSH (5 mM) substrate in phosphate buffer (0.1 M, pH 6). The absorbance readings are taken every minute for 5 min at a wavelength of 340 nm.

Acetylcholinesterase (AChE) activity was assessed in accordance with the method of Ellman *et al.*<sup>24</sup> as recently described<sup>20</sup> using acetylthiocholine as a substrate. The heads of pupae (1, 2, 3, 5, and 7 days) and adults (1, 2, and 3 days) of *Ephestia kuehniella* from the control and treated series are homogenized in 1 mL of detergent solution (1 mM EGTA / 1 % triton X / 1M NaCl / 0.01M Tris, pH 7). After centrifugation (5,000 revolutions/min for 5 min), the activity of AChE is measured on an aliquot of 100 µL of supernatant to which is added 100 µL of 5-5 'dithiobisnitrobenzene (DTNB) acid and 1 mL of Tris buffer (0.1 M, pH 7). After 5 min of reaction, 100 µL of substrate (acetylthiocholine) are added. Optical density was measured at a wavelength of 412 nm every 4 minutes for 20 min. The specific activity of GSTs and AChE are expressed in iM / min/mg of protein.

### Data analysis

Statistical analyses were performed using Prism version 7 for Windows (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA, www Graphpad.com), and *p* < 0.05 was considered to be a statistically significant difference. Data have been expressed by the mean ± standard deviation (mean ± SD). All data were verified by the Brown-Forsythe test and analyzed by one-way ANOVA and two-way analysis of variance (ANOVA). A Tukey post-hoc analysis HSD test was used to evaluate differences between the control and treated series.

### Results

#### *Chemical composition of essential oil*

The essential oil isolated from *T. munbyanus* was analyzed by GC / MS. The average essential oil yield from the hydrodistillation was 1.14 g from 100 g of the *T. munbyanus* plant and the percentage of essential oil yield was 2.56 % (w / w). A total of 54 chemical constituents were identified in essential oil constituting 93.27 % of the total content (Table 1). The essential oil profile

**Table 1. Chemical composition of *Thymus munbyanus* subsp *coloratus* aerial parts essential oil identified by GC / MS**

No.	Compounds	Concentration (%)	RT (min.)	RI <sup>lit</sup>	RI <sup>exp</sup>
1	$\alpha$ -Thujene	0.58	9.4	925	925
2	$\alpha$ -Pinene	3.92	9.9	939	933
3	Camphene	0.33	10.9	954	949
4	Thuja-2,4(10)-diene	0.11	11.1	960	953
5	$\beta$ -Pinene	0.20	12.7	979	977
6	1-Octen-3-ol	0.37	13.0	979	984
7	$\beta$ -Myrcene	0.64	13.4	990	990
8	$\alpha$ -Phellandrene	0.26	14.5	1002	1006
9	$\alpha$ -Terpinene	1.10	15.3	1017	1018
10	para-Cymene	15.40	16.2	1024	1030
11	D-Limonene	2.34	16.3	1029	1031
12	$\gamma$ -Terpinene	1.29	18.3	1059	1059
13	<i>cis</i> -Sabinene hydrate	0.47	19.3	1070	1073
14	Terpinolene	0.10	20.2	1088	1086
15	<i>trans</i> -Linalool oxide (furanoid)	0.08	20.5	1086	1089
16	p-Cymenene	0.10	20.7	1091	1093
17	Linalool	2.37	21.5	1096	1103
18	Isomenthone	0.18	26.3	1162	1169
19	Terpinen-4-ol	0.80	27.4	1177	1184
20	p-Cymen-8-ol	0.19	28.1	1182	1193
21	<i>cis</i> -Dihydro carvone	0.28	28.6	1192	1200
22	$\gamma$ -terpineol	0.21	28.7	1199	1202
23	<i>trans</i> -Dihydro carvone	0.33	29.2	1200	1209
24	Carvacrol, methyl ether	0.22	31.5	1244	1241
25	Thymoquinone	10.50	32.7	1252	1258
26	Thymol	0.81	35.4	1290	1298
27	Cavacrol	39.10	36.2	1299	1309
28	Piperitenone	0.17	38.6	1340	1346
29	Cyclosativene	0.15	40.0	1371	1367
30	$\alpha$ -Copaene	0.30	40.5	1376	1374
31	$\beta$ -Bourbonene	0.32	41.0	1388	1381
32	(E)-Caryophyllene	0.19	43.2	1419	1416
33	$\beta$ -Copaene	0.16	43.9	1432	1428
34	Alloaromadendrene	0.09	45.8	1460	1457
35	$\gamma$ -Muurolene	0.56	46.8	1479	1474
36	Germacrene D	0.22	47.1	1481	1479
37	<i>cis</i> - $\beta$ -guaiene	0.08	47.6	1493	1487
38	<i>trans</i> -Muurola-4(14),5-diene	0.14	47.9	1493	1491
39	$\alpha$ -Selinene	0.08	48.1	1498	1494
40	$\gamma$ -Cadinene	0.48	49.1	1513	1512
41	<i>trans</i> -Calamenene	0.56	49.4	1521	1517
42	$\delta$ -Cadinene	0.67	49.7	1522	1521
43	<i>trans</i> -Cadina-1.4-diene	0.04	50.3	1534	1531

table 1. (continued).

No.	Compounds	Concentration (%)	RT (min.)	RI <sup>lit</sup>	RI <sup>exp</sup>
44	$\alpha$ -Cadinene	0.08	50.5	1538	1535
45	$\alpha$ -Calacorene	0.12	50.9	1545	1541
46	Cadala-1(10),3,8-triene	0.03	51.1	-	1546
47	Tetramethylhydroquinone	0.48	53.0	1555	1576
48	$\alpha$ -Cadinol	0.20	57.7	1654	1660
49	Cadalene	0.51	58.2	1676	1669
50	Cryptomeridiol	0.06	71.0	1813	1813
51	<i>cis</i> -Totarol methy ether	1.48	80.9	2208	2224
52	<i>cis</i> -Totarol methy ether	2.43	81.1	2237	2229
53	4- <i>epi</i> -Abiatal	0.43	81.6	2298	2241
54	Abiatal	0.58	81.9	2313	2247
	Total monoterpenes	82.35	(Sr. No. 1-5, 7-28)		
	Total sesquiterpenes	5.50	(Sr. No. 6, 29-46,48-50)		
	Diterpenes	4.92	(Sr. No.51-54)		
	Unknown (Sr. No.47)	0.48			
	Total identified	93.27			
	Unidentified compounds	6.72			

RT: Retention time Index (min)

RI<sup>lit</sup> : Retention Index from literature (Adams, 2007)<sup>21</sup>

RI<sup>exp</sup> : Retention Index reported in the present investigation

is characterized by a high amount of cavacrol (39.1 %), followed by para-cymene (15.4 %) then thymoquinone (10.5 %), other compounds like  $\alpha$ -pinene (3.9 %), linalool (2.3 %), and D-limonene (2.3 %) were identified as minor components.

