

Bioactivité et physico-chimie de la nanoémulsion d'huile essentielle d'ail dans la tomate

Michele Ricupero¹, Antonio Biondi¹, Fabrizio Cincotta², Concetta Conduro², Vincenzo Palmeri³, Antonella Verzera², Lucia Zappalà^{1,*}, and Orlando Campolo³

¹ University of Catania, Department of Agriculture, Food and Environment, via Santa Sofia 100, 95123, Catania, Italy

² University of Messina, Department of Veterinary Science, Polo Universitario SS Annunziata 98168, Messina, Italy

³ University of Reggio Calabria, Dipartimento di AGRARIA, Loc. Feo di Vito, 89122, Reggio Calabria, Italy

* Corresponding author: lzappala@unict.it

This document is a translated French version of the article (DOI: 10.1127/entomologia/2022/1553). The authors decline all responsibility for any translation errors with respect to the original version.

Ce document est une version traduite de l'article en français (DOI: 10.1127/entomologia/2022/1553). Les auteurs déclinent toute responsabilité pour toute erreur de traduction par rapport à la version originale.

Résumé: La tomate a une importance économique dans le monde entier, mais sa production est menacée par plusieurs facteurs biotiques, y compris l'envahissant ver de la tomate sud-américain *Tuta absoluta*. La lutte contre ce ravageur repose principalement sur des applications répétées d'insecticides synthétiques qui peuvent avoir des effets non ciblés considérables ; par conséquent, de nouvelles approches de lutte durable sont nécessaires. L'activité biocide de l'ail a été reconnue et son utilisation ne devrait présenter aucun risque pour les consommateurs et l'environnement. Cependant, la mise en œuvre pratique des extraits d'ail est entravée par plusieurs inconvénients qui pourraient être surmontés par les nanotechnologies. Nous avons développé et caractérisé une nouvelle nanoémulsion à base d'huile essentielle d'ail (GEO-NE) et des essais en laboratoire ont été menés pour étudier son activité insecticide contre *T. absoluta* impliquant différents stades et voies d'exposition. Les effets secondaires de GEO-NE sur le prédateur miride *Nesidiocoris tenuis* et les plants de tomates ont également été évalués en laboratoire. La nanoformulation avait des dimensions appartenant à l'échelle nanométrique et une bonne stabilité dans le temps. GEO-NE a montré une toxicité significative envers les œufs et les larves de *T. absoluta* et une répulsion pour les femelles qui pondent. Aucun effet léthal sur *N. tenuis* adultes n'a été enregistré mais sa progéniture a été significativement réduite sur les plantes traitées avec GEO-NE. En revanche, le GEO-NE n'a eu aucun effet phytotoxique sur les plants de tomate pulvérisés. Nos résultats suggèrent que GEO-NE peut contrôler avec succès *T. absoluta* et son application mérite d'être considérée comme un outil potentiel pour la lutte intégrée contre les parasites de la tomate.

Mots clés: biopesticide, phytotoxicité, dissuasion de l'oviposition, botanique, nanoinsecticide, sélectivité.

1 Introduction

1 Introduction

L'agriculture intensive est fortement dépendante des pesticides pour la protection des aliments, mais ces substances chimiques ont des impacts négatifs sur la santé humaine, la qualité de l'eau et la biodiversité à l'échelle mondiale (Tang et al. 2021). Pour ces raisons, l'opinion publique et les décideurs politiques encouragent fortement les pratiques durables de lutte contre les ravageurs visant la sécurité alimentaire et la sûreté des aliments (Carvalho 2006). Parmi les insecticides botaniques, les huiles essentielles (EOs) des plantes sont considérées comme des outils de lutte respectueux de l'environnement, principalement en raison de leur biodégradabilité rapide, des faibles risques de phénomènes de résistance et de leur toxicité négligeable envers les organismes non ciblés (Isman 2020). En raison de ces preuves positives, les plantes ont été considérées comme des outils prometteurs pour lutter contre les parasites au cours des deux dernières décennies (Chaieb et al. 2018 ; Pavela & Benelli 2016 ; Galland et al. 2020 ; Pavela et al. 2020 ; Kavallieratos et al. 2021). Malgré la masse de littérature produite, peu d'études corroborent la mise en œuvre pratique des EO, qui est limitée par leurs inconvénients constitutifs, par exemple, la stabilité et les modèles de dégradation, la toxicité changeante envers les organismes cibles et non cibles (Isman 2020 ; Giunti et al. 2022). Néanmoins, les nanotechnologies pourraient aider à surmonter les contraintes intrinsèques souvent associées à l'utilisation des EOs (Athanassiou et al. 2018 ; Campolo et al. 2020a ; Pavela et al. 2021 ; Sciortino et al. 2021). L'ail, *Allium sativum* Linnaeus (Amaryllidaceae), est une culture commerciale largement cultivée dans le monde entier, la Chine étant le plus grand exportateur mondial. Les activités biocides de l'ail ont été démontrées dans des conditions de laboratoire contre différents ravageurs, notamment des insectes, des acariens et des nématodes (par exemple Numa Vergel et al. 2011 ; Palermo et al. 2021). Bien que l'impact non ciblé de l'ail sur les arthropodes utiles soit peu documenté, un récent examen par les pairs sur les pesticides publié par l'Autorité européenne de sécurité des aliments ne reconnaît aucun risque pour les consommateurs dans l'utilisation de l'ail comme produit phytosanitaire (Anastassiadou et al. 2020). La culture de la tomate a une très grande importance sociale et économique dans le monde entier et l'oxyure de la tomate sud-américain, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae), un ravageur invasif d'Amérique du Sud (Guillemaud et al. 2015), a affecté négativement les systèmes de culture de la tomate en Afrique, en Asie et en Europe au cours de la dernière décennie (Biondi et al. 2018). Les insecticides chimiques sont les outils de lutte les plus utilisés contre *T. absoluta*, mais une pléthore d'effets secondaires sur les arthropodes non ciblés sont associés à l'utilisation de ces composés (Desneux et al. 2007 ; Passos et al. 2018 ; Guedes et al. 2019 ; Palma-Onetto et al. 2021). Divers outils de lutte intégrée contre *T. absoluta* ont été développés dans les régions infestées, avec des résultats prometteurs (par exemple, Jaworski et al. 2015 ; Campolo et al. 2017 ; Soares et al. 2019 ; Rostami et al. 2020, Mansour & Biondi 2021), mais les échecs de la lutte par les pesticides et le coût élevé et/ou la fiabilité sous-optimale de divers outils biologiques et biotechniques sont des défis clés pour les producteurs de tomates (Guedes et al. 2019, Wang et al. 2021 ; Desneux et al. 2022). Dans des recherches précédentes, l'utilisation d'insecticides à base d'EO contre *T. absoluta* a été évaluée avec des résultats prometteurs à la fois en laboratoire et en plein champ (Campolo et al. 2017 ; Mansour & Biondi 2021 ; Desneux et al. 2022). De même, l'impact non ciblé des EO sur le prédateur *Nesidiocoris tenuis* (Reuter) (Hemiptera : Miridae) a été récemment étudié (Soares et al. 2019 ; Campolo et al. 2020b). Cependant, la toxicité de l'EO d'ail sur ce système biologique n'a pas été étudiée. Ici, nous avons testé l'EO d'ail comme insecticide contre *T. absoluta* en utilisant différents stades et voies d'exposition. L'œuf était notre premier stade cible car il est considéré comme le stade le moins sensible aux substances chimiques et naturelles (Goudarzi Chegini & Abbasipour 2017 ; Campolo et al. 2017 ; Tomé et al. 2012). La LC50 estimée pour les œufs de *T. absoluta* et la concentration maximale testée ont été évaluées comme larvicide et dissuasive pour l'oviposition. D'autres expériences ont également été menées pour évaluer les effets secondaires de la nanoformulation à base d'EO d'ail sur le modèle biologique susmentionné. Nos

résultats peuvent contribuer à la mise en œuvre de stratégies durables de contrôle de *T. absoluta* dans le système de culture de la tomate.

