

Evaluation of insecticidal efficiency of essential oils from *Foeniculum vulgare* var. dulce waste to control *Tribolium castaneum* Herbst 1797 (Coleoptera :Tenebrionidae) and *Trogoderma granarium* Everts 1898 (Coleoptera : Dermestidae) under laboratory conditions

Evaluation de l'efficacité insecticide des huiles essentielles du déchet de *Foeniculum vulgare* var. dulce dans la lutte contre *Tribolium castaneum* Herbst (1797)(Coleoptera : Tenebrionidae) et *Trogoderma granarium* Everts (1898) (Coleoptera : Dermestidae) dans des conditions de laboratoire

M. ELIMEM^{1*}; R. SOLTANI²; W. DHAHRI¹

¹High School of Mograne (ESAM), Mograne, Zaghouane, University of Carthage, Tunisia

²Regional Center of Agricultural Research at SidiBouzid (CRRA). B.P.357, SidiBouzid 9100. Tunisia

*Corresponding author: guessmihajer55@gmail.com

Abstract – This work aims to evaluate under laboratory conditions the insecticidal effect of the plant essential oil *Foeniculumvulgare* var. dulce on insect pests of stored foodstuffs *Triboliumcastaneum*Herbst (1797) and *Trogodermagranarium*Everts (1898). The obtained results show that the efficiency of the essential oil of fennel is very low in the order of 0.026%. Concerning the fumigant effect of the pure essential oil on the adults of the two studied insects, it showed a more interesting toxic effect against *T. castaneum* with a LD50 = 62.37 µl/air and TL50 =16.7 h at 10 µl (142.857 µl/air) while for *T. granarium* the LD50 = 108.971 µl/air and TL50 = 18.78 h at 10 µl. However, the larvae expressed a great resistance with zero mortality throughout the experiment. As for the study of the fumigant effect of diluted products, the essay showed an excellent efficiency on adults of *T. castaneum* compared to the essay of pure essential oil where the best efficiency was recorded for dilution 25% with DL 50 = 117.685 µl/air and TL50 = 7.765 h at 15 µl. For the 75% dilution, only 50% of mortality was achieved at 164.242 µl/l air and after 9.507 h of exposure at 15 µl.

Keywords: essential oils, fumiganteffect, insecticides, valorisation, LD50

Résumé –L'objectif de ce travail consiste à évaluer dans des conditions de laboratoire, l'effet insecticide de l'huile essentielle de la plante *Foeniculumvulgare* var. dulce sur les insectes nuisibles des denrées stockés *Triboliumcastaneum*Herbst (1797) et*Trogodermagranarium*Everts (1898). Les résultats montrent que le rendement de l'huile essentielle de fenouil est très faible de l'ordre de 0.026 %. Concernant l'effet fumigène de l'huile essentielle pure contre les adultes des deux insectes étudiés, cette dernière a montré un effet toxique plus intéressant contre *T. castaneum* avec une DL50 = 62.37 µl /air et TL50 =16.7 h à 10 µl (142.857 µl /air), tandis que pour *T. granarium* a indiqué une DL50 =108.971 µl /air et TL50 = 18.78 h à 10 µl. Par contre, les larves ont montré une grande résistance avec zéro mortalité durant toute l'expérimentation. Quant à l'étude de l'effet fumigène des dilutions, ces dernières ont montré une excellente efficacité à l'égard les adultes de *T. castaneum* par rapport à l'huile essentielle pure où la meilleure efficacité a été enregistré pour la dilution 25 % avec DL 50 = 117.685 µl /air et TL50 = 7,765 h à 15 µl. Pour la dilution 75%, une mortalité de 50% a été atteinte à la dose 164.242 µl/l air et après 9.507 h d'exposition à 15 µl.

Mots clés: Huiles essentielles, effet fumigène,insecticides, valorisation, DL50



1. Introduction

Les pertes annuelles causées aux denrées durant leur stockage sont estimées à 100 millions de tonnes dont 13 millions sont provoqués par les insectes. Dans les pays développés, ces pertes avoisinent les 3 %, alors qu'en Afrique elles atteignent les 30 % (Silvy 1992).

Face à la menace des insectes, les agriculteurs ont fait recours aux produits chimiques de synthèse qui semblent être le moyen le plus efficace contre ces derniers (Haubruge et al 1988 ; Relinger et al 1988). L'utilisation des insecticides s'est répercutée négativement par l'apparition des phénomènes de résistance chez les insectes et la destruction de la faune auxiliaire utile. Cette utilisation abusive a induit aussi des problèmes de toxicité provoqués par les résidus (Isman 2005).

A cet effet, les recherches se sont orientées de plus en plus vers les substances naturelles issues des plantes pour la mise au point de nouvelles molécules bio-insecticide (Kim et al. 2003). Parmi ces produits potentiellement utiles les huiles essentielles (HE) qui constituent souvent la fraction bioactive extraite des plantes (Shaaya et al. 1997) et qui détiennent actuellement une place importante dans les systèmes de lutte (Lahlou 2004).

Le présent travail a pour objectif principal de valoriser l'importante masse des déchets végétaux de fenouil doux, constituée par la partie aérienne (tige et feuilles), dans la production des huiles essentielles et tester leur activité biologique en tant que bioinsecticide contre certains ravageurs des denrées stockées.

2. Matériel et Méthodes

2.1. Extraction des huiles essentielles

L'extraction des huiles essentielles à partir de la partie aérienne de fenouil a été réalisée au niveau du Laboratoire du Centre Régionale des Recherches Agricoles à Sidi Bouzid (CRRA). Ceci a été effectué moyennant un dispositif d'hydrodistillation de type Clevenger. Pour chaque essai, un échantillon de 150 g de la plante préalablement découpée en petits morceaux a été introduit dans un ballon en verre de volume de 1 litre sur les quels 600 ml d'eau ont été versés. L'ensemble est porté à ébullition pendant une durée variant de 30 à 50 minutes ; temps nécessaire pour l'extraction de la quantité de l'huile essentielle contenue dans le végétal.

2.2. Calcul du rendement en huile essentielle

Après chaque essai d'extraction, les huiles essentielles ont été récupérées dans un tube Eppendorf. La masse de l'huile a été pesée à l'aide d'une balance de précision. Le rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue et la masse végétale initialement utilisée. Il est déterminé par la formule suivante :

$$R = \frac{M_{HE}}{M_{mv}} \times 100$$

Avec : R : Rendement en huiles essentielles exprimé en % ; M_{HE} : Masse de l'huile extraite en gramme ; M_{mv} : Masse du matériel végétal en gramme.