### Toxicity activity

The *T. munbyanus* essential oil topically applied on newly molted pupae of *Ephestia kuehniella* Zeller caused inhibition of adult emergence with a dose-response effect (Fig. 2). The inhibition recorded in controls was  $7.77 \pm 1.92$  %. Indeed, our data revealed that the corrected inhibition of adults emergence values varied from  $16.66 \pm 1.77$  % for the lowest dose (5  $\mu$ l / mL) to  $93.90 \pm 0.49$  % for the highest tested dose (100  $\mu$ l / mL). (Fig. 1).

Statistical analysis revealed a significant dose-effect ( $F_{4,10} = 609.6$  ;  $P < 0.001$ ) and Tukey's HSD test showed a significant increase in mortality with increasing doses, different lower case letters indicated a significant difference

between the corrected inhibition ( $P < 0.001$ ) (Fig. 1). The inhibition doses (ID) and the Hill slope recorded with their fiducial limits (95 %) were listed in table 2.

The non-linear regression curve expresses the mortality probits corrected for the logarithm of *T. munbyanus* oil concentration reveals a very strong relationship between the corrected mortality and the logarithm of the concentration ( $R^2=0.99$ ). (Fig. 2).

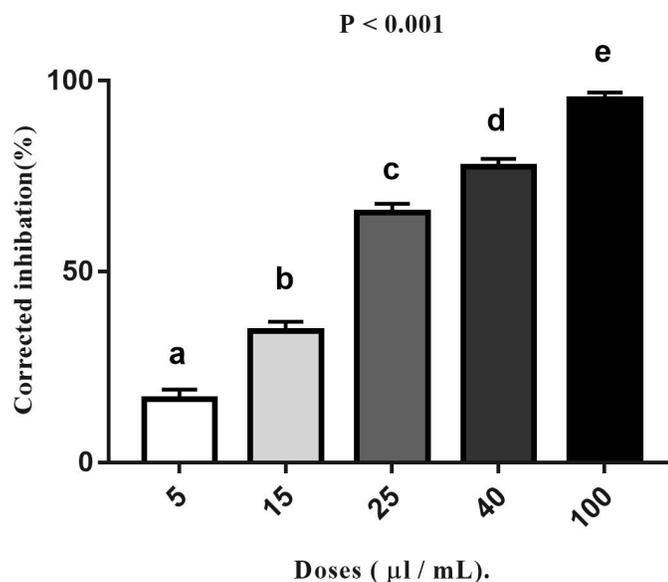
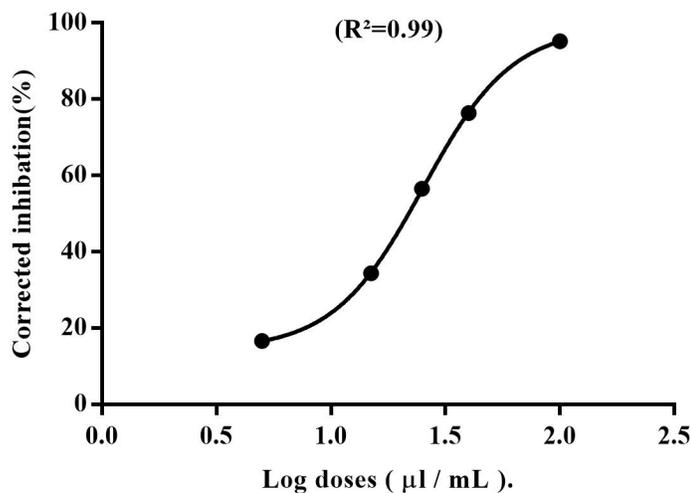
### Effects on enzymatic activities

ID<sub>25</sub> and ID<sub>50</sub> values were selected to evaluate their effects on two of the common enzymes Glutathion S-transferases (GSTs) and acetylcholinesterase (AChE). Figures 3 and 4 showed the results of the essential oil effects on AChE and GSTs in pupae and adults stages of *Ephestia kuehniella*.

Topical application of *T. munbyanus* EO caused a significant increase ( $P < 0.001$ ) in the GSTs specific activity, one day after the treatment ( $0.1043 \pm 0.0021$  for ID<sub>25</sub> and  $0.1224 \pm 0.0118$   $\mu$ g / min / mg protein for ID<sub>50</sub>) and in the 7<sup>th</sup> day

**Table 2.** Inhibition doses ( $\mu\text{l} / \text{mL}$ , FL) of *Thymus munbyanus* essential oil against newly molted pupae of *Ephestia kuehniella*

Doses	Values ( $\mu\text{l} / \text{mL}$ )	Fiducial limits (95 %)	R <sup>2</sup>
ID <sub>50</sub>	25.22	21.34 - 30.63	0.99
ID <sub>25</sub>	15.38	10.92 - 18.92	
Hill Slope	2.221	1.324 - 3.2	

**Figure 1.** Effect of *Thymus munbyanus* ( $\mu\text{l} / \text{mL}$ ) topically applied to newly molted pupae of *Ephestia kuehniella* on the adult exuviation inhibition (%) (mean  $\pm$  SD; n = 3 replicates containing every 30 pupae; values indicated by different letters are significantly different by HSD test at P < 0.001)**Figure 2.** Effect of *Thymus munbyanus* topically applied to newly molted pupae of *Ephestia kuehniella* at different doses ( $\mu\text{l} / \text{mL}$ ): curve dose-response expresses the corrected mortality for the logarithm of *Thymus munbyanus* oil concentrations ( $\mu\text{l} / \text{mL}$ )

of the pupae stage ( $0.1076 \pm 0.0115$  for  $ID_{25}$  and  $0.1254 \pm 0.0115$   $\mu\text{g} / \text{min} / \text{mg}$  protein for  $ID_{50}$ ) after treatment as compared to controls (Fig. 3). It also continues in the adults stage in the first day after emergence of the adults ( $0.0951 \pm 0.0055$  for  $ID_{25}$  and  $0.1142 \pm 0.0175$   $\mu\text{g} / \text{min} / \text{mg}$  protein for  $ID_{50}$ ) (Fig. 3). Two way ANOVA confirms these results and indicated a significant effect of dose ( $F_{2,264} = 2787$ ;  $P < 0.0001$ ), time ( $F_{7,264} = 995.2$ ;  $P < 0.0001$ ) and interaction dose time ( $F_{14,264} = 46.33$ ;  $P < 0.0001$ ). Different lowercase letters above the same exposure time indicated a significant difference ( $p < 0.05$ ).