2 Matériaux et méthodes

2.1 Analyse GC-MS et préparation de la nanoémulsion

L'EO d'*Allium sativum* (ci-après "ail") de qualité pharmaceutique a été achetée par Esperis s.p.a. (Milan, Italie). L'échantillon a été dilué au 1:100 avec du n-hexane et analysé avec un chromatographe en phase gazeuse Shimadzu GC 2010 Plus couplé à un spectromètre de masse triple quadripolaire TQMS 8040 équipé d'une colonne non polaire DB-5ms, 30 m, 0,25 mm de diamètre interne, 0,25 μm d'épaisseur de film (Supelco Sigma-Aldrich, Bellafonte PA, USA). Les conditions suivantes ont été utilisées : température de l'injecteur, 250 °C ; mode d'injection, fractionné ; rapport de fractionnement, 1:100 ; température du four, 40 °C maintenue pendant 2 min, puis augmentée à 110 °C à une vitesse de 4 °C/min et à 240 °C à une vitesse de 3 °C/min et maintenue pendant 3 min ; gaz porteur, hélium à un débit constant de 1 ml/min ; température de la ligne de transfert, 240 °C ; technique d'ionisation ; impact électronique (EI) à 70 eV ; plage d'acquisition, 40 à 400 m/z, vitesse de balayage, 3 balayages/sec.

L'identification des composés volatils a été effectuée selon Cincotta et al. (2021). Les résultats quantitatifs ont été exprimés sous forme de surfaces de pic moyennes de 3 répliques.

La nanoémulsion d'EO d'ail (GEO-NE) a été préparée en utilisant le processus d'auto-émulsification suivi d'une sonication selon la méthodologie décrite par Campolo et al. (2020a). La taille moyenne des gouttelettes et la distribution de taille (indice de polydispersion) ont été mesurées à l'aide d'un analyseur de taille de particules à diffusion dynamique de la lumière (Z-sizer Nano, Malvern Instruments) à 25 °C. En outre, la charge superficielle des particules a été quantifiée sous forme de potentiel zêta (ζ) à l'aide d'un Z-Sizer Nano, (Malvern Instruments) à 25 °C. Les changements de taille des gouttelettes et de ζ ont été mesurés au fil du temps jusqu'à 16 semaines après la préparation de la nano-émulsion.

2.2 Matériel biologique

Les plants de tomates (*Lycopersicon esculentum* Mill., Solanaceae) utilisés à la fois pour l'élevage des insectes et les expériences ont été cultivés en serre dans des pots de 1L, à l'intérieur de cages grillagées sans application de pesticides. L'élevage de *Tuta absoluta* en laboratoire a été établi et maintenu comme décrit par Campolo et al. (2017). Les œufs et les larves de *Tuta absoluta* du même âge ont été obtenus en libérant environ deux cents adultes nouvellement émergés à l'intérieur de chaque cage contenant quatre plants de tomates lorsqu'ils ont atteint le stade phénologique de la 3e feuille sur la pousse principale dépliée. On a laissé les papillons de nuit pondre pendant 24 heures, puis on les a retirés. Les œufs (âgés de 72 ± 12 h) et les larves du deuxième stade larvaire nouvellement muées ont été utilisés pour les essais biologiques. La colonie de *N. tenuis* a été établie et maintenue au laboratoire comme décrit par Passos et al. (2022). Les adultes nouvellement émergés (âgés de 1 à 4 jours) de *N. tenuis* ont été collectés dans les cages d'élevage à l'aide d'un aspirateur mécanique, couplés dans des tubes en plastique et conservés au réfrigérateur (~ 7 °C) jusqu'à leur utilisation.

2.3 Essais biologiques

Les essais biologiques suivants ont été réalisés au Département de l'agriculture, de l'alimentation et de l'environnement de l'Université de Catane (Italie) dans une chambre climatique dans des conditions environnementales contrôlées (25 ± 2 °C, 60 ± 10 % HR, 14:10L:D). Les solutions GEO-NE testées ont été préparées en mélangeant la quantité nécessaire de nanoémulsion concentrée (15% d'EOs) avec de l'eau distillée afin d'obtenir la concentration requise pour les différents bioessais. La nanoémulsion développée se dispersant facilement dans l'eau, une légère agitation (10 secondes à 2 000 tours/minute) à l'aide d'un agitateur magnétique a été nécessaire pour préparer les solutions.

Un insecticide commercial à base de spinosad (Laser™ Dow Agrosiences, appliqué à la double dose la plus élevée recommandée par l'étiquette en Italie pour les cultures de tomates, 150 mL/hL) a été utilisé comme contrôle traité dans les essais biologiques impliquant *T. absoluta* car son utilisation est largement reconnue dans la culture biologique de tomates du bassin méditerranéen (Biondi et al. 2018). Pour l'évaluation de l'impact non-cible envers *N. tenuis*, un insecticide à base d'indoxacarbe (Steward®, DuPont™, appliqué à la dose la plus élevée recommandée sur l'étiquette en Italie pour les cultures de tomates, 12,5 g/hL) a été utilisé car cet ingrédient actif a été reconnu comme nocif envers le prédateur dans des conditions de laboratoire (Arnò & Gabarra 2011). De l'eau distillée et TWEEN® 80 + eau distillée ont été utilisés comme témoins non traités.

2.4 Toxicité envers les juvéniles de *T. absoluta*

Deux tests biologiques ont été réalisés pour évaluer l'efficacité de la formulation développée pour contrôler les œufs et les larves de *T. absoluta*, respectivement. Dans le premier essai biologique, des plants de tomates portant des œufs de *T. absoluta*, obtenus comme décrit ci-dessus, ont été pulvérisés 72 heures plus tard avec sept concentrations différentes (de 0,015 à 3% W/W) de la formulation GEO-NE jusqu'au ruissellement en utilisant un pulvérisateur manuel d'aérosol de 2 L (Dea®, Volpi, Italie) et laissés à sécher pendant une heure. Pour chaque réplique, dix œufs de *T. absoluta* pulvérisés ont été soigneusement transférés sur des feuilles de tomates non traitées à l'aide d'un pinceau fin dans une arène ventilée (Biondi et al. 2012). La mortalité des œufs a été vérifiée quotidiennement jusqu'à 48 heures après l'éclosion des œufs.

Dans le deuxième essai biologique, les plants de tomates ont été pulvérisés à la fois avec la LC50 résultante des œufs et avec la concentration maximale testée contre le stade de l'œuf (c'est-à-dire 3 % d'OE). Ces deux concentrations ont été choisies pour évaluer l'activité larvicide potentielle qui peut être déterminée simultanément par le traitement ovicide. Pour chaque réplique, dix larves coéternelles de 2e stade de *T. absoluta* ont été transférées sur des feuilles de tomate pulvérisées à l'intérieur d'une arène ventilée selon la méthodologie décrite par Campolo et al. (2017). La mortalité des larves a été évaluée 24 et 72 h après la pulvérisation. Les larves qui ne réagissaient pas lorsqu'elles étaient stimulées avec un pinceau fin étaient considérées comme mortes. La toxicité chronique a été évaluée en calculant la proportion de juvéniles, vivants 72 h après la pulvérisation, qui ont atteint le stade adulte. Par conséquent, 12 jours après l'exposition des larves aux produits chimiques, les isolateurs ont été vérifiés quotidiennement pour enregistrer l'émergence des adultes. La mortalité cumulée (aiguë et chronique) a été utilisée pour évaluer l'efficacité de la formulation développée. Les deux essais biologiques ont été répétés cinq fois pour chaque concentration testée et pour les contrôles.