2.3. Le matériel animal

Le matériel biologique utilisé lors des essais est constitué par des adultes, larves et nymphes de deux espèces de Coléoptères nuisibles aux denrées stockées ; *Tribolium castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae) et *Trogoderma granarium* (Coleoptera : Dermestidae). Ce matériel biologique est issu à partir d'un élevage réalisé au CRRA à Sidi Bouzid. Les insectes sont élevés séparément dans des boîtes en verre et en plastique sur des graines de blé ou d'orge sous des conditions contrôlées avec une température de 25°C, une humidité relative de 40% et une obscurité totale.

2.4. Les essais biologiques

2.4.1. Activité fumigène

L'activité fumigène a été évalué soit sur des adultes de *T. castaneum* et *T. granarium* soit sur des larves et des nymphes de *T. granarium*. En effet, des disques de papier filtre (Whatman n°1) de 3 cm de diamètre ont été imprégnés avec des huiles essentielles pures à tester avec des volumes de 5, 10, 15 et 20 microlitres. Dans des crachoirs de 70 ml de volume, soit 10 adultes ou 5 larves du même stade de l'espèce à étudier ont été placés. Les couvercles des crachoirs sont ensuite resserrés hermétiquement marquant ainsi le temps de démarrage de l'expérience.

Durant ces essais, l'effet fumigène de trois solutions a été testé: pour le premier on utilise uniquement des doses des huiles essentielles pures, pour le deuxième on utilise des volumes dilués dans l'éthanol avec les pourcentages 25, 50 et 75 % et pour le dernier on applique des doses d'éthanol absolu. Les différents essais ont été réalisés en suivant le même principe précédemment décrit. Les mêmes volumes (5, 10, 15 et 20 microlitres) ont été maintenus pour tous les essais avec 3 répétitions pour chaque dose en plus de trois répétitions pour un essai témoin.

L'évaluation de la mortalité a été effectuée par dénombrement des insectes morts durant les 24 heures à partir du démarrage de l'essai. Tout insecte est considéré comme mort lorsqu'il ne manifeste aucun mouvement de ces antennes.

La mortalité est calculée en utilisant la formule d'Abbott (1925) :

$$Mc = \frac{M - Mt}{100 - Mt} \times 100$$

Avec : Mc: mortalité corrigée en pourcentage ; M : mortalité dans la population traitée ; Mt : mortalité dans la population témoin.

Les doses létales DL₅₀ et DL₉₀ qui représentent les quantités induisant, respectivement, la mort de 50 et 90% des individus testés du même lot pour un temps d'exposition bien déterminé, ainsi que les temps létaux TL₅₀ et TL₉₀ qui correspondent aux durées d'exposition nécessaires pour entraîner la mortalité de, respectivement, 50 et 90% des insectes traités pour une dose bien déterminée ont été calculés par la méthode des analyses de Probits.

2.4.2. Test de contact

Dans ce test de très faibles doses sont appliquées directement sur l'insecte soit par application dorsale partielle uniquement sur les élytres des adultes et l'extrémité abdominale des larves soit par application totale pour les deux stades. Le principe consiste à faire repartir d'une façon égale et homogène un volume de 2 µl (correspond au volume minimum prélevé par la micropipette) sur 10 adultes ou sur 5 larves de *T. granarium* en présence et absence d'alimentation. Ce test a été réalisé en utilisant différentes solutions qui sont représentés généralement par : huile essentielle pure, l'éthanol absolu et des dilutions de l'huile essentielle dans l'éthanol avec les pourcentages suivants ; 25 %, 50% et 75 %.

Les tests réalisés par ces solutions ont pour but de comparer l'effet de l'huile essentielle pure avec l'éthanol absolu et les différentes dilutions, tout en évaluant l'effet de l'addition et de l'interaction de ces deux produits sur la mortalité de l'insecte étudié.

2.5. Analyses statistiques

Les analyses statistiques sont réalisées en utilisant le logiciel SPSS 16. Les différents paramètres étudiés pour l'activité insecticide des huiles essentielles sont soumis à un calcul de la moyenne ± écart type. Pour le test de fumigation, l'analyse de la variance (ANOVA) à un ou deux critères de classification est appliquée aux données. Dans le cas où les différences s'avèrent significatives un test complémentaire de PPDS (Plus Petite Différence Significative) au seuil de 5 % est appliqué dans le but de comparer les moyennes et déterminer les groupes homogènes.

L'analyse des Probits décrite par Finney (1971) est conduite pour déterminer les doses létales (DL 50 et 90) et les temps létaux (TL 50 et 90) pour chaque huile à un seuil de 5%.

3. Résultats et discussion

3.1. Calcul de rendement

L'huile essentielle de *F. vulgare* var. *dulce* extraite de la partie aérienne de la plante à l'état frais est incolore alors qu'elle est de couleur jaune pour celle obtenue de la même partie séchée. Elle est caractérisée par une odeur aromatique bien spécifique et une densité égale à 0.94%.

La moyenne des rendements obtenue suite à divers essais d'extractions et indépendamment de la période de récolte est de 0.026 ± 0.012 %. L'examen de la valeur de l'écart-type montre qu'elle est élevée indiquant ainsi l'existence d'une importante variabilité au niveau des valeurs enregistrées. Par conséquent, la révision des valeurs brutes montre l'existence de deux groupes homogènes des rendements répartis entre les mois de mars et avril (Figure 1).

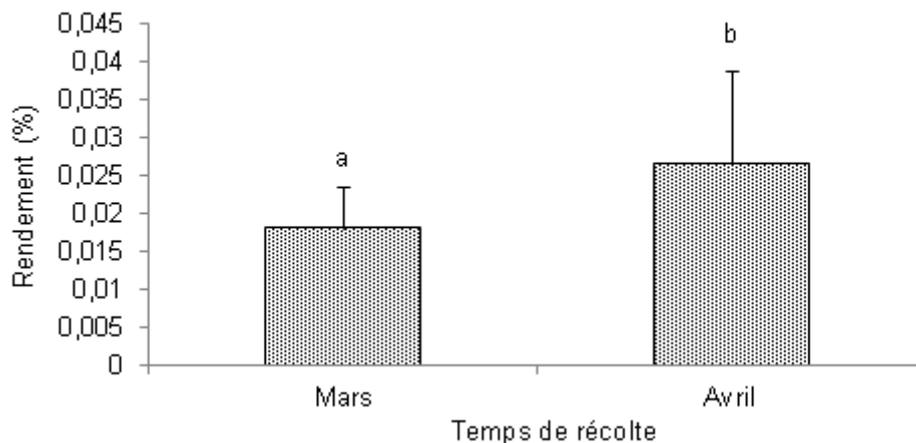


Figure 1. Rendement(%) de *F. vulgare* en fonction du mois de récolte

L'analyse de l'histogramme nous montre que les rendements moyens sont compris entre 0.018 ± 0.005 et $0,038 \pm 0,009\%$ respectivement pour les mois de mars et avril. Cette différence est en relation directe avec le temps d'apparition de la cire qui constitue le signal d'achèvement de l'extraction passant ainsi de 30 à 50 minutes, respectivement, pour le mois de mars et avril. Ce changement peut être attribué à la variation et à l'amélioration des conditions climatiques qui peuvent influencer le processus de synthèse de la cire. Le mois de récolte s'avère être un facteur influençant d'une part le temps d'apparition de la cire et d'autre part le rendement en huile essentielle de cette espèce.