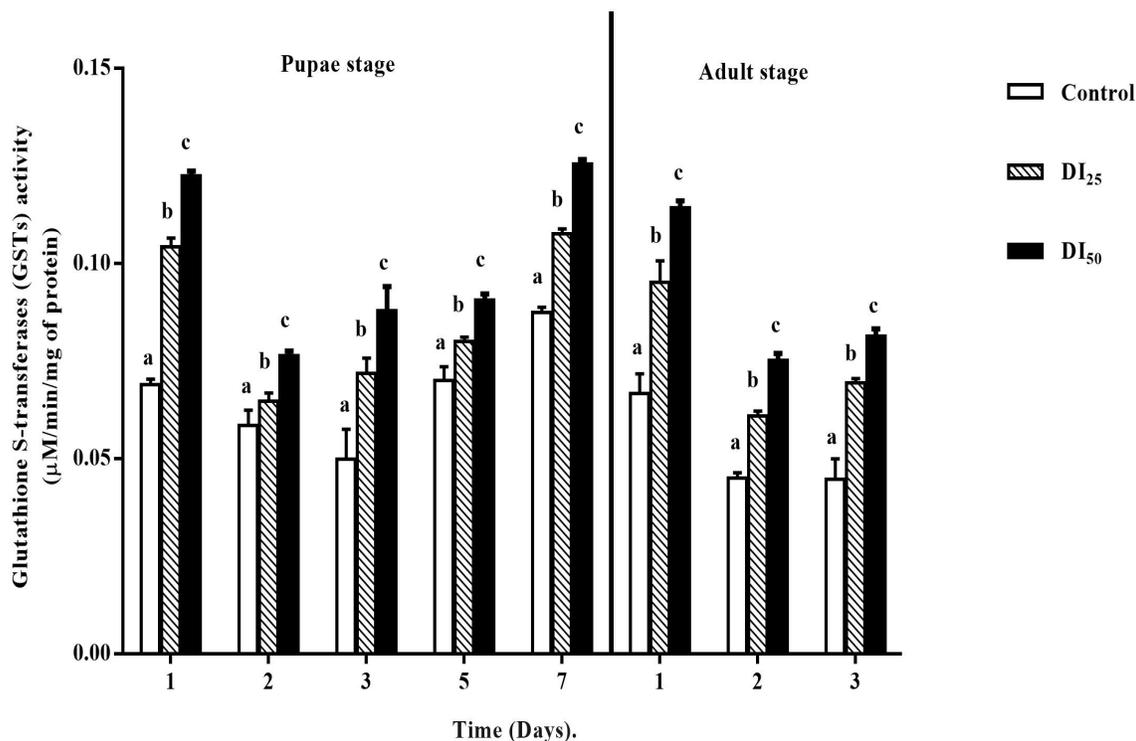
For AChE, the activity was determined in the control and treated series in both pupae and adult stages. Results showed significant inhibition of specific activities AChE at 1 day after treatment at the two tested doses ( $ID_{25}$  and  $ID_{50}$ ) on newly molted pupae of *E. kuehniella* (Fig. 4). EO inhibited significantly ( $p < 0.0001$ ) the specific activity of AChE compared to the control series at 1, 2, and 3 days during the adult stage ( $P <$

$0.0001$ ). Two-way ANOVA showed a significant effect as function of the dose ( $F_{2,264} = 720.5$ ;  $P < 0.0001$ ), the time ( $F_{7,264} = 270.9$ ;  $P < 0.0001$ ) and interaction dose time ( $F_{14,264} = 29.4$ ;  $P < 0.0001$ ). Different lowercase letters above the same exposure time indicated a significant difference ( $p < 0.05$ ).

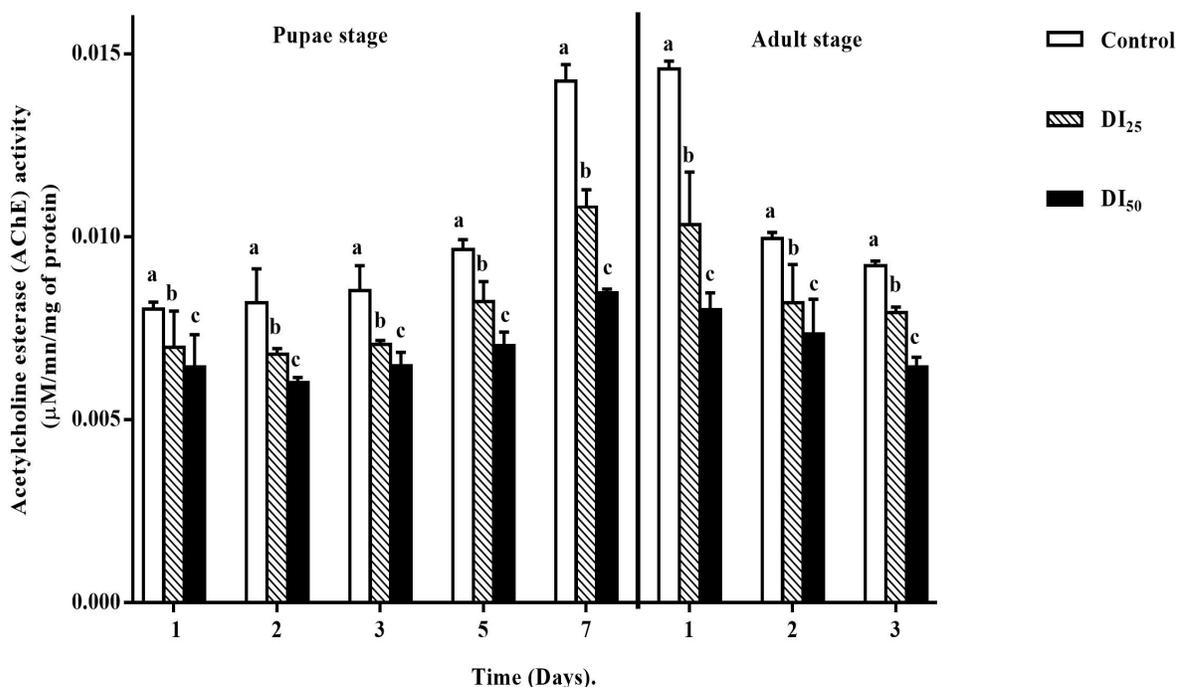
## Discussion

### Essential oil yield

The EO yields of *T. munbyanus* aerial parts isolated by hydrodistillation vary between 1.14 - 2.56 % (w / w). This result is in accordance with the results of Benchabane *et al.*<sup>25</sup> who found in the same species a yield of 2.3 % (w / w). In another locality of Algeria (Tlemcen) *T. munbyanus* has higher essential oil yields of 3% (w/w)<sup>14</sup>, Recently Benomari *et al.*<sup>16</sup> have found lower essential oil yields reported in also Tlemcen (Algeria) with 3 subspecies of *Thymus*. They recorded (0.84 - 1.38 %) (w / w) from subsp. *munbyanus*, (0.49 - 0.96 %) (w / w) from subsp.



**Figure 3.** Effect of *Thymus munbyanus* essential oil ( $ID_{25}$  and  $ID_{50}$ ) topically applied to newly molted pupae of *E. kuehniella* (mean  $\pm$  SD,  $n = 12$ ) on the GSTs activity ( $\mu\text{M} / \text{min} / \text{mg}$  of protein) in pupae stage during metamorphosis and adult stage over time (days). Different lowercase letters above the same exposure time indicate a significant difference ( $p < 0.05$ )



**Figure 4.** Effect of *Thymus munbyanus* essential oil (ID<sub>25</sub> and ID<sub>50</sub>) topically applied to newly molted pupae of *E. kuehniella* (mean  $\pm$  SD, n= 12) on the AChE activity ( $\mu$ M / min/mg of protein) in pupae stage during metamorphosis and adult stage over time (days). Different lowercase letters above the same exposure time indicate a significant difference ( $p < 0.05$ )

*euciliatus* and (0.29 - 0.58 %) (w / w) from subsp. *coloratus*. Therefore, we conclude that several factors could be at the origin of these variations like the age of plants<sup>26</sup>, nature of the soil and climate<sup>27</sup>, the part of the plant subjected to Isolation, and the harvest period<sup>28</sup>. We can also assume that these differences may depend in part on different glandular pockets of subspecies compared to the other<sup>29</sup>.