2.5 Dissuasion de l'oviposition

Des tests de choix et de non-choix ont été effectués pour évaluer la dissuasion de la ponte sur les femelles adultes de *T. absoluta* causée par les traitements ovicides. Pour obtenir des femelles coétreées et accouplées, les pupes de *T. absoluta* ont été sexées et, une fois les adultes sortis, 5 femelles et 5 mâles ont été accouplés et laissés s'accoupler pendant 4 jours. Aucun substrat de ponte n'a été fourni pendant cette période.

Dans les deux expériences, les plants de tomates ont été pulvérisés avec la LC50 résultante pour les œufs et laissés à sécher. Seule l'eau distillée + Tween 80 a été utilisée comme témoin car aucune différence statistique ($p > 0,05$) n'a été enregistrée entre ce traitement et l'eau seule (données non présentées) lors des essais préliminaires.

Dans le test de non-choix, deux pousses de tomates pulvérisées, avec la base immergée dans l'eau, ont été placées à l'intérieur d'une cage en filet de polyester (50 × 60 × 80 cm), tandis que dans le test de choix, les pousses traitées et les pousses témoins ont été placées à l'intérieur des cages. Dix *T. absoluta* adultes (5 femelles et 5 mâles) ont été libérés dans les cages et maintenus dans les mêmes conditions climatiques décrites ci-dessus. Après 72 heures, le nombre d'œufs pondus dans les pousses traitées et dans les pousses témoins a été compté à l'aide d'un stéréomicroscope. Chaque expérience a été répétée dix fois.

2.6 Effets secondaires sur *Nesidiocoris tenuis* et les plants de tomate

Pour évaluer les effets secondaires des traitements ovicides de *T. absoluta* sur *N. tenuis*, deux expériences différentes ont été réalisées, qui visaient à évaluer la toxicité résiduelle de GEO-NE sur la survie et la production de progéniture du prédateur. Des pousses ont été recueillies 1 h et 72 h plus tard sur des plants de tomate pulvérisés avec des œufs LC50, le taux d'application le plus élevé (3% de GEO) utilisé dans le bio-essai ovicide, des témoins traités et non traités comme décrit ci-dessus. Dans ce cas également, seule l'eau distillée + Tween 80 a été utilisée comme témoin puisque l'eau seule n'a eu aucun effet sur la mortalité de *N. tenuis* et la production de sa progéniture ($p > 0,05$). Cinq couples de *N. tenuis* ont été libérés à l'intérieur de l'isolateur décrit ci-dessus, avec une pousse pulvérisée (résidus de 1 h ou de 72 h) et des œufs dévitalisés d'*Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera : Pyralidae) comme source de nourriture. La mortalité a été évaluée quotidiennement pendant trois jours en enregistrant le nombre de mâles et de femelles adultes vivants et morts. Après trois jours, les adultes ont été retirés et dix jours plus tard, le nombre de nymphes a été enregistré quotidiennement pendant dix jours supplémentaires. Chaque traitement a été répété dix fois. L'effet toxique de la formulation développée sur les plants de tomates a été évalué pendant deux semaines en pulvérisant cinq plants de tomates supplémentaires avec les sept taux d'application décrits ci-dessus, en suivant la méthodologie détaillée dans Campolo et al. (2017). Des traitements témoins (c'est-à-dire indoxacarbe, eau + Tween 80 et eau seule) ont également été inclus.

2.7 Analyse des données

Les données de mortalité ont été corrigées pour tenir compte de la mortalité des témoins à l'aide de la formule d'Abbott (Abbott 1925). Les variables dépendantes ont été testées pour l'homogénéité et la normalité de la variance (test de Levene et de Shapiro-Wilk respectivement) et transformées ($\arcsin \sqrt{x}$) chaque fois que nécessaire. Une analyse Probit a été réalisée pour estimer les concentrations létales médianes (LC50 et LC90) avec les intervalles de confiance à 95% associés. Les valeurs ont été considérées comme significativement différentes lorsque leurs limites fiduciaires à 95 % ne se chevauchaient pas. Les données relatives à la mortalité et à la ponte dans le test de choix, ainsi qu'à la production de progéniture, ont été soumises à une analyse univariée de la variance selon la procédure GLM. Les données du test de choix ont été soumises à l'analyse de qualité d'ajustement χ^2 pour tester l'hypothèse nulle selon laquelle la ponte n'était pas influencée par le traitement (réponse égale à 50:50). Les comparaisons multiples ont été effectuées à l'aide du test post-hoc des plages multiples de Duncan. Pour évaluer l'effet sur les plantes de la formulation développée, l'indice de phytotoxicité (P_i) a été calculé selon la formule proposée par Campolo et al. (2017).

$$P_i = \sum_{j=0}^n \left(\frac{DL_j}{TL} \times \frac{DC}{n-1} \right)$$

Où DL est le nombre de feuilles endommagées pour chaque classe de gravité de dommages j , TL est le nombre total de feuilles pulvérisées, DC est la classe de gravité de dommages, et n est le nombre de classes de gravité de dommages. Le P_i va de 0 (aucun dommage) à 1 (feuilles mortes).

3 Résultats

3.1 Analyse GC-MS et préparation de la nanoémulsion

Plus de 70 composés volatils ont été détectés dans l'EO d'ail, dont plus de 90 % sont des composés sulfurés. Les sulfures de diallyle, du mono- à l'hexasulfure, prédominent quantitativement (Tableau S1). En particulier, dans nos échantillons, le disulfure de diallyle (29,66%) et le trisulfure de diallyle (21,50%) étaient les principaux composés, suivis du tétrasulfure de diallyle (13,19%) et du sulfure de diallyle (10,69%). D'autres thiosulfonates, notamment les di-, tri- et tétrasulfures d'allyl méthyl-, d'allyl 1-propényl et de méthyl 1-propényl ont été identifiés en petite quantité dans les échantillons analysés.

Les particules GEO-NE avaient des dimensions appartenant à l'échelle nanométrique ($176,23 \pm 0,9$ nm) et une charge de surface (potentiel ζ) de $-23,16 \pm 0,29$ mV. La distribution de taille de la formulation (0,18) a mis en évidence une distribution étroite de la taille des particules dans les échantillons analysés. Au fil du temps (Fig. 1), la taille et le potentiel ζ ont augmenté pour atteindre des valeurs inférieures à 183 nm et -18 mV, respectivement. Pendant les trois premières semaines, la taille des particules est restée presque constante ($176,23 \pm 0,88$ nm) et seulement huit semaines après la préparation, une légère augmentation de la taille a été mesurée.

3.2 Toxicité envers les juvéniles de *Tuta absoluta*

La mortalité des œufs pulvérisés avec la formule développée a eu une réponse concentration-dépendante avec une valeur de $LC_{50} = 0,124\%$ de EO (CI = 0,098-1,151) et une $LC_{90} = 0,772\%$ de EO (CI = 0,601-1,052) comme estimé par le probit. (Pente \pm SE = $1,61 \pm 0,11$; $\chi^2 = 84,612$; $p = 0,084$).

À l'inverse, dans le témoin eau, seuls $4 \pm 1,63\%$ des œufs n'ont pas éclos. Des différences statistiques ont été mises en évidence entre la mortalité corrigée des œufs enregistrée dans les traitements GEO-NE par rapport au contrôle traité au spinosad ($F = 81,933$; $df = 7$; $p < 0,001$). Notre nanoémulsion à des concentrations de 1,5 et 3% de GEO a tué 96,88 et 97,92% des œufs pulvérisés, respectivement. Ces résultats étaient similaires à ceux du contrôle à base de spinosad (Fig. 2). La formulation a également montré une activité larvicide prometteuse. Les deux concentrations testées de GEO-NE (c'est-à-dire 3% et LC_{50} œufs) ont causé 100% et $77,78 \pm 13,61\%$ de mortalité des larves de *T. absoluta*, respectivement. L'efficacité de GEO-NE était donc comparable à celle du contrôle à base de spinosad ($F = 2,667$; $df = 2$; $p = 0,11$).