Le matériel végétal en cours d'étude présente un rendement en huiles essentielles très faible. Cette faible teneur serait probablement due à l'âge de la plante, à la période et à l'endroit de récolte sans négliger la nature même de ces plantes aromatiques.

Dans ce même contexte, Lazouni et al. (2007) ont prouvé que le moment de la récolte affecte le rendement de la plante en indiquant des rendements de 0.98, 1.53, 1.82 et 2.15%, respectivement pour les mois de septembre, octobre, novembre et Décembre. Nos rendements sont aussi faibles en comparaison avec ceux obtenus par Souguir (2012) ayant travaillé sur les fleurs fraîches, 1.02%, et les graines sèches 2.78 %, de la même espèce en Tunisie. Quant à Ouis (2015) le rendement enregistré à partir des graines de fenouil est égal à 1%. Ceci nous permet de conclure que la plupart de l'huile essentielle de fenouil est localisé dans les fleurs et les graines.

Les rendements enregistrés peuvent être considérés comme faibles comparativement à ceux obtenu par Ouis (2015) pour d'autres espèces de la même famille comme la partie aérienne fraîche du persil où le rendement est de 0.14% alors qu'il est de 0.48% pour la partie aérienne fraîche de coriandre. Pour l'extraction de la partie aérienne sèche, nous avons obtenu un rendement moyen égal à 0.1 % pour une durée d'extraction égale à 50 min. Ce rendement s'avère plus important par rapport à celui obtenu à partir de la même matière à l'état frais qui présente un taux d'humidité aux alentours de 88.38 %.

Enfin, on peut conclure que les fluctuations au niveau des rendements sont liées principalement à un ensemble des facteurs tels que l'origine géographique, l'organe utilisé, la nature de la matière végétale (frais ou sec) et la période de récolte.

3.2. Les essais biologiques

3.2.1. Test de fumigation

3.2.1.1. Effet fumigène de l'huile essentielle pure

Les résultats du test fumigène montrent que l'huile essentielle de fenouil présente un effet toxique par inhalation vis-à-vis des adultes de *T. castaneum* et *T. granarium* alors, que cette action est absente sur les larves de *T. granarium*.

Les Figures 2 et 3 montrent les taux de mortalité de *T. castaneum* et *T. granarium* variables en fonction des concentrations des huiles essentielles testées. Cette activité insecticide se manifeste dès la plus petite dose appliquée (5 µl) avec des pourcentages de 83.33% et 53.33%, respectivement, pour *T. castaneum* rouge de la farine et *T. granarium* après 24 heures d'exposition.

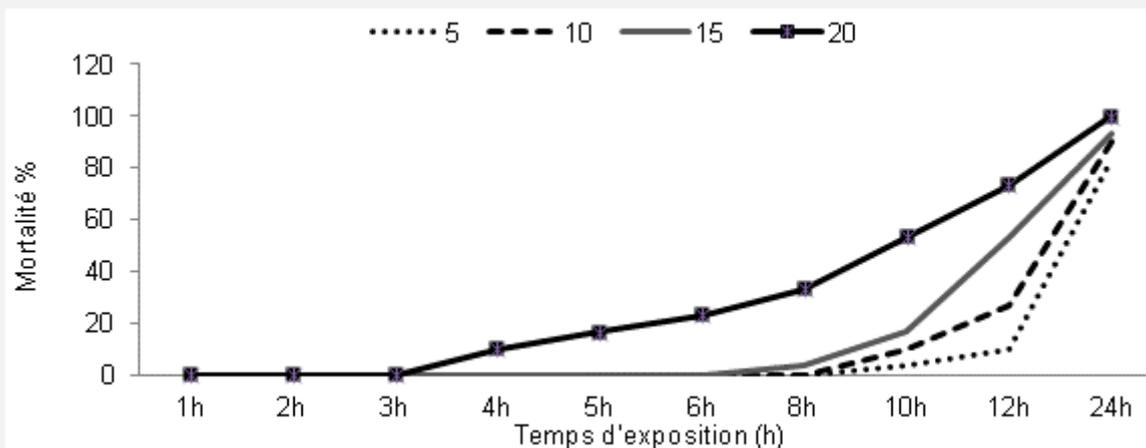


Figure 2. Evolution du taux de mortalité (%) cumulés des adultes de *T. castaneum* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle.

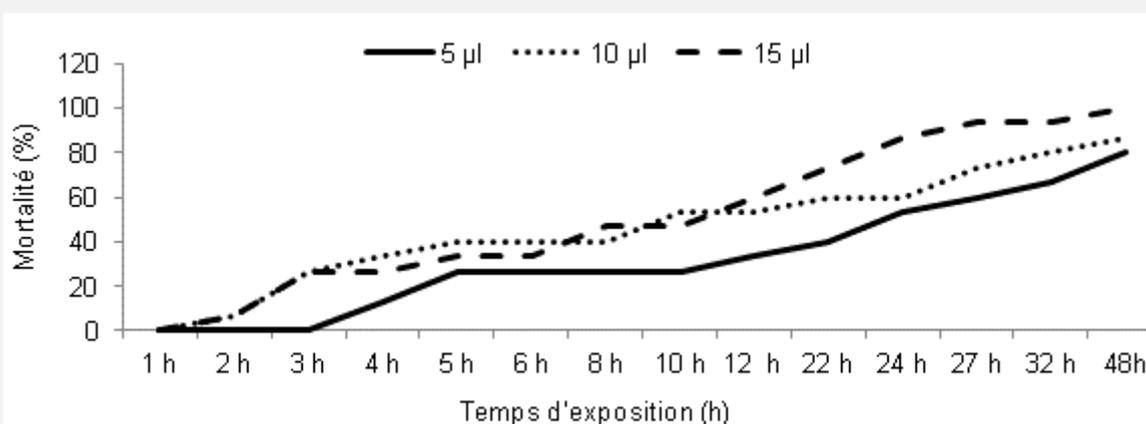


Figure 3. Evolution du taux de mortalité (%) cumulés des adultes de *T. granarium* en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle.

Les deux graphiques montrent que les taux de mortalité croissent de façon proportionnelle et considérable avec la dose appliquée et le temps d'exposition. Pour les essais témoins, aucune mortalité n'a été enregistrée tout au long de la durée de l'expérience.