### Chemical composition

Oxygen-containing monoterpenes (55.86 %) are the most prominent class in *T. munbyanus* essential oil followed by monoterpene hydrocarbons (26.49 %). Carvacrol (39.11 %), p-cymene (15.47 %), and Thymoquinone (10.59 %) were the main constituents of the oil.

The essential oil we have obtained was composed predominantly of monoterpenes oxygenated compounds and consistent with the findings of a previous study by Benchabane *et al.*<sup>25</sup> on a sample of *T. munbyanus* collected from Azzazga (North center Algeria), in which carvacrol was found to be a rich chemotype (35.20 %),

thymol (18.50 %) and p-cymene (8.50 %). Also, the EO of *Thymus satureioides* cultivated in Morocco was composed of carvacrol (26.07 - 26.18 %) and borneol (17.25 - 20.67 %)<sup>30</sup>.

Another study was made by Benomari *et al.*<sup>16</sup> on a sample of *T. munbyanus* subsp. *ciliatus* collected from different geographical locations in Tebessa in Algeria, in which carvacrol was found to be a rich chemotype (65.70 %). Thus, the sample of this research was characterized by higher amounts of carvacrol (39.11 vs. 65.70 %),  $\alpha$ -terpinene (1.29 vs. 2.10 %) and lower amounts of p-cymene (15.47 vs. 7.90 %), linalool (2.37 vs. 0.8 %),  $\alpha$ -pinene (3.92 vs. 0.60 %) and thymol (0.81 vs. 0.30 %)<sup>16</sup>. These findings, however, conflict with those of Chikhoun *et al.*<sup>31</sup>, who found that thymol (52 %) was more abundant than carvacrol (5.20 %) in a sample collected from Ouzellaguen (800 - 1000 m) region in Algeria. Bendif *et al.*<sup>29</sup> reported that borneol was the predominant compound (31.20 %) followed by camphor (13.60 %) in the region of Borj Bou Arreridj in Algeria. Benomari *et al.*<sup>16</sup> also reported for the sample of *T. munbyanus* subsp. *coloratus*

collected from the same location that camphor (25.90 %), myrcene (16.90 %), and camphene (6.20 %) were the major components.

Environmental factors such as the relative humidity, temperature, duration of sunstroke, altitude, and other factors directly influence the proportion of the different constituents of essential oil, especially in species whose secretory structures are superficial (case of the secreting hairs of Lamiaceae). Indeed, the cultivation conditions (nature of the soil, fertilizer supply), the Isolation process, the Isolation time, and other factors such as preliminary treatments (transport conditions, drying and storage time of plant material, etc.) can cause great variability in the composition of essential oil, following enzymatic degradation<sup>32,33,29</sup>.

### Insecticidal activity

Increasingly studies are in demand to use plant essential oils as one of the components in IPM programs<sup>34</sup>. Many secondary metabolites are known to be potent insecticide<sup>35</sup>, as they act as fumigants<sup>36</sup>, as contact insecticides<sup>37</sup>, and an appetite suppressant<sup>38</sup>, also topical application by penetrating the insect<sup>39</sup>. This one may affect certain biological parameters such as growth rate<sup>40</sup>, development, and reproduction<sup>41</sup>. The toxicity of essential oils isolated from aromatic plants has been studied on stored insects<sup>42,43,44,45</sup>.

Our results indicate that *T. munbyanus* plant EO showed an interesting insecticidal activity against *Ephestia kuehniella* Zeller. Different concentrations (5, 15, 25, 40, and 100  $\mu\text{l}$  / mL of acetone) were topically applied on newly molted pupae of *E. kuehniella* Zeller (under < 8h), caused lethal effects during the formation of pupae leading to an inhibition of adult formation. Some plant essential oils have been documented to have insecticidal activity against different stages of *E. kuehniella*<sup>46,47,48</sup>. Emamjomeh *et al.*<sup>49</sup> found out that *Zataria multiflora* exhibited high fumigant toxicity against *E. kuehniella* adults and larvae. Recently, Aoudi *et al.*<sup>50</sup> demonstrated the fumigant potential and contact toxicity against *E. kuehniella* of *M. rotundifolia* EO and *M. communis* EO. Several studies have demonstrated the insecticidal activity of essential oil of species of the genus *Thymus* to some insects pests of stored foodstuffs,

such as *Thymus bleicherianus*, *Thymus capitatus*, and *Thymus satureioides* essential oils that have showed insecticidal activity against *Sitophilus oryzae*<sup>38</sup>. Similar results were found with *Thymus vulgaris* plant EO that showed an interesting larvicidal activity against mosquito larvae of *Cx. pipiens*<sup>51</sup>. Recently, Guettal *et al.*<sup>44</sup> reported that *Citrus limonum* (*Sapindales: Rutaceae L.*) essential oil showed fumigant toxicity, with a dose-response relationship against store insect *S. granarius*. More recently Kharoubi *et al.*<sup>52</sup> showed that *Mentha x piperita* L EO have larvicidal and ovicidal activities against *Culex pipiens* L.

Essential oil is a mixture of volatile hydrocarbons with a variety of functional groups and their insecticidal constituents are mainly monoterpenoids<sup>53</sup>. Also, the complexity of the chemical composition of most volatile oils gives them low specificity<sup>54</sup>, so their activity is not assigned to a single mechanism of action, since the wide variety of chemical groups they have allows them to touch multiple targets in the cell<sup>55,56</sup>. The high efficiency of *Thymus* oil may be attributed to the presence of high amounts of phenolic compounds such as carvacrol, which may play an important insecticidal role<sup>57,58</sup>.

The ID<sub>25</sub> and ID<sub>50</sub> values were estimated to be 15.38 and 25.22  $\mu\text{l}$ /mL of acetone, respectively. Our results indicate that the inhibition doses recorded are lower than those found in several studies. Tchoumboungang *et al.*<sup>59</sup> demonstrated the insecticidal activity of popular *Thymus* collected in Cameroon on larvae *Anopheles gambiae*. The LC<sub>50</sub> obtained was 119  $\pm$  1.5  $\mu\text{g}$  / mL, and LC<sub>90</sub> was 147 $\pm$ 2.4  $\mu\text{g}$  / mL. The essential oil made from *T. vulgaris*, has strong potential in the production of new larvicides and adulticides with values of 134.1  $\mu\text{g}$  / L after 24 h<sup>60</sup>. In addition, Dargahi *et al.*<sup>61</sup> studied the larvicidal activity of *Thymus transcaspicus*, an aromatic plant of *Thymus* genus, against *An. Stephensis*. The highest toxicity was observed at 250  $\mu\text{g}$ /L of essential oil with the LC<sub>50</sub>. This difference in the doses used can be explained by the noticeable differences, not only the spices of the plant are different but its chemical composition and also the insect exposed to this natural EO.