3.3 Dissuasion de la ponte

Dans le test de choix (Fig. 3), les femelles de *T. absoluta* ont pondu significativement plus d'œufs sur les plantes témoins par rapport aux plantes pulvérisées avec la formulation à base de GEO ($\chi^2 = 8,601$; $p < 0,01$). Le nombre moyen d'œufs pondus par femelle sur les pousses de tomates témoins ($5,75 \pm 1,39$) a doublé la quantité d'œufs pondus sur les pousses pulvérisées avec GEO-NE ($2,08 \pm 0,6$). Dans le test de non-choix, les pousses non traitées se sont révélées plus attractives que les pousses pulvérisées de GEO-NE ($F = 90,556$; $df = 1$; $p = 0,01$). Ainsi, la ponte des femelles de *T. absoluta* a été significativement réduite sur les plantes pulvérisées avec la formulation par rapport aux plantes témoins (Fig. 3).

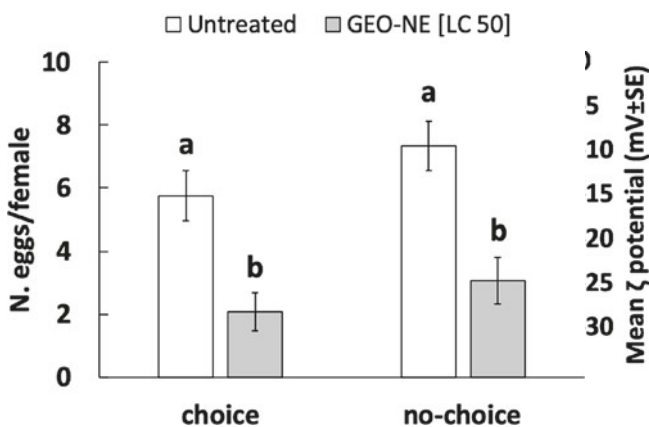


Fig. 1. Valeur moyenne (\pm SE) de la taille moyenne et de la tendance de la charge de surface du GEO-NE mesurée pendant les 16 semaines d'enquête.

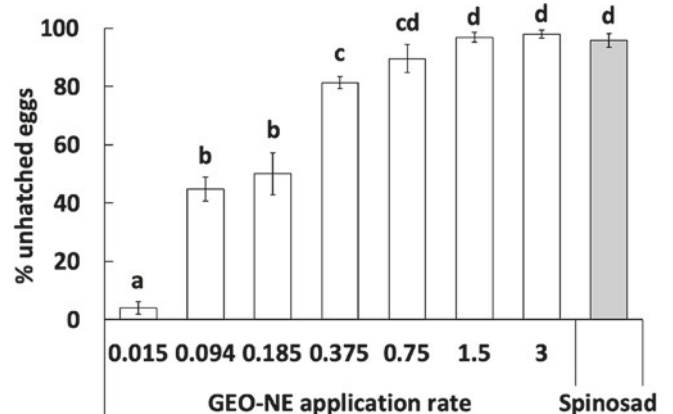


Fig. 2. Pourcentages moyens (\pm SE) de mortalité des œufs de *Tuta absoluta* pulvérisés avec différents taux d'application de GEO-NE. Le contrôle traité à base de Spinosad a été pulvérisé au taux d'étiquetage. Des lettres différentes indiquent des différences statistiques entre les traitements pour $p < 0,05$ (analyse univariée de la variance suivie du test post-hoc de Duncan).

Fig. 3. Nombre moyen (\pm SE) d'œufs pondus par les femelles de *Tuta absoluta* dans les tests de choix et de non-choix. Des lettres différentes indiquent des différences statistiques entre les traitements pour $p < 0,05$ (test de choix : χ^2 goodness of fit ; test de non-choix : Analyse univariée de la variance suivie du test post-hoc de Duncan).

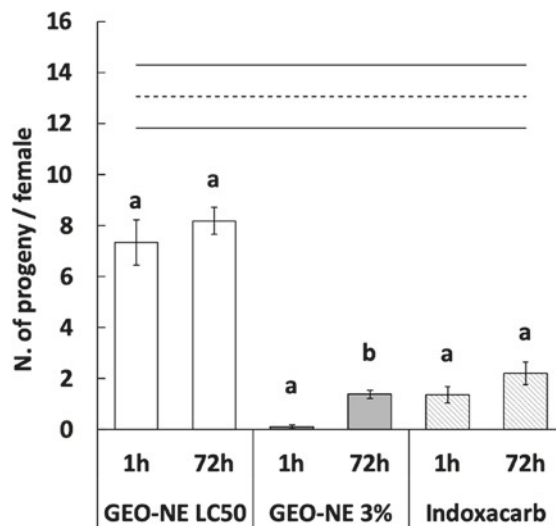


Fig. 4. Les barres indiquent le nombre moyen (\pm SE) de progénitures produites par les femelles de *Nesidiocoris tenuis* pendant 3 d'exposition à 1 h et 72 h à différentes concentrations de résidus de GEO-NE sur des pousses de tomates. Des lettres différentes indiquent des différences statistiques entre chaque traitement pour $p < 0,05$ (analyse univariée de la variance suivie du test post-hoc de Duncan). La ligne pointillée indique le nombre moyen (\pm SE) de progénitures produites dans le groupe témoin.

3.4 Effets secondaires de GEO-NE

La mortalité globale de *N. tenuis* causée par GEO-NE a été affectée par l'âge des résidus sur les pousses de tomates ($F = 6,038$; $df = 1$; $p = 0,01$). Comme prévu, les plants de tomates pulvérisés d'indoxacarbe âgés d'une heure ont affecté négativement la survie de *N. tenuis* plus que GEO-NE aux deux concentrations testées ($F = 44,431$; $df = 2$; $p < 0,001$) (Tableau 1). De même, sur les pousses traitées âgées de 3 jours, la mortalité des mirides était significativement plus élevée pour l'indoxacarbe par rapport aux deux concentrations de GEO-NE ($F = 148,816$; $df = 2$; $p < 0,001$). Dans les pousses de tomates d'une heure pulvérisées, l'indoxacarbe et le GEO-NE à 3% ont tué plus de 80% et 60% des individus exposés, respectivement. Inversement, seulement ~3% d'individus *N. tenuis* morts ont été enregistrés après l'exposition à 1h GEO-NE résidus à la LC50 estimée pour les œufs de *T. absoluta* ($F = 27.356$; $df = 2$; $p < 0.001$). La progéniture produite par les femelles *N. tenuis* a été significativement affectée par GEO-NE ($F = 72,150$; $df = 3$; $p < 0,001$). La progéniture enregistrée pour les femelles *N. tenuis* exposées à des pousses pulvérisées à 3 % de GEO-NE pendant une heure a diminué ($0,10 \pm 0,07$) par rapport à la progéniture enregistrée dans les pousses pulvérisées à l'eau ($13,06 \pm 1,23$) (Fig. 4). Dans les pousses traitées avec les œufs LC50, le nombre de descendants était de $7,34 \pm 0,89$. Au sein d'un même traitement, une différence dans la moyenne de la progéniture produite a été observée uniquement dans les pousses traitées avec GEO-NE 3%, dans lesquelles l'âge des résidus a affecté la capacité de reproduction du prédateur.

Globalement, aucun signe de toxicité n'a été observé sur les plants de tomates pulvérisés avec les concentrations de GEO-NE testées pendant deux semaines (données non présentées). Par conséquent, le Pi était toujours égal à zéro et classé comme sans dommage.

4 Discussion

La nanoformulation GEO que nous avons développée a montré un potentiel intéressant pour le contrôle de *T. absoluta* et son efficacité peut être attribuée à la fois à l'huile essentielle utilisée et à la formulation elle-même. L'EO d'ail que nous avons utilisée était principalement composée de composés sulfurés qui sont responsables de l'odeur et du goût caractéristiques de l'ail (Condurso et al. 2019). Le disulfure et le trisulfure de diallyle, les composés les plus abondants trouvés dans nos échantillons, représentent les principaux

composants des huiles d'ail commerciales, dans lesquelles le trisulfure de diallyle prédomine dans l'huile d'ail fraîche (Miething 1988). Ces deux composés sont connus pour être efficaces contre les ravageurs des produits stockés, les moustiques, les diptères, les sciaridae et les psillidae (Huang et al. 2000 ; Park et al. 2006 ; Zhao et al. 2013).