Pour l'espèce *T. castaneum*, les premières mortalités ont été enregistrées après 4 h pour la plus forte dose de 20 µl et 10 h pour la plus faible dose (5 µl). Cependant les adultes de *T. granarium* ont manifesté leurs premières mortalités après des temps d'exposition compris entre 4 et 2 h, respectivement, pour les deux doses extrêmes (5 et 15 µl). Ces premiers résultats nous permettent de déduire qu'à priori durant les 12 premières heures les adultes de *T. granarium* se montrent plus sensibles à l'huile essentielle que les adultes de *T. castaneum*.

Il est à noter qu'après 24 h d'exposition à l'huile essentielle de fenouil, le taux de mortalité enregistré pour *T. castaneum* a atteint 100% uniquement pour la forte dose 20 µl, alors que pour le reste des doses ils ont varié entre 93.33 et 83.33%, respectivement, pour 15 et 5 µl. En contrepartie, *T. granarium* a manifesté des mortalités moindres allant de 53.33% pour la plus faible dose (5 µl) à 86.667% pour la plus forte dose (15 µl). A la fin de l'expérience et après 48 h d'exposition, une efficacité totale de l'huile essentielle a été observée pour la dose 15 µl, alors qu'elle est de 86.66% pour 10µl et 80% pour 5µl.

Il est aussi très important de signaler que le suivi des essais de *T. granarium* nous a permis de conclure que les mâles de cette espèce sont plus sensibles que les femelles à l'action de l'huile étudiée. Ceci est approuvé par l'hétérogénéité du matériel animal utilisé au cours de l'expérimentation qui montre que les femelles périssent en dernier lieu.

L'analyse de ces résultats, nous permet de conclure que les adultes de *T. granarium* s'avèrent plus vulnérable à l'huile essentielle de fenouil que *T. castaneum* durant les 12 premières heures ou on a enregistré la mortalité de tous les mâles, alors qu'à partir de 24 h les adultes de *T. castaneum* seront

plus sensibles pour les différentes doses appliquées. Ceci nous permet de déduire que pour les adultes de *T. castaneum* la mortalité est indifférente du sexe ce qui n'est pas le cas pour *T. granarium*. L'analyse de la variance pour *T. castaneum* après 12 h d'exposition montre une différence significative entre les différentes doses ($df = 3$, $F = 5.910$, $sig. = 0.02 < 0.05$). Le recours au test de PPDS nous permet de classer ces doses en 4 groupes homogènes qui sont comme suit : (D1, D2), (D2, D1, D3), (D3, D2, D4) et (D4, D3). Cependant après 24 h, l'analyse de la variance montre l'absence de différence significative entre les différentes doses.

3.3. Détermination de dose létale (DL50 et DL90) et des temps létaux (TL50 et TL 90)

3.3.1. Calcul de DL50 et DL90

Le calcul des doses létales montre que l'huile essentielle de *F. vulgare* var. *dulcea* a une efficacité qui dépend de l'espèce d'insecte étudiée. L'analyse des données montre une évolution décroissante des DL₅₀ et DL₉₀ en fonction des temps, soit des doses létales DL₅₀ comprises entre 20.199 et 4.366 μl pour *T. castaneum* à 10 et 24 h et entre 7,628 et 4,416 μl pour *T. granarium* à 24 et 48 h. Alors que pour les DL₉₀ cette huile avance des moyennes pour les mêmes temps d'exposition comprises entre 29,67 et 10.14 μl pour *T. castaneum* et entre 15.221 et 8.694 μl pour *T. granarium*. Ces résultats révèlent que *T. castaneum* est plus sensible à l'huile essentielle de fenouil que *T. granarium*.

Le recours à l'analyse statistique obtenu par la méthode des Probits réalisé sur les mortalités corrigées pour calculer les DL₅₀ et DL₉₀ relatifs à 24 h nous permet d'obtenir les résultats illustrés sur la Figure 4.

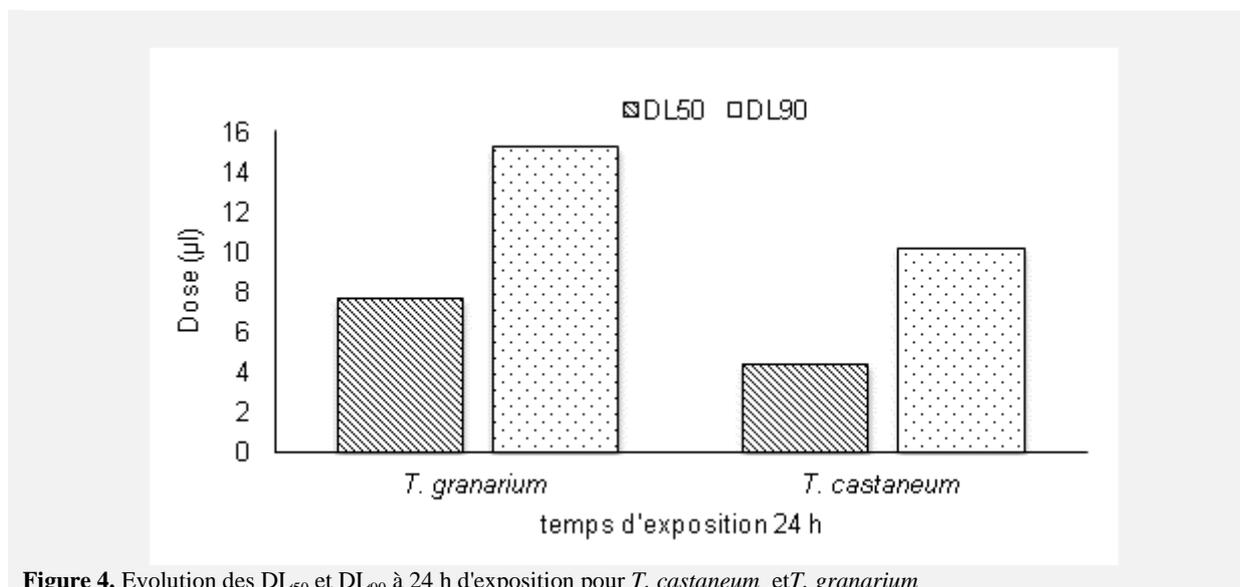


Figure 4. Evolution des DL₅₀ et DL₉₀ à 24 h d'exposition pour *T. castaneum* et *T. granarium*

D'après les résultats illustrés sur ce graphique, il est possible de constater que pour tuer 50% et 90% de la population de *T. granarium* au bout de 24 h il faut appliquer des doses respectivement égales à 7.628 μl (108.971 $\mu\text{l}/\text{air}$) et 15,221 μl (217.442 $\mu\text{l}/\text{air}$). Cependant, pour *T. castaneum* on doit appliquer uniquement 4.366 (62.37 $\mu\text{l}/\text{air}$) et 10.141 μl (144.871 $\mu\text{l}/\text{air}$) pour avoir, respectivement, 50% et 90% mortalité. Ces résultats nous permettent de conclure que l'huile essentielle de fenouil est plus efficace contre *T. castaneum* que *T. granarium* d'où on peut dire qu'il est plus sensible vis-à-vis de cette huile essentielle.