### Biomarkers responses

Glutathione *S*-transferases (GSTs) are a group of enzymes involved in detoxification and oxidative defense of insects against chemicals of both natural and synthetic origins<sup>62</sup>. They are also involved in intracellular transport, biosynthesis of hormones, and protection against oxidative stress<sup>63</sup>.

The results obtained with *E. kuehniella* after treatment with *T. munbyanus* EO showed an increase in the specific activities of GSTs 24h after treatment. This tends to confirm the rapid and toxicity obtained 24 hours after application of the essential oil. This increase in GSTs that continues in the adult stage is very significant compared to the controls in both stages and could be explained by induction of the process of detoxification, a reaction of the organism against the entry of the essential oils. These results are consistent with previous findings<sup>64,65,66</sup>. Moreover, Shahriari *et al.*<sup>67</sup> recorded significant-high activities of glutathione *S*-transferases in the treated larvae of *E. kuehniella* with  $\alpha$ -pinene, *trans*-anethole, and thymol. Similar results with essential oil of *T. vulgaris*, induced the detoxification system *via* an increase in GSTs activity against *C. pipiens* larvae<sup>51</sup>. More recently, Kharoubi *et al.*<sup>52</sup> indicate that *Mentha x piperita* oil induces activation of the detoxification system by inducing GSTs activities in *Culex pipiens* larvae. Some plant materials could be detoxified by conjugation to the nucleophilic thiol (-SH) group of GSH in GST molecule so the higher enzymatic activity may indicate removing entered chemical into tissues or cells<sup>67</sup>. In addition, lipid peroxidation disrupts the structural organization of cell membranes, so GSTs should be induced to remove products of lipid peroxidation or hydroperoxides from damaged cells<sup>68,69</sup>. Therefore, the activity of GSTs enzymes increased after insect exposure to chemicals or secondary metabolites of essential oils that reflect the initiation of the detoxification process, which is a form of insect defense against the pesticide. The decrease in the activity of the GSTs, observed between the ages could be explained by the implication of these enzymes in hormonal biosynthesis and the regulation of cell metabolism and physiology<sup>70</sup>.

Acetylcholine esterase (AChE) is one of the most important hydrolytic enzymes in the insect nervous system that equilibrate neural signal transduction by rapid hydrolyzing of acetylcholine signal in the synaptic cleft to acetate and choline in synaptic clefts<sup>71</sup>. Apart from chemical insecticides like organophosphates and carbamates, AChE has been shown as a significant target of monoterpenoids<sup>72,73,74,75</sup>.

Our results demonstrated that *T. munbyanus* EO significantly decreased the activity of AChE of *E. kuehniella*. Similar results reported inhibition of the AChE activity which was observed in *E. kuehniella* after treatment by  $\alpha$ -pinene, *trans*-anethole, and thymol oil<sup>67</sup>. More recently, *E. kuehniella* larvae treated by EOs of *Allium sativum* and *Eucalyptus globulus*, significantly decreased the activity of acetylcholine esterase<sup>76</sup>. The decrease in the specific activity of AChE tends to confirm the neurotoxicity effects of *T. munbyanus* EO in both stages compared to the control series. This could be explained by an inhibition of AChE which Dandlen *et al.*<sup>77</sup> already reported that different essential oils isolated from various Portuguese spices of *Thymus* presented AChE inhibition capacity pointing out the strong AChE inhibition potential of *T. zygis* subsp. *zygis* essential oil, marked with a relatively high amount of carvacrol (43.6 %). From this research, it is noteworthy that carvacrol is a very active inhibitor against AChE. Furthermore, López *et al.*<sup>78</sup> reported that *Origanum syriacum* and carvacrol inhibited the activity of AChE in *Anisakis simplex*. Moreover, Seo *et al.*<sup>79</sup> reported the inhibition of AChE by carvacrol in *Aedes Albopictus*.

The inhibition of AChE can be explained by different causes. One of them is demonstrated by Several studies which showed that most essential oils comprising monoterpenes compounds, may bind to protein receptors, leading to reversible competition inhibiting the enzyme acetylcholinesterase<sup>80</sup>, by the occupation of the hydrophobic site of the enzyme's active center<sup>81</sup>. In cultured cells of *Periplaneta americana* and brains of *Drosophila melanogaster*, eugenol was found mimicking the action of octopamine and increasing intracellular calcium levels<sup>82</sup>. Rattan<sup>83</sup> examined the mechanism of action of secondary

plant metabolites on the body of insects and recorded several physiological disturbances, such as inhibition chloride channels GABA- (By thymol), perturbation of sodium and potassium ion exchange (by pyrethrin), and inhibition of cellular respiration (by rotenone), and mitotic blockade (by azadirachtin)<sup>51</sup>. A neurotransmission interruption leads to a physiological imbalance and thereafter, the death of the target insect<sup>84</sup>. These studies confirm that the insecticidal activity and neurotoxicity of monoterpenes is due to several mechanisms that affect multiple targets.

### Conclusions

Essential oil isolated from *T. munbyanus* belongs to the Lamiaceae family contains many important chemical compounds which were analyzed using GC/ MS indicating that Carvacrol is the major compound of the EO. Our research showed that *T. munbyanus* subsp *coloratus* EO topically applied to newly molted pupae caused significant mortality of *E. kuehniella* with low concentrations

and caused significant physiological impairments disrupting the development, molt process, biological constitutions, and disturbs enzymes.

The use of plant compounds to reduce population infestation of agricultural pests has been highly considered due to their effects in low concentrations, rapid degradation with minimal impact on non-target organisms and the environment. The overall results suggested that *T. munbyanus* could be used in integrated pest management programs as an alternative to synthetic chemical insecticides.

### Acknowledgments

This research was supported by the National Fund for Scientific Research to Pr. Nouredine Soltani (Laboratory of Applied Animal Biology, Badji Mokhtar University, Annaba) and the Ministry of High Education and Scientific Research of Algeria (PRFU Project: D01N01UN230120180026 to Dr. Amel Hamdani).