Malgré leurs propriétés insecticides prometteuses, les EOs utilisées en tant que telles présentent une série de problèmes principalement liés à leurs caractéristiques chimiques (par exemple, la faible solubilité dans l'eau, la dégradation environnementale, la phytotoxicité, la volatilité et l'inflammabilité), donc le développement de nanoformulations est nécessaire pour leur utilisation comme insecticides dans des conditions réelles d'exploitation. Cependant, l'un des principaux problèmes liés à l'utilisation généralisée de ces outils de contrôle est lié à la disponibilité limitée des nanoformulations enregistrées, en fonction de la variété des processus d'approbation réglementaire des dérivés naturels adoptés par les différents pays. La nanoémulsion que nous avons développée a permis de résoudre de nombreuses contraintes liées aux EOs en améliorant leur dispersion dans l'eau, en réduisant leur phytotoxicité et en augmentant leur stabilité au fil du temps. La faible persistance des huiles essentielles et d'autres produits écologiques, tels que le *Bacillus thuringiensis*, peut représenter une limitation, mais en même temps elle garantit au consommateur l'absence de résidus d'insecticides dans les aliments.

Les diamètres de gouttelettes nanométriques que nous avons obtenus (c'est-à-dire moins de 180 nm) ont probablement contribué à la grande efficacité de la formulation insecticide contre *T. absoluta*. Une diminution des LC50 de la perméthrine et de l'huile de margousier a été observée dans les nanoémulsions lorsque la taille des gouttelettes diminue (Anjali et al. 2012). Des résultats similaires ont été rapportés par Mossa et al. (2018) en comparant l'efficacité de l'émulsion normale et de la nanoémulsion d'EO d'ail contre deux acariens ériophyides.

La quantité d'EO chargée, le ratio surfactant/huile (SOR) et la méthode de préparation sont des facteurs critiques pour obtenir une nanoémulsion stable et efficace (Donsi & Ferrari 2016). Dans notre formulation insecticide, nous avons pu charger 15% d'EO avec un SOR de 0,33 tout en assurant une bonne stabilité et une petite taille de particules. En comparaison avec notre nano-émulsion, la plupart des nanoémulsions à base d'EO contiennent moins de 10% d'EO, tandis que les formulations contenant des pourcentages plus élevés d'EO (10-16,7) nécessitent souvent des pourcentages plus élevés de surfactant (SOR 1-2) ou des processus à très haute énergie, comme l'homogénéisation à haute pression (Donsi & Ferrari 2016).

Les résultats obtenus ont mis en évidence une bonne activité insecticide de la formulation développée dans le contrôle des stades préimaginaux de *T. absoluta* puisque les deux concentrations testées (NE à 3% de GEO et les œufs LC50) ont provoqué des taux de mortalité élevés chez les larves traitées. L'évaluation des EOs comme outil de contrôle de *T. absoluta* est encore à un stade précoce, probablement parce que les larves se nourrissent de tissus mésophiles et que les EOs ne sont pas capables de pénétrer jusqu'à ces tissus si elles ne sont pas appliquées comme nano-insecticides (Campolo et al. 2017). Certaines recherches ont essayé d'évaluer l'efficacité de la fumigation des EOs contre les larves bien que, à notre avis, cette approche, lorsqu'elle est appliquée aux ravageurs des cultures, pourrait être utile seulement pour comprendre le potentiel des EOs testées puisque cette méthode est peu susceptible d'être appliquée en plein champ.

Inversement, dans l'industrie des produits stockés, l'utilisation des EOs comme fumigants pourrait être une alternative viable aux fumigants synthétiques (Campolo et al. 2014). L'EO d'ail avait de fortes activités fumigantes contre les adultes et les immatures de *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera : Tenebrionidae) et contre *T. castaneum* et *Sitophilus zeamais* (L.) (Coleoptera : Curculionidae) lorsqu'elle était combinée avec de la terre de diatomées (Yang et al. 2010). L'EO d'*Elettaria cardamomum* Maton (Zingiberaceae) extraite des graines a révélé une bonne activité de fumigation contre les larves de deuxième stade de *T. absoluta* 2ème stade larvaire à l'intérieur et à l'extérieur des feuilles (Goudarzv Chegini & Abbasipour 2017) comme tandis que les EOs d'*Artemisia absinthium* L (Asteraceae), *Eupatorium buniifolium* Hooker et Arnott (Asteraceae) appliquées comme fumigants (par exemple les vapeurs) et par la voie de la toxicité de contact (Umpiérrez et al. 2017).

Les œufs de *Tuta absoluta* sont considérés comme moins sensibles à la fois aux EOs et aux insecticides chimiques que les larves (Tomé et al. 2012 ; Goudarzv Chegini & Abbasipour 2017). Nos résultats confirment

cet aspect puisque la concentration létale qui a tué les 50% des œufs a pu tuer près de 80% des larves traitées qui se nourrissent principalement protégées à l'intérieur des mines. Nos résultats suggèrent que les EO d'ail semblent être plus efficaces contre les œufs de pyrale que les autres EO. Campolo et al. (2017) évaluant l'efficacité d'une émulsion d'EO d'écorces de citron, de mandarine et d'orange douce contre les œufs de *T. absoluta* ont mis en évidence que toutes les concentrations testées (de 2,5 à 40 mg d'EO × mL⁻¹), beaucoup plus élevées que celles utilisées dans cette étude, n'ont pas permis de tuer la moitié des œufs traités. La valeur de la LC50 des EO d'*E. cardamomum* appliquées comme fumigants contre les œufs de *T. absoluta* était significativement plus élevée que celle des larves du 2^e stade à l'intérieur des mines (351,19 vs 7,88 µl L⁻¹ air respectivement) (Goudarzi Chegini & Abbasipour 2017).

GEO-NE a également révélé une bonne répulsion de l'oviposition à la fois dans les tests de choix et de non choix en réduisant les œufs pondus par la femelle de plus de 50% sur les pousses traitées. La répulsion de la ponte due aux EO chez *T. absoluta* a également été mise en évidence par Yarou et al. (2018), en traitant des plants de tomates avec des EO d'*Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae) et d'*Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) (0,5 et 1 mg) formulées avec de l'huile de paraffine. En outre, les mêmes auteurs ont mis en évidence une réduction des œufs pondus sur les plants de tomates lorsqu'ils sont associés à des plants de basilic qui pourraient avoir masqué les COV de la tomate et empêché les femelles de *T. absoluta* de reconnaître les plants de tomates. Chez *Tetranychus urticae* Koch (Acari : Tetranychidae) des concentrations sublétales d'EOs de *Piper marginatum* Jacq (Piperaceae) et de ses principaux composés ont affecté la fécondité des femelles (Ribeiro et al. 2016).

Bien que les EO aient été largement testées comme pesticides, seules quelques études ont ciblé l'impact négatif sur les plantes et les organismes non ciblés (Pavela & Benelli, 2016). Dans notre étude, les deux taux d'application testés de la formulation développée (LC50 œufs et GEO-NE 3%) ont eu un impact sur la survie des adultes de *N. tenuis* inférieur au contrôle à base d'indoxacarbe. Lorsque le miride a été libéré 72 heures après les traitements, les résidus ont eu de faibles effets sur la mortalité des prédateurs. Inversement, les formulations développées ont eu une influence importante sur la production de la progéniture des mirides et seulement à la plus faible concentration testée (LC50 œufs) la progéniture produite par les femelles était significativement plus élevée par rapport au contrôle traité à l'indoxacarbe. De plus, l'âge du résidu a eu des effets négligeables sur la production de la progéniture. Nos résultats suggèrent que le GEO-NE agit, comme cela a été enregistré pour *T. absoluta*, en tant que dissuasif de ponte puisque les traitements dans lesquels la plupart des femelles ont survécu (c'est-à-dire les pousses traitées avec du GEO-NE 3% 72 h avant la libération du miride) la progéniture produite par les femelles était similaire à celle enregistrée dans le contrôle traité à l'indoxacarbe dans lequel la plupart des femelles sont mortes.