3.3.2. Calcul du TL50 et TL90

Les résultats obtenus par la méthode des analyses des Probits, montre que le temps léthal diminue lorsque la dose appliquée augmente. En effet, les temps létaux calculés pour chaque espèce pour une dose égale à 10 μl ont été cumulés dans la Figure 5 :

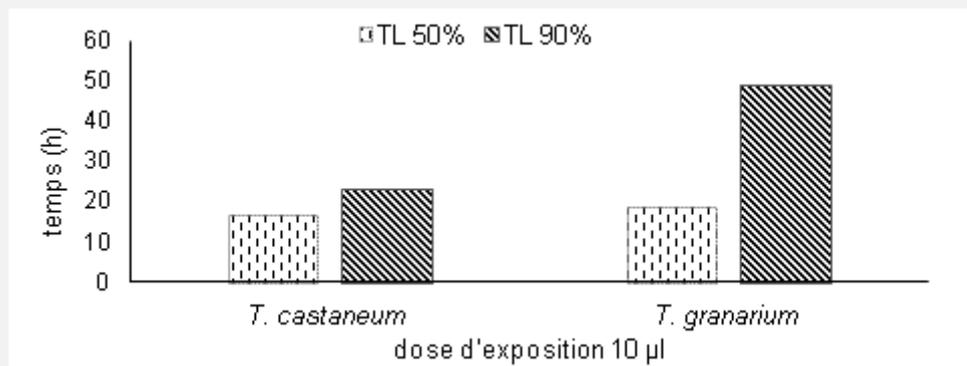


Figure 5. Evolution des TL50 et TL90 en fonction de la dose 10 µl sur *T. granarium* et *T. castaneum* (A).

L'analyse de la figure ci-dessus nous permet de ressortir que les temps létaux enregistrés pour 10 µl d'exposition pour *T. castaneum* sont inférieurs à ceux enregistrés pour *T. granarium*. En effet, il faut 16.7 h pour tuer 50% de *T. castaneum* alors que le TL50 est de 18.78 h pour *T. granarium*. Les TL90 calculés pour *T. castaneum* et *T. granarium* sont 23.429 h et 49.372 h, respectivement. Ces résultats confirment aussi que *T. castaneum* s'avère plus sensible à l'huile essentielle de *F. vulgare* que *T. granarium*.

3.5. Effet fumigène de l'huile essentielle pure sur les larves et les nymphes de *T. granarium*

3.5.1. En présence d'alimentation

Les résultats de cette expérience montrent que l'HE pure de fenouil doux ne montre aucune activité insecticide contre les deux stades larvaire et nymphal durant toute la période de leur exposition qui est de 21 jours. Au contraire, on a observé une continuation normale du cycle de la part des deux stades qui se termine par l'exuviation des larves en nymphes et l'émergence des adultes.

3.5.2. En absence d'alimentation

Ce test a été réalisé sur les larves. Dans ce cas, l'huile essentielle n'a présenté aucun effet sur ces dernières. Toutefois, il est important de signaler la présence du phénomène de cannibalisme chez cette espèce.

Plusieurs études ont confirmé l'effet insecticide des huiles essentielles de diverses plantes contre les ravageurs des denrées entreposés. Dans ce contexte, Souguir (2012) a signalé que les huiles essentielles des fleurs et des graines de *F. vulgare* représentent un faible effet fumigène contre *T. castaneum*. En effet des mortalités de 74% et 58% ont été enregistrés respectivement pour les huiles des fleurs et des graines après 24 h d'exposition à une dose de 400 µl/l d'air.

De point de vue dose létale, le même auteur a montré que pour tuer 50% de la population des adultes de *T. castaneum*, il faut appliquer une dose DL50 de l'ordre de 286.915 µl/l d'air et de 315.586 µl/l d'air, respectivement, des huiles essentielles des fleurs et des graines. Toutefois, le TL50 calculé pour la dose de 200 µl/l d'air est égal à 27.28 h en appliquant l'huile extraite des fleurs et à 25.23 h pour celle des graines.

En outre, Ncibi et al. (2012) ont montré que *T. castaneum* semble plus tolérant à différentes HE à l'exception de la Rue et la Menthe pouliot avec, respectivement, des CL50 de 21.03 et 49.84 µl/l d'air. En comparant nos résultats avec ceux obtenus par ces derniers on constate que notre huile s'avère plus toxique que l'huile essentielle des fleurs et des graines de fenouil.

D'autres études ont signalé la sensibilité de *T. granarium* vis-à-vis de plusieurs huiles essentielles. En effet, Hajer (2012) montre qu'après un temps d'exposition de 24 h à l'huile essentielle d'*Eugenia caryophyllata*, des mortalités de 86 et 90% ont été enregistrés respectivement pour des concentrations de 50 et 100 µl/l d'air. En comparant, ces résultats avec les notre on remarque que l'huile essentielle de fenouil est moins toxique par effet fumigène contre *T. granarium* que celle de girofle.

Pour les larves plusieurs études ont montrés leur tolérance par rapport aux adultes à l'action des HE. En effet, pour les larves de *T. granarium*, Souguir (2012) a montré que ces dernières nécessitent de fortes doses pour engendrer des mortalités supérieures à 50%. En effet, il faut appliquer des doses de 1600 µl/l d'air pour tuer 72.5 % et 65 % des larves au bout de 24 h, respectivement, pour les graines et les fleurs de fenouil. Pour ce même temps, cet auteur a indiqué que la dose 400 µl/l d'air ne provoque que 5% des mortalités pour les fleurs et 7.5 % pour les graines. Aussi Tayoub (2012) a confirmé les

résultats de Souguir (2012) en indiquant qu'il faut appliquer aux larves de *T. granarium* une DL50 quintuple de celle appliquée pour les adultes pour les huiles essentielles de *Myrtuscommunis*. Tous ces résultats montrent que l'effet insecticide par fumigation des huiles essentielles dépend du matériel végétal utilisé au sein de la même espèce végétale et d'une espèce à une autre, ainsi que de l'espèce d'insecte étudiée et de son stade de développement.

3.6. Effet fumigène des dilutions sur les adultes de *T. castaneum*

Les résultats obtenus du test fumigène pour l'huile essentielle pure, montrent une activité insecticide vis-à-vis des adultes de *T. castaneum*.