### References

1. **Campos, E.V., Proença, P.L., Oliveira, J.L., Bakshi, M., Abhilash, P.C. and Fraceto, L.F. (2019).** Use of botanical insecticides for sustainable agriculture: Future perspectives. *Ecol. Indic.* 105: 483-495.
2. **Yezli-Touiker, S., Kirane-Amrani, L., Meskache, R. and Soltani, N. (2019).** Effect of captopril on growth development and cuticular secretion in pupae of the mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller. *Fresenius Environ. Bull.* 28 (2): 526-531.
3. **Giunti, G., Palermo, D., Laudani, F., Algeri, G.M., Campolo, O. and Palmeri, V. (2019).** Repellence and acute toxicity of a nano-emulsion of sweet orange essential oil toward two major stored grain insect pests. *Ind Crops Prod.* 142: 111869.
4. **Sarwar, M., Ahmad, N. and Toufiq, M. (2009).** Host plant resistance relation ships in chickpea (*Cicer arietinum* L.) against gram pod borer (*Helicoverpa armigerahubner*). *Pak. J. Bot.* 41: 3047-3052.
5. **Ebadollahi, A., Ziaee, M. and Palla, F. (2020).** Essential Oils Extracted from Different Species of the Lamiaceae Plant Family as Prospective Bio agents against Several Detrimental Pests. *Molecules.* 25:1556. DOI : 10.3390/molecules25071556.
6. **Pavela, R. (2018).** Essential oils from *Foeniculum vulgare* Miller as a safe environmental insecticide against the aphid *Myzus persicae* Sulzer. *ESPR.* 25 (11): 10904-10910.
7. **Hamel, D., Rozman, V. and Liška, A. (2020).** Storage of Cereals in Warehouses with or without Pesticides. *Insects.* 11: 846. DOI:10.3390/insects11120846.
8. **Jayakumar, M., Arivoli, S., Raveen, R. and Tennyson, S. (2017).** Repellent activity and fumigant toxicity of a few plant oils against the adult rice weevil *Sitophilus oryzae* Linnaeus 1763 (Coleoptera: Curculionidae). *J Entomol Zool Stud.* 5: 324-335.
9. **Isman, M.B. (2006).** Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51(1): 45-66.

10. **Martínez, L.C., Plata-Rueda, A., Colares, H.C., Campos, J.M., Dos Santos, M.H., Fernandes, F.L., Serrão J.E. and Zanuncio J.C. (2017).** Toxic effects of two essential oils and their constituents on the mealworm beetle, *Tenebrio molitor*. Bull. Entomol. Res. 108 (6): 716-725.
11. **Colpaert, P. (2006).** *Thymus vulgaris*: technical sheet. Morlanwelz; Mariemont-Chapelle, FR: Ed. horticulture Department of Athénée provincial Warocqué Morlanwelz-Mariemont-Chapelle.
12. **Javed, H., Erum, S., Tabassum, S. and Ameen, F. (2013).** An overview on medicinal importance of *Thymus vulgaris*. J. Asian Sci. Res. 3(10): 974-982.
13. **Nikoliae, M., Glamoclija, J., Ferreira, I.C.F.R., Calhelha, R.C., Fernandes, Â., Markovic, T. and Sokovic, M. (2014).** Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antitumor activity of *Thymus serpyllum L.*, *Thymus algeriensis* Boiss and Reut and *Thymus vulgaris L.* essential oils. Ind Crops Prod. 52: 183-190.
14. **Tefiani, C., Riazi, A., Youcefi, F., Aazza, S., Gago, C., Faleiro, M.L., Pedro, L.G., Barroso, J.G., Figueired, A.C., Megías, C., Cortés-Girald, I., Vioque J. and Miguel. M.G. (2015).** *Ammoides pusilla* (Apiaceae) and *Thymus munbyanus* (Lamiaceae) from Algeria essential oils: Chemical composition, antimicrobial, antioxidant and antiproliferative activities. J. Essent. Oil Res. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2015.1006739>
15. **Sadou, N., Boughendjioua, H., Seridi, R. and Hamel, T. (2020).** Effect of solvent extraction and growth stages on the content phenolics and antioxidant activity of *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* (Boiss. & Reut.). PhytoChem & BioSub Journal. 14(3): 2170-1768.
16. **Benomari, F.Z., Djabou, N., Moumani, M., Hassani, F., Muselli, A. and Costa, J. (2020).** Chemical variability of essential oils of three subspecies of *Thymus munbyanus* Boiss. & Reut. from Western Algeria. J. Essent. Oil Res. 32(5): 474-484.
17. **Soltani-Mazouni, N., Hami, M. and Gramdi, H. (2012).** Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. Invertebr. Reprod. Dev. 56(2): 157-163.
18. **Quézel, P. and Santa, S. (1963).** New flora of Algeria and southern desert regions. Volume II. Editions of the National Center for Scientific Research, Paris 7th, 603 p.
19. **Clevenger, J.F. (1928).** Apparatus for the determination of volatile oil. J. Am. Pharm. Assoc. 17: 345-349.
20. **AFNOR. (2000).** « Recueil de normes Française : Les huiles essentielles ». Tome 2.
21. **Adams R.P. (2007).** Identification of essential oil components by gas chromatography/mass spectrometry, 4th ed., Allured Publishing: Carol Stream, IL, USA.
22. **Abbott W.W. (1925).** A method for computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
23. **Habig, W.H., Pabst, M.J. and Jackoby, W.B. (1974).** Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. J. Biol. Chem. 249(22): 7130-7139.
24. **Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. and Featherstone, R.M. (1961).** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. Biochem. Pharmacol. 7: 88-95.
25. **Benchabane, O., Hazzit, M., Baaliouamer, A. and Mouhouche, F. (2012).** Analysis and Antioxidant Activity of the Essential Oils of *Ferula vesceritensis* Coss. et Dur. and *Thymus munbyanus* Desf. J. Essent. Oil-Bear. Plants. 15(5): 774-781.
26. **Boland, I.J., Mancini, P.M.E., Glussiani, C.D. and Jourraspe, J.B. (1982).** Volatile leaf oil of *Eucalyptus delegatensis* seedling. Phytochemistry. 21(10) : 2467-2469.
27. **Hajji, F., El Idrissi, A., Fkih-Tetouani, S. and Bellakhdar, J. (1989).** Study of the chemical compositions of some species of *Eucalyptus* from Morocco. Al Biruniya, Rev, Mar, Pharm. 5(2): 125-132.
28. **Ainane, A., Khammour, F., El kouali, M., Talbi, M., Abba, E.H., Cherroud, S. and Ainane, T. (2018).** Chemical composition and anti-insecticidal activity of essential oils of *Thymus* from

