

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



UNIVERSITE BADJI-MOKHTAR ANNABA
FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUEE



Thèse présentée pour l'obtention du titre
de Docteur en Science en Biologie Animale

**Evaluation du spiromesifen, inhibiteur de la synthèse des lipides
chez *Drosophila melanogaster* : aspects toxicologique, biochimique
et comportemental.**

Par

M^{me} Hanène BENSAFI-GHERAÏBIA

Directeur de thèse

Professeur Nouredine SOLTANI

Devant un jury composé de :

Président : Pr. ARIBI N.
Examineur : Pr. HABES D.
Examineur : Pr. KELLOUCHE A.
Examineur : Pr. TADJINE A.
Examineur : MC A. TINE-DJEBAR F.

Université Badji-Mokhtar, Annaba
Université Badji-Mokhtar, Annaba
Université de Tizi Ouzou
Université d'El Tarf
Université de Tébessa

Année universitaire 2014/2015

REMERCIEMENTS

La réalisation de cette thèse est l'aboutissement d'un parcours académique, long et laborieux, parfois semé d'embûches.

C'est un devoir que de remercier au début d'un tel travail tous ceux qui, plus ou moins directement, ont contribué à le rendre possible et agréable. C'est avec mon enthousiasme le plus vif et le plus sincère que je voudrais rendre mérite à tous ceux qui, à leur manière m'ont aidé à mener à bien cette thèse. Je désire alors leur exprimer ma profonde gratitude.

*Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à Mme. **Nadia ARIBI**. Professeur au Département de Biologie, Université d'Annaba. Qui m'a fait l'honneur de présider le présent jury. Je lui témoigne mes sentiments de considération et de respect.*

*Ce travail a été réalisé au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée de l'Université d'Annaba sous la direction de Monsieur le Professeur **Noureddine SOLTANI**. Je le remercie chaleureusement pour ses enseignements et ses encouragements durant toutes mes inscriptions en thèse. En m'accueillant dans son laboratoire, il était là pour me pousser vers la carrière scientifique, il a su m'assurer un cadre de travail où réflexion, opinions et requêtes ne sont jamais restées lettre morte. Ses critiques, observations et suggestions m'ont permis d'améliorer ce travail. Sa rigueur pour le travail scientifique m'a toujours émerveillée. Ce fut pour moi un réel plaisir d'être dirigée par un tel promoteur avec un enthousiasme motivant. Merci !*

*J'ai tout le plaisir et l'honneur de la présence de Mme. **Dahbia HABES**. Professeur au Département de Biologie, Université d'Annaba. Qui a bien voulu accepter d'être membre du jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.*

*Toute ma considération à Monsieur **Abdallah KELLOUCHE**. Professeur à l'Université de Tizi Ouzou. Qui a bien voulu accepter d'être membre de ce même jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.*

*Je suis très reconnaissante envers Mme. **Aïcha TADJINE**. Professeur à l'Université d'El Tarf. Qui ma fait l'honneur de juger le présent travail.*

*Mes plus vifs remerciements vont à Mme. **Fouzia TINE-DJEBAR**. Maitre de Conférence « A » à l'Université de Tébessa. D'avoir accepté de faire partie du jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.*

*Je souhaiterais exprimer également ma gratitude à Mme. **Nadia SOLTANI-MAZOUNI**. Professeur au Département de Biologie, Université d'Annaba. Merci pour ses conseils et ses encouragements permanents et surtout, pour s'être pleinement investi à la réalisation de ce travail et sacrifié de son temps pour répondre à mes questions. Merci pour votre humanisme, votre bonté et votre gentillesse.*

*Mes respects et ma reconnaissance vont aussi à Mme. **Samira KILANI-MORAKCHI**. Professeur au Département de Biologie, Université d'Annaba. Mlle. **Amel HAMDANI**, pour leurs aides et encouragements.*

*Je voudrais attribuer mes remerciements à **Jean-François Ferveur**. Directeur de Recherche, CNRS Université de Bourgogne. de m'avoir accepté au sein de son laboratoire pendant mes deux stages afin de réaliser mes expériences sur la drosophile.*

*Je ne pourrais jamais assez remercier **Jean-Pierre FARJNE**. Chargé de Recherche, CNRS Université de Bourgogne. Merci de m'avoir accordé de votre temps pour la réalisation d'une grande partie de ce travail.*

*Un très grand merci à **Claude Everaerts**. Chargé de Recherche, CNRS Université de Bourgogne. Pour son soutien et pour son aide lors de mes premiers travaux sur la drosophile. Ce fut un très grand plaisir de vous connaître.*

Merci au reste de l'équipe de l'UMR CNRS 5548 pour leur accueil et leurs conseils.