3.6.1. Essai 75%

Les premières mortalités ont été observées après 4, 5, 6 et 8 h, respectivement, pour les doses 5, 10, 15 et 20 μl (Figure 6). Après 24 h d'exposition à différentes doses de l'huile essentielle, les mortalités enregistrées nous indiquent des taux allant de 73.33% pour la plus faible dose (5 μl) à 100% pour les 3 autres doses (10, 15, et 20 μl).

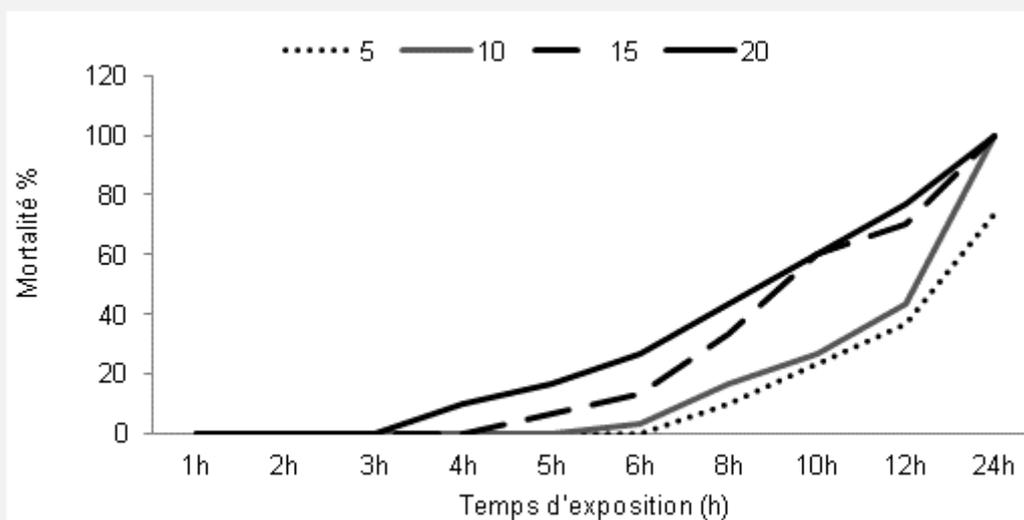


Figure 6. Evolution du taux de mortalité des adultes de *T. castaneum* (A) en fonction du temps et de la dose de l'huile essentielle pour la dilution 75%.

En comparant ces résultats avec ceux obtenus pour l'huile essentielle pure sur *T. castaneum* on remarque une efficacité plus importante pour la dilution qui est constitué par 75% d'huile essentielle pure et 25% éthanol. Cette amélioration au niveau de l'effet insecticide peut être proportionnelle à l'effet exercé par l'éthanol absolu. En effet, les premières mortalités pour l'éthanol sont apparues après 3 h d'exposition des insectes à la faible dose 5 μl et 1 h d'exposition à la forte dose 20 μl . Cependant, la 100 % mortalité a été observée uniquement pour les deux doses 16 et 32 μl au bout de 5 et 4 h après le début de l'essai. Cette rapidité d'action peut être due à un effet de choc de ces fortes doses d'éthanol sur l'insecte. Au-delà de 12 heures on remarque un ralentissement au niveau de l'effet de ce dernier pour les faibles doses qui se manifeste par des taux allant de 63.33% pour 5 μl à 86.66 % pour 10 μl . Ceci nous permet de conclure que l'action de l'éthanol est rapide dans le temps et elle est proportionnelle au volume utilisé et à sa volatilité. En conclusion, d'après ces résultats l'addition de l'éthanol avec l'huile essentielle permet d'améliorer son potentiel fumigène.

L'analyse de la variance pour l'essai 75% après 24 h d'exposition montre une différence significative ($df=3$, $F=5.33$, $sig=00.75$) entre ces doses. Ceci est confirmé par le recours au test de PPDS qui permet de les classer en 2 groupes homogènes (D1) et (D2, D3, D4).

3.6.2. Essai 25%

Les résultats de cet essai au cours duquel on a utilisé 75% éthanol et 25 % HE sont illustrés sur la Figure 7.

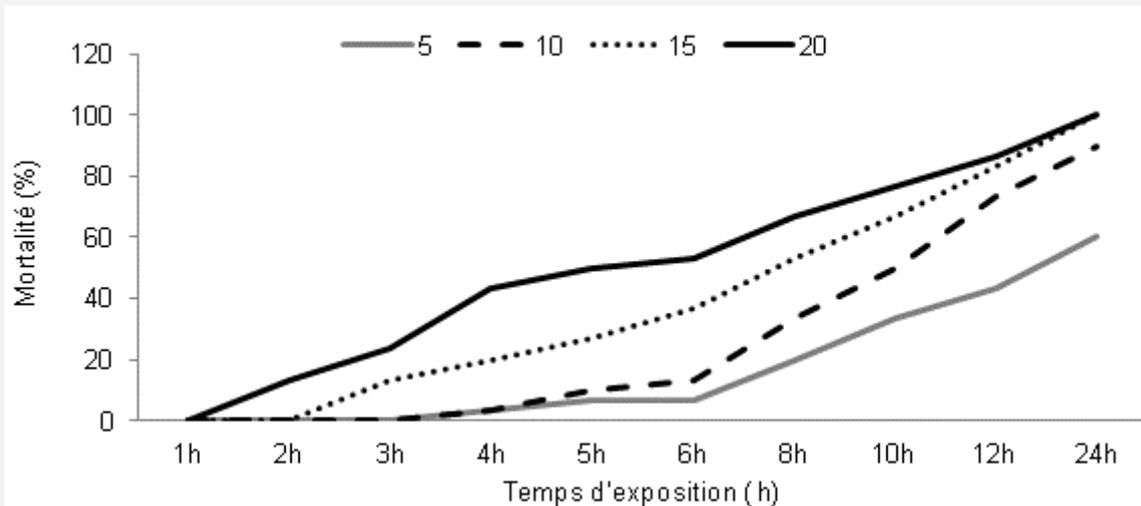


Figure 7. Evolution du taux de mortalité des adultes de *T. castaneum* en fonction du temps et de la dose de l'HE pour la dilution 25%.

D'après ce graphique on remarque un effet insecticide plus rapide sur les adultes de *T. castaneum* exprimé par une apparition plus rapide des premières mortalités après 2, 3 et 4 h ; respectivement, pour les doses 20, 15, et (10 et 5 µl). En comparant ces résultats avec ceux obtenus pour l'essai 75% on peut conclure que l'essai 25% s'avère plus toxique.