- Morocco: *Thymus Capitatus*, *Thymus Bleicherianus* and *Thymus Satureioides*. Proceedings BIOSUNE'1. 96-100.
29. **Bendif, H., Boudjeniba, M., Miara, M.D., Biqiku, L., Bramucci, M., Lupidi, G., Quassinti, L., Vitali L.A. and Maggi, F. (2017).** Essential oil of *Thymus munbyanus* subsp. *coloratus* from Algeria: Chemotypification and *in vitro* biological activities. *ChemBiodivers.* 14: 3.
  30. **El-Bakkal, S.E., Zeroual, S., Elouazkiti, M., Mansori, M., Bouamama, H., Zehhar, N. and El-Kaoua, M. (2020).** Comparison of Yield Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oils Obtained from *Thymus pallidus* and *Thymus satureioides* Coss. Grown in Wild and Cultivated Conditions in Morocco. *J. Essent. Oil-Bear. Plants.* DOI: 10.1080/0972060X.2019.1708216
  31. **Chikhoun, A., Stouvenel, L., Iguer-Ouada, M., Hazzit, M., Schmitt, A., Lorès, Pa., Wolf, J.P., Aissat, K., Auger, J., Vaiman, D. and Touré, A. (2015).** *In-vitro* effects of *Thymus munbyanus* essential oil and thymol on human sperm motility and function. *Reprod. Biomed. Online.* 31: 411-420.
  32. **Besombes, C. (2008).** Contribution to the study of the phenomena of hydro thermomechanical extraction of aromatic herbs. Generalized applications. Doctoral thesis, University of La Rochelle, France.
  33. **Salles, C. (2012).** Promotion of a medicinal plant with anti-diabetic activity from the Tlemcen region: *Anacyclus pyrethrum L.* Application of the aqueous extract to the corrosion inhibition of mild steel in 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. PhD thesis from Abou Bekr Belkaid University, Tlemcen, Algeria.
  34. **Sabbour, M.M. and Abd-El-Aziz, S.E. (2018).** The combined effect of *Metarhizium anisopliae* and some natural oils against *Ephestia kuehniella* and *Ephestia cutella* (Lepidoptera- Pyralidae) under laboratory and store conditions. *BiosciRes.* 15(4): 3480-3489.
  35. **Pavela, R. (2009).** Larvicidal property of essential oils against *Culex quinque fasciatus* Say (Diptera: *Culicidae*). *Ind Crops Prod.* 30: 311-315.
  36. **Choi, W.S., Park, B.S., Lee, Y.H., Jang, D.Y., Yoon, H.Y. and Lee, S.E. (2006).** Fumigant toxicities of essential oils and monoterpenes against *Lycoriellamali* adults. *J. Crop Prot.* 25: 398-401.
  37. **Tang, G.W., Yang, C.J. and Xie, L.D. (2007).** Extraction of *Trigonella foenum-graecum L.* By supercritical fluid CO<sub>2</sub> and its contact toxicity to *Rhyzopertha dominica* (Fabricius) (Coleoptera: *Bostrichidae*). *J Pest Sci.* 80: 151-157.
  38. **Gonzalez-Coloma, A., Martin-Benito, D., Mohamed, N., Garcya-Vallejo, M.C. and Soria, A.C. (2006).** Anti feedant effects and chemical composition of essential oils from different populations of *Lavandula luisieri L.* *Biochem. Syst. Ecol.* 34: 609-616.
  39. **Bovornnanthadej, T., Boonsoong, B., Taylor, D., Kainoh, Y., Koul O. and Bullangpoti, V. (2013).** Effect of thymol on reproductive biology of *Helicoverpa armigera hübner* (lepidoptera: noctuidae). *comm. appl. biol. sci, ghent university.* 78(2): 311.
  40. **Nathan, S.S., Choi, M.Y., Seo, H.Y., Paik, C.H., Kalaivani, K. and Kim, J.D. (2008).** Effect of azadirachtin on acetylcholineesterase activity and histology of brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stal). *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 70: 244-250.
  41. **Isikber, A.A., Navarro, S., Finkelman, S. and Rindner, M. (2006).** Propylene oxide: a potential quarantine and pre-shipment fumigant for disinfection of nuts. *Phytoparasitica.* 34(4): 412-419.
  42. **Campolo, O., Malacrinò, A., Zappalà, L., Laudani, F., Chiera, E., Serra, D., Russo, M. and Palmeri, V. (2014).** Fumigant bioactivity of five Citrus essential oils against *Tribolium confusum*. *Phytoparasitica.* 42: 223-233.
  43. **Mossa, A.T.H. (2016).** Green pesticides: Essential oils as biopesticides in insect-pest management. *J. Environ. Sci. Technol.* 9: 354-378.
  44. **Guettal, S., Tine, S., Tine-Djebbar, F. and Soltani N. (2020).** Evaluation of *Citrus limonum*

- (Sapindales: Rutaceae) L. essential oil as protectant against the granary weevil, *Sitophilus granarius* (L.) (Coleoptera: Curculionidae). Allelopathy J. 51(1): 79-92.
45. **Shao, Y.Z., Hou, Q.Z., Xie, Z.Y., Yang, Y.Y., He, C.Y., Zhou, F., Zhang, J. and Liang, J.Y. (2021).** Bioactivities and Chemical Constituents of Essential Oils Extracted from *Caryopteris mongholica* Bunge against Two Stored-Product Insects. J. Essent. Oil-Bear. Plants. 24(1): 22-30.
  46. **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.
  47. **Ayvaz, A., Sagdic, O., Karaborklu, V. and Ozturk, I. (2010).** Insecticidal activity of the essential oils from different plants against three stored product insects. J. Insect. Sci. 10:21.
  48. **Karaborklu, S., Ayvaz, A., Yilmaz, S. and Akbulut, M. (2011).** Chemical Composition and Fumigant Toxicity of Some Essential Oils Against *Ephestia kuehniella*. J. Econ. Entomol. 104(4): 1212-1219.
  49. **Emamjomeh, L., Imani, S., Talebi, K., Moharramipour, S. and Larijani, K. (2014).** Chemical composition and insecticidal activity of essential oil of *Zataria multiflora* Boiss (Lamiaceae) against *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). Pelagia Res Libr. 4(3): 253-257.
  50. **Aouadi, G., Haouel, S., Soltani, A., Ben Abada, M., Boushah, E., Elkahoui, S., Taibi, F., Mediouni- Ben Jemâa, J and Bennadja, S. (2020).** Screening for insecticidal efficacy of two Algerian essential oils with special concern to their impact on biological parameters of *Ephestia kuehniella* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae). (JPDP). 1861-3829.
  51. **Bouguerra, N., Tine-Djebbar, F. and Soltani, N. (2018).** Effect of *Thymus vulgaris* L. (Lamiales: Lamiaceae) Essential Oil on Energy Reserves and Biomarkers in *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) from Tebessa (Algeria) J. Essent. Oil-Bear. Plants. 21(4): 1082-1095.
  52. **Kharoubi, R., Rehim, N., Khaldi, R., Haouari-Abderrahim, J. and Soltani, N. (2021).** Phytochemical Screening and Insecticidal Activities of Essential oil of *Mentha piperita* L. (Lamiales: Lamiaceae) and their Enzymatic Properties against Mosquito *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). J. Essent. Oil-Bear. Plants. 24(1): 134-146.
  53. **Coats, J.R., Karr, L.L. and Drewes, C.D. (1991).** Toxicity and neurotoxicity effects of monoterpenoids in insects and earthworms. In : Naturally Occurring Pest Bioregulators, (Ed., P.A. Hedin). ACS Symp. Ser. Am. Chem. Soc.. 449(20): 305-316.
  54. **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D. and Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils-a review. Food Chem. Toxicol. 46: 446-475.
  55. **Burt, S. (2004).** Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. Int. J. Food Microbiol. 94: 223-253.
  56. **Benchabane, O. (2014).** Chemical Composition And Insecticidal Activities of Essential oils of two Algerian endemic plants: *Ferula Vesceritensis* Coss. Et Dur. And *Thymus Pallescens* De Noe. Int. J. Agric. Sci. 4(6): 185-192.
  57. **Anderson, M.E. (1997).** Glutathione and glutathione delivery compounds. Adv. Pharmacol. 38: 65-78.
  58. **Atti-Santos, A.C., Pansera, M.R., Paroul, N., Atti-Serafini, L. and Moyna, P. (2004).** Seasonal Variation of Essential Oil Yield and Composition of *Thymus vulgaris* L. (Lamiaceae) from South Brazil. J. Essent. Oil. Res. 16(4): 294-295.
  59. **Tchoumboungang, F., Jazet Dongmo P.M., Lambert Sameza, M., Nkouaya Mbanjo, E.G., Tiako Fotso, G.B. and Amvam Zollo, P.H. (2009).** Larvicidal activity on *Anopheles gambiae* giles and chemical composition of essential oils extracted from four plants cultivated in Cameroon. Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 13: 77-84.
  60. **Pavela, R., Vrchotová, N. and Tøiska, J. (2009).** Mosquitocidal activities of thyme oils (*Thymus vulgaris* L.) against *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). J. Parasitol. Res. 105: 1365-70.