Les biopesticides sont généralement considérés comme écologiquement sains, car on pense qu'ils sont sélectifs, moins menaçants pour l'environnement et la santé humaine. Malgré ces croyances, plusieurs études prouvent que cette question ne peut être généralisée. Par exemple, bien que l'analyse de la survie des prédateurs de *N. tenuis* exposés à des résidus d'insecticides à base d'huile d'agrumes à différentes concentrations n'ait indiqué aucune différence significative par rapport au témoin non traité (Soares et al. 2019), la formulation borax + huile d'agrumes a eu les mêmes impacts négatifs (mortalité et production de progéniture) que l'indoxacarbe sur le prédateur *Orius laevigatus* (Fieber) (Hemiptera : Anthocoridae) (Biondi et al. 2012).

Umpierrez et al. (2017) ont signalé que *A. absinthium* et *E. buniifolium* étaient toxiques pour les abeilles domestiques lorsqu'elles étaient appliquées aux concentrations efficaces contre les larves de *T. absoluta*. Les huiles essentielles ont également eu des effets négatifs sur l'acarien prédateur *Amblyseius swirskii* Athias-Henriot (Acari, Phytoseiidae) en affectant à la fois la survie des femelles et la ponte des œufs (Amer & Momen 2002). Inversement, l'EO de *Piper marginatum* appliquée comme fumigant contre le tétranyque à deux points *T. urticae* et le prédateur acarien généraliste *N. californicus* était moins toxique pour l'ennemi naturel que pour le ravageur (Ribeiro et al. 2016). Les EO d'origan et ses différents composés ont affecté la survie de la chrysopes verte *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera : Chrysopidae), ayant souvent des effets sublétaux sur sa fécondité et sa fertilité (Castilhos et al. 2018).

Kimbaris et al. (2010) ont montré que les prédateurs coccinellides *Adalia bipunctata* L (Coleoptera : Coccinellidae) et *Coccinella septempunctata* L (Coleoptera : Coccinellidae) étaient de deux à cinq fois plus sensibles aux EO's *Mentha* spp. Appliquées comme fumigant, elles étaient de deux à cinq fois plus sensibles aux EO's de *Mentha* spp. qu'à celles de leurs proies, les pucerons *Acyrtosiphon pisum* et *Myzus persicae*, alors que les EO's d'orange avaient des valeurs de LC plus élevées chez les coccinelles que chez les pucerons. De même, les EO's d'*Origanum vulgare* et de *Thymus vulgaris* L (Lamiaceae) appliquées comme fumigants étaient sélectives envers *Trissolcus basalis* (Woll.) (Hymenoptera : Scelionidae) (Werdin González et al. 2013). L'EO de *Piper aduncum* (Piperaceae) appliquée par contact et par immersion contre *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera : Pentatomidae) a provoqué des effets délétères sur différents stades de la punaise sans effets sur ses ennemis naturels, *Telenomus podisi* (Ashmead) (Hymenoptera : Platygastriidae) et *Trissolcus urichi* (Crawford) (Hymenoptera : Platygastriidae) (Turchen et al. 2016).

Dans notre étude, aucun effet phytotoxique sur les plantes traitées n'a été mis en évidence à toutes les concentrations testées. Les EO's en raison de leur pool extrêmement hétérogène de métabolites secondaires peuvent avoir un impact différent sur les plantes en fonction également de la concentration et du type de formulation. L'effet phytotoxique des EO's d'écorce d'agrumes sur les plants de tomate dépendait de la concentration, et les émulsions d'EO's ont causé plus de dommages que la formulation PEG EO-nanoparticules (Campolo et al. 2017). Les effets négatifs des EO's sur les plantes sont considérés comme négatifs pour la protection des plantes contre les insectes, mais ils peuvent représenter une ressource pour le développement de bio-herbicides.

En conclusion, la formule à base d'EO nouvellement développée dans cette recherche a montré des résultats prometteurs dans le contrôle des différents stades de *T. absoluta* avec une faible mortalité envers le prédateur *N. tenuis* et aucune phytotoxicité sur les plants de tomate. Plus précisément, les activités ovicide et larvicide ainsi que la dissuasion de l'oviposition et l'absence de phytotoxicité sont remarquables car ces différents effets peuvent agir en synergie parallèle dans la lutte contre l'un des plus importants ravageurs de la tomate.

*Tableau 1. Pourcentages moyens (\pm SE) de mortalité des femelles, des mâles et du total des adultes de *Nesidiocoris tenuis* exposés à des concentrations différentes de résidus de GEO-NE sur des pousses de tomates pendant 1 h et 72 h. Les lettres différentes indiquent des différences statistiques entre les mêmes traitements pour $p < 0,05$ (analyse univariée de la variance suivie du test post hoc de Duncan).*

Treatment	Residual age	Male mortality	Female mortality	Total mortality
GEO-NE LC ₅₀ eggs	1	4.74 \pm 2.41a	3.33 \pm 2.22a	3.16 \pm 1.61a
	72	2.22 \pm 1.48a	0 \pm 0a	0.43 \pm 0.29a
GEO-NE 3%	1	66.84 \pm 13.08a	54.17 \pm 11.11a	60 \pm 11.07a
	72	4.44 \pm 3.39b	1.49 \pm 1.49b	2.83 \pm 1.72b
Indoxacarb	1	91.58 \pm 6.43a	77.5 \pm 10.15a	84.21 \pm 8.04a
	72	73.33 \pm 8.64a	68.09 \pm 7.27a	70.65 \pm 5.39a

Remerciements : Cette recherche a été soutenue par le ministère italien de l'Éducation, de l'Université et de la Recherche (MIUR) (projet PRIN 2015 "BIOPIC", 2015BABFCF), l'UE, Programme IEV de Coopération Transfrontalière Italie- Tunisie 2014-2020 (Projet INTEMAR-IS_ 2. 1_073 Innovations dans la luth intégrée contre les ravageurs et maladies récemment introduits sur les cultures maraîchères, numéro de subvention E64I18002460007 et l'Université de Catania (Fonds de recherche universitaire-Plan de recherche 2016/2018).