L'interprétation des résultats après 24 h d'exposition montre des taux de mortalité égales à 100 % pour les 2 fortes doses 15 et 20 µl et des taux compris entre 60 et 90%, respectivement, pour les faibles doses 5 et 10 µl. Les résultats observés pour les faibles doses sont inférieurs à ceux obtenus par l'essai 75%. Cela nous permet de déduire à partir de ces résultats et ceux qui précèdent que l'effet de l'huile essentielle a été renforcée par l'action de l'éthanol pendant les 12 premières heures, au-delà de cette durée l'effet de l'éthanol sera atténué en faveur de l'huile essentielle diluée. Donc, d'après ces résultats on peut poser l'hypothèse suivante « l'éthanol est plus volatil que l'HE de fenouil et que son action sur les insectes traités se manifestent en premier lieu ».

L'analyse de la variance pour 24 h montre une différence significative ($df=3$, $F=5.375$, $sig=0.025$) entre les doses utilisées. Le recours au test de PPDS permet de classer ces doses en 2 groupes homogènes (D1) et (D2, D3, D4).

Finalement en se basant sur les résultats du test fumigène observé sur *T. castaneum*, on peut classer ces différents essais dans un ordre croissant de leur efficacité en fonction des temps 12 h et 24 h et des temps d'apparition de la première mortalité.

- Après un temps d'exposition de 12 h on a trouvé le classement suivant : éthanol 25%, 75% et finalement l'huile essentielle pure.
- Après 24 h d'exposition on a trouvé le classement suivant : 75%, huile essentielle pure, 25% puis l'éthanol.
- En fonction des temps d'apparition des mortalités on a trouvé le classement suivant : éthanol, 25%, 75% et finalement l'huile essentielle pure.

3.7. Calcul des doses létales et des temps létaux pour *T. castaneum* soumis à l'action de différentes solutions testées

3.7.1. Calcul du DL₅₀ et DL₉₀

En ce qui concerne cette partie le recours à l'analyse statistique par la méthode de Probit a été réalisé sur les mortalités corrigées enregistrées 12 heures après le traitement.

Les résultats relatifs à la détermination des doses létales DL₅₀ et DL₉₀ calculées pour les adultes de *T. castaneum* soumis à l'action de différents solution testés sont portés par la figure 8.

L'analyse du graphique montre que la dilution 25% se distingue par la plus faible DL₅₀ et DL₉₀ avec une dose de 8.238 µl équivalent à 117.685 µl /air pour tuer 50% des insectes et une dose de 17.636 µl équivalent à 251.942 µl/l air pour tuer 90% des individus. Par contre, pour la solution 75% il faut en appliquer des doses égales à 11.497 (164.242 µl/l air) et 22.888 µl (326.971 µl/l air). Les résultats

obtenus montrent que l'huile essentielle avait la plus faible efficacité contre *T. castaneum* avec des DL₅₀ et DL₉₀ respectives de 14.849 µl (212.128 µl/l air) et 24.034 µl (343.342 µl/l air) µl/l air. Ces résultats confirment encore que l'addition de l'éthanol à l'huile essentielle a renforcé l'activité insecticide de l'huile essentielle.

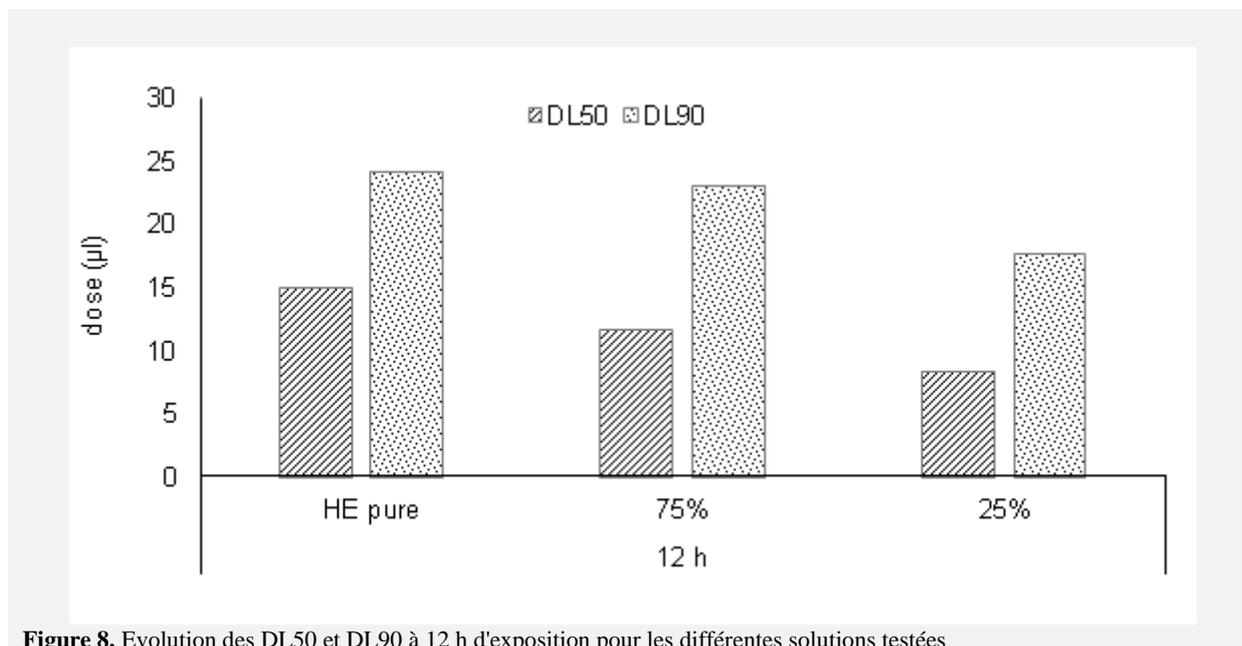


Figure 8. Evolution des DL50 et DL90 à 12 h d'exposition pour les différentes solutions testées

3.7.2. Calcul du TL50 et TL 90

L'évaluation des effets de la variabilité de solution utilisé par fumigation sur l'activité insecticide contre les adultes de *T. castaneum* est exprimée par des temps létaux TL50 et TL90 pour la dose 15 µl équivalent à 214.285/ l d'air. Les résultats sont représentés dans la Figure 9 ci-dessous.