61. **Dargahi, L., Razavi-Azarkhiavi, K., Ramezani, M., Reza Abaee, M. and Behravan J. (2014).** Insecticidal activity of the essential oil of *Thymus transcaspicus* against *Anopheles stephensi*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.* 4: 589-91.
62. **Wei, H., Liu, J., Li, B., Zhan, Z.H., Chen, Y., Tian, H., Lin, S. and Gu, X. (2015).** The toxicity and physiological effect of essential oil from *Chenopodium ambrosioides* against the diamond back moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Crop Prot.* 76: 68-74.
63. **Jing, T.X., Wu, Y.X., Li, T., Wei, D.D., Smagghe, G.G. and Wang, J.J. (2017).** Identification and expression profiles of fifteen delta-class glutathione S-transferase genes from a stored-product pest, *Liposcelis entomophila* (Enderlein) (Psocoptera: *Liposcelididae*). *Comp. Biochem. Physiol. B.* 206: 35-41.
64. **Khosravi, R., Sendi, J.J., Ghadamyari, M. and Yazdani, E., (2011).** Effect of sweet worm wood *Artemisia annua* crude leaf extracts on some biological and physiological characteristics of the lesser mulberry pyralid, *Glyphodespyloalis*. *J. Insect. Sci.* 11: 1-13.
65. **Kumrungsee, N., Pluempanupat, W., Koul, O. and Bullangpoti, V. (2014).** Toxicity of essential oil compounds against diamondback moth, *Plutella xylostella*, and their impact on detoxification enzyme activities. *J. Pest Sci.* 87: 721-9.
66. **Shahriari, M., Sahebzadeh, N., Sarabandi, M. and Zibaee, A. (2016).** Oral toxicity of thymol,  $\alpha$ -pinene, diallyldisulfide and trans-anethole, and their binary mixtures against *Tribolium castaneum* Herbst Larvae (Coleoptera: *Tenebrionidae*). *Jord. J. BiolSci.* 9: 213-19.
67. **Shahriari, M., Zibaee, A., Sahebzadeh, N. and Shamakhi, L. (2018).** Effects of  $\alpha$ -pinene, trans anethole, and thymol as the essential oil constituents on antioxidant system and acetylcholine esterase of *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Ypest. doi:10.1016/j.pestbp. 2018. 06.015.*
68. **Enayati, A.A., Ranson, H. and Hemingway, J. (2005).** Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Mole. Biol.* 14: 3-8.
69. **Huang, V., Yun, X., Rao, W. and Xiao, C. (2017).** Antioxidative cellular response of lepidopteran ovarian cells to photoactivated alpha-terthienyl. *Pestic. Biochem. Physiol.* 137: 1-7.
70. **Broard, P.G. and Menon, D. (2013).** Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochim biophys acta.* 1830(5): 3267-3288.
71. **Jacob, R.F. and Mason, R.P. (2005).** Lipid peroxidation induces cholesterol domain formation in model membranes. *J. Biol. Chem.* 280: 39380-39387.
72. **Philippou, D., Field, L. and Moores, G. (2010).** Metabolic enzyme(s) confer imidacloprid resistance in a clone of *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) from Greece. *Pest Manag. Sci.* 66: 390-395.
73. **Kim, S.W., Kang, J. and Park, I.K. (2013).** Fumigant toxicity of Apiaceae essential oils and their constituents against *Sitophilus oryzae* and their acetylcholinesterase inhibitory activity. *J. Asia Pac. Entomol.* 16: 443-447.
74. **Li, S.G., Li, M.Y., Huang, Y.Z., Hua, R.M., Lin, H.F., He, Y.J., Wei, L.L. and Liu, Z.Q. (2013).** Fumigant activity of *Illicium verum* fruit extracts and their effects on the acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activities in adult *Sitophilus zeamais*. *J. pest sci.* 86: 677-683.
75. **Seo, S.M., Kim, J., Kang, J., Koh, S.H., Ahn, Y.J., Kang, K.S. and Park, I.K. (2014).** Fumigant toxicity and acetylcholinesterase inhibitory activity of 4 Asteraceae plant essential oils and their constituents against Japanese termite (*Reticulitermes speratus* Kolbe). *Pestic. Biochem. Physiol.* 113: 55-61.
76. **Shahriari, M., Zibaee, A., Shamakhi, L., Sahebzadeh, N., Naseri, D. and Hoda, H. (2019).** Bio-efficacy and physiological effects of *Eucalyptus globulus* and *Allium sativum* essential oils against *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Toxin Rev. DOI: 10.1080/15569543. 2018.1554588*

77. **Dandlen, S.A., Miguel, M.G., Duarte, J., Faleiro, M.L., Sousa, M.J., Lima, A.S., Figueiredo, A.C., Barroso, J.G. and Pedro, L.G. (2011).** Acetylcholinesterase Inhibition Activity of Portuguese *Thymus* Species Essential Oils. J. Essent. Oil-Bear. Plants. 14(2): 140-150.
78. **López, V., Cascella, M., Benelli, G., Maggi, F. and Gómez-Rincón, C. (2018).** Green drugs in the fight against *Anisakis simplex* larvicidal activity and acetylcholinesterase inhibition of *Origanum compactum* essential oil. Parasitol. Res. 117: 861-867.
79. **Seo, S.M., Jung, C.S., Kang, J., Lee, H.R., Kim, S.W., Hyun, J. and Park, I.K. (2015).** Larvicidal and acetylcholinesterase inhibitory activities of Apiaceae plant essential oils and their constituents against *Aedes albopictus* and formulation development. J. Agric. Food Chem. 63: 9977-9986.
80. **Chaubey, M.K. (2014).** Biological activities of *Allium sativum* essential oil against pulse beetle, *Callosobruchus chinensis* (Coleoptera: Bruchidae). Herba Pol. 60(2): 41-55.
81. **Ryan, M.F. and Byrne, O. (1988).** Plant-insect coevolution and inhibition of acetylcholinesterase. J. Chem. Ecol. 14: 1965-1975.
82. **Enan, E.E. (2005).** Molecular and pharmacological analysis of an octopamine receptor from American cockroach and fruit fly in response to essential oils. Arch. Insect Biochem. Physiol. 59: 161-71.
83. **Rattan, R.S. (2010).** Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. Crop Prot. 29: 913-920.
84. **Jalali Sendi, J. and Ebadollahi, A. (2013).** Biological Activities of Essential Oils on Insects. RPMP. 37: Essential Oils-II