Références

- Abbott, W. S. (1925). A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology*, *18*(2), 265–267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>
- Amer, S. A. A., & Momen, F. M. (2002). Effect of some essential oils on the predacious mite *Amblyseius swirskii* A. H. (Acari: Phytoseiidae). *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, *37*(1–3), 281–286. <https://doi.org/10.1556/APhyt.37.2002.1-3.27>
- Anastassiadou, M., Arena, M., Auteri, D., Brancato, A., Bura, L., Carrasco Cabrera, L., ... Villamar-Bouza, L. (2020). Peer review of the pesticide risk assessment of the active substance garlic extract. *EFSA Journal*, *18*(6), e06116. <https://doi.org/10.2903/j.efs.2020.6116>
- Anjali, C. H., Sharma, Y., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2012). Neem Oil (*Azadirachta Indica*) nanoemulsion-a potent larvicidal agent against *Culex quinquefasciatus*. *Pest Management Science*, *68*(2), 158–163. <https://doi.org/10.1002/ps.2233>
- Arnó, J., & Gabarra, R. (2011). Side effects of selected insecticides on the *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) predators *Macrolophus pygmaeus* and *Nesidiocoris tenuis* (Hemiptera: Miridae). *Journal of Pest Science*, *84*(4), 513–520. <https://doi.org/10.1007/s10340-011-0384-z>
- Athanassiou, C. G., Kavallieratos, N. G., Benelli, G., Losic, D., Usha Rani, P., & Desneux, N. (2018). Nanoparticles for pest control: Current status and future perspectives. *Journal of Pest Science*, *91*(1), 1–15. <https://doi.org/10.1007/s10340-017-0898-0>
- Biondi, A., Desneux, N., Siscaro, G., & Zappalà, L. (2012). Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: Selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*, *87*(7), 803–812. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.12.082>
- Biondi, A., Guedes, R. N. C., Wan, F. H., & Desneux, N. (2018). Ecology, worldwide spread, and management of the invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*: Past, present, and future. *Annual Review of Entomology*, *63*(1), 239–258. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-031616-034933>
- Campolo, O., Romeo, F. V., Malacrino, A., Laudani, F., Carpinteri, G., Fabroni, S., ... Palmeri, V. (2014). Effects of inert dusts applied alone and in combination with sweet orange essential oil against *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) and wheat microbial population. *Industrial Crops and Products*, *61*, 361–369. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.07.028>
- Campolo, O., Cherif, A., Ricupero, M., Siscaro, G., Grissa-Lebdi, K., Russo, A., ... Palmeri, V. (2017). Citrus peel essential oil nanoformulations to control the tomato borer, *Tuta absoluta*: Chemical properties and biological activity. *Scientific Reports*, *7*(1), 13036. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13413-0>
- Campolo, O., Giunti, G., Laigle, M., Michel, T., & Palmeri, V. (2020a). Essential oil-based nano-emulsions: Effect of different surfactants, sonication and plant species on physicochemical characteristics. *Industrial Crops and Products*, *157*, 112935. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.112935>
- Campolo, O., Puglisi, I., Barbagallo, R. N., Cherif, A., Ricupero, M., Biondi, A., ... Zappalà, L. (2020b). Side effects of two citrus essential oil formulations on a generalist insect predator, plant and soil enzymatic activities. *Chemosphere*, *257*, 127252. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127252>
- Carvalho, F. P. (2006). Agriculture, pesticides, food security and food safety. *Environmental Science & Policy*, *9*(7–8), 685–692. <https://doi.org/10.1016/j.envsci.2006.08.002>
- Castilhos, R. V., Grützmaier, A. D., & Coats, J. R. (2018). Acute toxicity and sublethal effects of terpenoids and essential oils on the predator *Chrysoperla externa* (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology*, *47*(2), 311–317. <https://doi.org/10.1007/s13744-017-0547-6>
- Chaieb, I., Zarrad, K., Sellam, R., Tayeb, W., Hammouda, A. B., Laarif, A., & Bouhachem, S. (2018). Chemical composition and aphicidal potential of *Citrus aurantium* peel essential oils.

Entomologia Generalis, 37(1), 63–75. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2017/0317>

Cincotta, F., Condurso, C., Tripodi, G., Merlino, M., Prestia, O., Stanton, C., & Verzera, A. (2021). Comparison of lactose free and traditional mozzarella cheese during shelf-life by aroma compounds and sensory analysis. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie*, 140, 110845. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110845>

110845

Condurso, C., Cincotta, F., Tripodi, G., Merlino, M., & Verzera,

A. (2019). Influence of drying technologies on the aroma of Sicilian red garlic. *Lebensmittel-Wissenschaft + Technologie*, 104, 180–185. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2019.01.026>

Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sub-lethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology*, 52(1), 81–106. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.52.110405.091440>

Desneux, N., Han, P., Mansour, R., Arnó, J., Brévault, T., Campos,

M. R., ... Biondi, A. (2022). Integrated pest management of *Tuta absoluta*: Practical implementations across different world regions. *Journal of Pest Science*, 95, 17–39. <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01442-8>

Donsì, F., & Ferrari, G. (2016). Essential oil nanoemulsions as anti-microbial agents in food. *Journal of Biotechnology*, 233, 106–120. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2016.07.005>

Galland, C., Glesner, V., & Verheggen, F. (2020). Laboratory and field evaluation of a combination of attractants and repellents to control *Drosophila suzukii*. *Entomologia Generalis*, 40(3), 263–272. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2020/1035>

Giunti, G., Benelli, G., Palmeri, V., Laudani, F., Ricupero, M., Ricciardi, R., ... & Campolo, O. (2022). Non-target effects of essential oil-based biopesticides for crop protection: impact on natural enemies, pollinators, and soil invertebrates. *Biological Control*, 105071. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2022.105071>

Goudarzvand Chegini, S., & Abbasipour, H. (2017). Chemical composition and insecticidal effects of the essential oil of cardamom, *Elettaria cardamomum* on the tomato leaf miner, *Tuta absoluta*. *Toxin Reviews*, 36(1), 12–17. <https://doi.org/10.1080/15569543.2016.1250100>

15569543.2016.1250100

Guedes, R. N. C., Roditakis, E., Campos, M. R., Haddi, K., Bielza, P., Siqueira, H. A. A., ... Nauen, R. (2019). Insecticide resistance in the tomato pinworm *Tuta absoluta*: Patterns, spread, mechanisms, management and outlook. *Journal of Pest Science*, 92(4), 1329–1342. <https://doi.org/10.1007/s10340-019-01086-9>

Guillemaud, T., Blin, A., Le Goff, I., Desneux, N., Reyes, M., Tabone, E., ... Lombaert, E. (2015). The tomato borer, *Tuta absoluta*, invading the Mediterranean Basin, originates from a single introduction from Central Chile. *Scientific Reports*, 5(1), 8371. <https://doi.org/10.1038/srep08371>

Huang, Y., Chen, S. X., & Ho, S. H. (2000). Bioactivities of methyl allyl disulfide and diallyl trisulfide from essential oil of garlic to two species of stored-product pests, *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Journal of Economic Entomology*, 93(2), 537–543. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-93.2.537>

Isman, M. B. (2020). Botanical insecticides in the twenty-first century – Fulfilling their promise? *Annual Review of Entomology*, 65(1), 233–249. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-011019-025010>

Jaworski, C. C., Chailleux, A., Bearez, P., & Desneux, N. (2015).

Apparent competition between major pests reduces pest population densities on tomato crop, but not yield loss. *Journal of Pest Science*, 88(4), 793–803. <https://doi.org/10.1007/s10340-015-0698-3>

Kavallieratos, N. G., Boukouvala, M. C., Ntalaka, C. T., Skourti, A., Nika, E. P., Maggi, F., ... Benelli, G. (2021). Efficacy of

12 commercial essential oils as wheat protectants against stored product beetles, and their acetylcholinesterase inhibitory activity. *Entomologia Generalis*, 41(4), 385–414. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2021/1255>

Kimbaris, A. C., Papachristos, D. P., Michaelakis, A., Martinou,

A. F., & Polissiou, M. G. (2010). Toxicity of plant essential oil vapours to aphid pests and their coccinellid predators. *Biocontrol Science and Technology*, 20(4), 411–422. <https://doi.org/10.1080/09583150903569407>

Mansour, R., & Biondi, A. (2021). Releasing natural enemies and applying microbial and botanical pesticides for managing *Tuta absoluta* in the MENA region. *Phytoparasitica*, 49(2), 179–194. <https://doi.org/10.1007/s12600-020-00849-w>