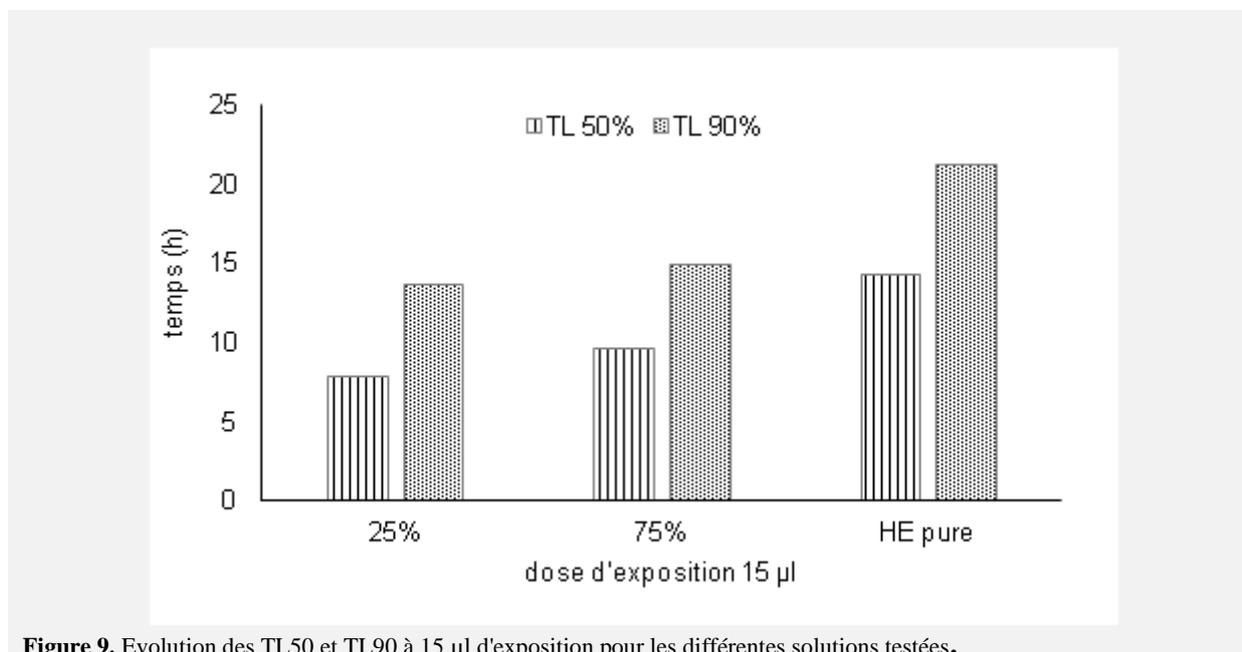


Figure 9. Evolution des TL50 et TL90 à 15 µl d'exposition pour les différentes solutions testées.

L'interprétation de la figure montre que les plus faibles temps nécessaires pour entrainer la mortalité de 50 et 90 % des adultes de *T. castaneum* sont observés pour la dilution 25% suivi par 75% alors que pour l'huile essentielle pure on a enregistré les temps les plus longs. En effet, le TL50 enregistré pour la dilution 25 % est de 7.765 h alors que pour avoir le même pourcentage de mortalité on doit appliquer la dose utilisée durant 9.507 et 14.276 h, respectivement, pour la solution 75 % et l'huile essentielle pure. En outre, le temps nécessaire pour tuer 90% de population était de 13.582 h, 14.798 et

21.2 h, respectivement, pour la solution 25%, 75% et l'huile essentielle pure. Ces résultats confirment les résultats précédents.

4. Conclusion

Parmi les ravageurs redoutables des denrées stockés, on compte deux insectes appartenant à l'ordre des coléoptères qui sont *Tribolium castaneum* Herbst (1797) et *Trogoderma granarium* Everts (1898). C'est ainsi que ce travail a été réalisé afin d'évaluer l'effet insecticide de l'huile essentielle de la plante *Foeniculum vulgare* var. dulce sur ces deux ravageurs. Tout d'abord, on a admis que le rendement de fenouil en huile essentielle est très faible de l'ordre de 0.026 % et qui peut être le résultat l'origine géographique, l'organe utilisé, la nature de la matière végétale (frais ou sec) et la période de récolte. Tandis que l'effet fumigène de l'huile essentielle pure contre les adultes des deux insectes étudiés a montré un effet toxique plus intéressant contre *T. castaneum* avec une DL50 = 62.37 µl /air et TL50 = 16.7 h à 10 µl (142.857 µl /air) comparé à ce qui est révélé *T. granarium* avec une DL50 = 108.971 µl /air et TL50 = 18.78 h à 10 µl. Néanmoins, cette huile essentielle a été sans effet sur les larves qui ont montré une grande résistance avec zéro mortalité durant toute l'expérimentation. Par la suite, les essais de l'effet fumigène des dilutions ont montré une excellente efficacité à l'égard les adultes de *T. castaneum* semblable à celui de l'huile essentielle pure dont la meilleure efficacité a été enregistrée pour la dilution 25 % avec DL 50 = 117.685 µl /air et TL50 = 7.765 h à 15 µl. Pour ce qui est de la dilution 75%, le taux de mortalité n'atteint que 50% avec la dose 164.242 µl/l air et après 9.507 h d'exposition à 15 µl. par conséquent, l'effet insecticide d'une huile essentielle comme un n'est que le résultat de la nature de la plante à tester et la nature de l'insecte et de son stade de développement.

5. Références

- Abbot WS (1925)** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18: 265-267.
- Haubruge E, Shiffers B, Gabriel E, Verstraeten C (1988)** Etude de la relation dose-efficacité de six insecticides à l'égard de *Sitophilus granarius* L. *S. oryzae*, *S. zeamais* Mots (Col., Curculionidae). *Medelingen Faculteit Landbouwetenschappen Rijksuniversiteit Gent* 53/2b. 719-726.
- Isman MB (2005)** Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annu. Rev. Entomol.* 51: 45-66.
- Kim D, Chun O, Kim Y, Moon H, Lee C (2003)** Quantification of phenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.* 51: 6509-6515.
- Lazouni HA, Benmansour A, Taleb-Bendiab SA, Chabane S (2007)** Composition des constituants des huiles essentielles et valeurs nutritives du *Foeniculum vulgare* Mill. *J. Sci. Technol.* 25: 7-12.
- Lahlou M (2004)** Methods to study the phytochemistry and bioactivity of essential oils. *Phytotherapy research* 18 (6) : 435-448.
- Ouis N (2015)** Etude chimique et biologique des huiles essentielles de coriandre, de fenouil et de persil. Thèse de doctorat. Université d'Oran 1. Faculté des sciences exactes et appliquées. 239 p.
- Relinger LM, Zettler JL, Davis R, Simonaitis RA (1988)** Evaluation of pirimiphosmethyl as a protectant for export grain. *Journal of Economic Entomology* 81: 718-721.
- Shayya E, Kostjukovski M, Eilberg J, Sukprakarn C (1997)** Plant oils as fumigants and contact insecticides for the control of stored-product insects. *Journal of Stored Products Research* 33: 7-15.
- Silvy C (1992)** Quantifications.. le phytosanitaire. *Courrier de la Cellule Environnement de l'INRA* 18, 29-44.
- Souguir S (2012)** Etude des activités bio-insecticide des huiles essentielles de marjolaine (*Origanum majorana*) et de fenouil (*Foeniculum vulgare*). Ecole Supérieure d'Agriculture de Mognane. Projet de fin d'étude, 48 p.