- Miething, H. (1988). HPLC-analysis of the volatile oil of gar-lic bulbs. *Phytotherapy Research*, 2(3), 149–151. <https://doi.org/10.1002/ptr.2650020310>
- Mossa, A. T. H., Afia, S. I., Mohafrash, S. M., & Abou-Awad, B. A. (2018). Formulation and characterization of garlic (*Allium sativum* L.) essential oil nanoemulsion and its acaricidal activity on eriophyid olive mites (Acari: Eriophyidae). *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(11), 10526–10537. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0752-1>
- Numa Vergel, S. J., Bustos, R. A., Rodríguez, C. D., & Cantor, R. F. (2011). Laboratory and greenhouse evaluation of the entomopathogenic fungi and garlic–pepper extract on the predatory mites, *Phytoseiulus persimilis* and *Neoseiulus californicus* and their effect on the spider mite *Tetranychus urticae*. *Biological Control*, 57(2), 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.02.007>
- Palermo, D., Giunti, G., Laudani, F., Palmeri, V., & Campolo, O. (2021). Essential oil-based nano-biopesticides: Formulation and bioactivity against the confused flour beetle *Tribolium confusum*. *Sustainability (Basel)*, 13(17), 9746. <https://doi.org/10.3390/su13179746>
- Palma-Onetto, V., Oliva, D., & González-Teuber, M. (2021). Lethal and oxidative stress side effects of organic and synthetic pesticides on the insect scale predator *Rhyzobius lophanthae*. *Entomologia Generalis*, 41(4), 345–355. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2021/1045>
- Park, I. K., Choi, K. S., Kim, D. H., Choi, I. H., Kim, L. S., Bak, W. C., ... Shin, S. C. (2006). Fumigant activity of plant essential oils and components from horseradish (*Armoracia rusticana*), anise (*Pimpinella anisum*) and garlic (*Allium sativum*) oils against *Lycoriella ingenua* (Diptera: Sciaridae). *Pest Management Science*, 62(8), 723–728. <https://doi.org/10.1002/ps.1228>
- Passos, L. C., Soares, M. A., Collares, L. J., Malagoli, I., Desneux, N., & Carvalho, G. A. (2018). Lethal, sublethal and transgenerational effects of insecticides on *Macrolophus basicornis*, predator of *Tuta absoluta*. *Entomologia Generalis*, 38(2), 127–143. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2018/0744>
- Passos, L. C., Ricupero, M., Gugliuzzo, A., Soares, M. A., Desneux, N., Carvalho, G. A., ... Biondi, A. (2022). Does the dose make the poison? Neurotoxic insecticides impair predator orientation and reproduction even at low concentrations. *Pest Management Science*, 78(4), 1698–1706. <https://doi.org/10.1002/ps.6789>
- Pavela, R., & Benelli, G. (2016). Essential oils as ecofriendly biopesticides? Challenges and constraints. *Trends in Plant Science*, 21(12), 1000–1007. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2016.10.005>
- Pavela, R., Morshedloo, M. R., Mumivand, H., Khorsand, G. J., Karami, A., Maggi, F., ... Benelli, G. (2020). Phenolic monoterpen-rich essential oils from Apiaceae and Lamiaceae species: Insecticidal activity and safety evaluation on non-target earthworms. *Entomologia Generalis*, 40(4), 421–435. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2020/1131>
- Pavela, R., Pavoni, L., Bonacucina, G., Cespi, M., Cappellacci, L., Petrelli, R., ... Benelli, G. (2021). Encapsulation of *Carlina acaulis* essential oil and carlina oxide to develop long-lasting mosquito larvicides: Microemulsions versus nanoemulsions. *Journal of Pest Science*, 94(3), 899–915. <https://doi.org/10.1007/s10340-020-01327-2>
- Ribeiro, N., Camara, C., & Ramos, C. (2016). Toxicity of essential oils of *Piper marginatum* Jacq. against *Tetranychus urticae* Koch and *Neoseiulus californicus* (McGregor). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 76(1), 71–76. <https://doi.org/10.4067/S0718-58392016000100010>
- Rostami, E., Madadi, H., Abbasipour, H., Allahyari, H., & Cuthbertson, A. G. S. (2020). Pest density influences on tomato pigment contents: The South American tomato pinworm scenario. *Entomologia Generalis*, 40(2), 195–205. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2020/0788>
- Sciortino, M., Scurria, A., Lino, C., Pagliaro, M., D'Agostino, F., Tortorici, S., ... Ciriminna, R. (2021). Silica-microencapsulated orange oil for sustainable pest control. *Advanced Sustainable Systems*, 5(4), 2000280. <https://doi.org/10.1002/adsu.202000280>
- Soares, M. A., Campos, M. R., Passos, L. C., Carvalho, G. A., Haro, M. M., Lavoie, A. V., ... Desneux, N. (2019). Botanical insecticide and natural enemies: A potential combination for pest management against *Tuta absoluta*. *Journal of Pest Science*, 92(4), 1433–1443. <https://doi.org/10.1007/s10340-018-01074-5>
- Tang, F. H., Lenzen, M., McBratney, A., & Maggi, F. (2021). Risk of pesticide pollution at the global scale. *Nature Geoscience*, 14(4), 206–210. <https://doi.org/10.1038/s41561-021-00712-5>
- Tomé, H. V. V., Cordeiro, E. M. G., Rosado, J. F., & Guedes,

- R. N. C. (2012). Egg exposure to pyriproxyfen in the tomato leaf miner *Tuta absoluta*: Ovicidal activity or behavioural-modulated hatching mortality? *Annals of Applied Biology*, 160(1), 35–42. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2011.00518.x>
- Turchen, L. M., Piton, L. P., Dall'Oglio, E. L., Butnariu, A. R., & Pereira, M. J. B. (2016). Toxicity of *Piper aduncum* (Piperaceae) essential oil against *Euschistus heros* (F.) (Hemiptera: Pentatomidae) and non-effect on egg parasitoids. *Neotropical Entomology*, 45(5), 604–611. <https://doi.org/10.1007/s13744-016-0409-7>
- Umpiérrez, M. L., Paullier, J., Porrini, M., Garrido, M., Santos, E., & Rossini, C. (2017). Potential botanical pesticides from Asteraceae essential oils for tomato production: Activity against whiteflies, plants and bees. *Industrial Crops and Products*, 109, 686–692. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2017.09.025>
- Wang, M., Ismoilov, K., Li, H., Zhang, X., Lu, Z., Feng, L., ... Han, P. (2021). Polygyny of *Tuta absoluta* may affect sex pheromone-based control techniques. *Entomologia Generalis*, 41(4), 357–367. <https://doi.org/10.1127/entomologia/2021/1174>
- Werdin González, J. O., Laumann, R. A., da Silveira, S., Moraes, M. C. B., Borges, M., & Ferrero, A. A. (2013). Lethal and sublethal effects of four essential oils on the egg parasitoids *Trissolcus basalidis*. *Chemosphere*, 92(5), 608–615. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.03.066>
- Yang, F. L., Liang, G. W., Xu, Y. J., Lu, Y. Y., & Zeng, L. (2010). Diatomaceous earth enhances the toxicity of garlic, *Allium sativum*, essential oil against stored-product pests. *Journal of Stored Products Research*, 46(2), 118–123. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2010.01.001>
- Yarou, B. B., Bawin, T., Boullis, A., Heukin, S., Lognay, G., Verheggen, F. J., & Francis, F. (2018). Oviposition deterrent activity of basil plants and their essential oils against *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Environmental Science and Pollution Research International*, 25(30), 29880–29888. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-9795-6>
- Zhao, N. N., Zhang, H., Zhang, X. C., Luan, X. B., Zhou, C., Liu, Q. Z., ... Liu, Z. L. (2013). Evaluation of acute toxicity of essential oil of garlic (*Allium sativum*) and its selected major constituent compounds against overwintering *Cacopsylla chinensis* (Hemiptera: Psyllidae). *Journal of Economic Entomology*, 106(3), 1349–1354. <https://doi.org/10.1603/EC12191>



Programme cofinancé par
l'Union Européenne



Repubblica Italiana



République tunisienne



Regione Siciliana

Projet cofinancé par l'Union européenne dans le cadre du Programme IEV de Coopération Transfrontalière Italie-Tunisie 2014-2020 (Project INTEMAR-IS_2.1_073 "Innovations dans la lutte intégrée contre les ravageurs et maladies récemment introduits sur cultures maraîchères" CUP E64I18002460007