Je souhaiterais exprimer également ma reconnaissance à Monsieur le Professeur SMAGGHE G. du Laboratoire d'Agrozoologie- Université de Gand, Belgique. Pour m'avoir fourni le spiromesifen. Je remercie également l'équipe de la firme Bayer CropScience Algérie.

Je réserve un remerciement spécial à mes très chers parents, Maman et Papa à qui, j'ai eu la possibilité de faire des études supérieures. Ces quelques lignes ne suffisent pas, mais je tiens à leur exprimer ma reconnaissance éternelle. Ces travaux de recherche n'auraient jamais vu le jour sans l'appui moral et intellectuel de mes sœurs Hakima, Nassima, Beya, Wassila, Farida et mon frère Mourad.

À

Hassanine

Maya et Dalia

SOMMAIRE

	Page
1. INTRODUCTION	1
2. MATERIEL ET METHODES	6
2.1. <i>Drosophila melanogaster</i>	6
2.2. Conditions d'élevage	9
2.3. Présentation de l'insecticide	9
2.4. Tests toxicologiques	10
2.5. Croissance pondérale et durée de développement	11
2.6. Suivi de la génération F1	11
2.7. Extraction et dosage des constituants biochimiques	11
2.7.1. Dosage des protéines totales.....	12
2.7.2. Dosage des glucides totaux.....	12
2.7.3. Dosage des lipides totaux.....	13
2.8. Extraction et dosage du malondialdéhyde	15
2.9. Etude morphométrique	16
2.10. Extraction et dosage des protéines ovariens	16
2.11. Analyse électrophorétique des protéines ovariennes	16
2.12. Détermination de la durée du développement et du potentiel reproducteur ..	19
2.13. Extraction et analyse des hydrocarbures cuticulaires	19
2.14. Analyse statistique des données	20
3. RESULTATS	
3.1. Essai insecticide à l'égard des pupes	21
3.2. Impact du spiromesifen sur la croissance et le développement	25
3.2.1. Croissance pondérale.....	25
3.2.2. Durée de développement nymphal.....	27
3.3. Suivi de la génération F1	28
3.4. Composition biochimique des pupes	29
3.4.1. Taux de lipides totaux corporels.....	29
3.4.2. Taux de glucides totaux corporels.....	31
3.4.3. Taux de protéines totales corporelles.....	33

3.5. Effet sur le taux de malondialdéhyde	35
3.6. Effet sur la biométrie de l’ovaire.....	37
3.7. Effet sur les protéines ovariennes.....	41
3.7.1. Taux des protéines ovariennes.....	41
3.7.2. Analyse électrophorétique des protéines ovariennes.....	42
3.8. Effet sur le développement de la descendance et la reproduction.....	45
3.8.1 Effet du spiromesifen sur le développement.....	45
3.8.2. Effet sur le potentiel reproducteur.....	46
3.9. Analyse des hydrocarbures cuticulaires.....	48
3.9.1. Effet du spiromesifen sur les femelles.....	48
3.9.2. Effet du spiromesifen sur les mâles.....	48
3.9.3. Comparaison entre les femelles et les mâles.....	49
4. DISCUSSION.....	53
4.1. Toxicité à l’égard des pupes.....	53
4.2. Impact sur la croissance et le développement.....	55
4.3. Impact sur la composition biochimique des pupes.....	56
4.4. Impact sur le taux de malondialdéhyde.....	59
4.5. Impact sur la morphométrie de l’ovaire.....	59
4.6. Impact sur les protéines ovariennes.....	60
4.7. Impact sur le potentiel reproducteur.....	61
4.8. Impact sur les hydrocarbures cuticulaires.....	62
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	67
RESUMES.....	69
Français.....	69
Anglais.....	70
Arabe.....	71
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	72
ANNEXE : PRODUCTIONS SCIENTIFIQUES	

Liste des tableaux

Tableau 1 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.	12
Tableau 2 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.	13
Tableau 3 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.	13
Tableau 4 : Composition du gel de concentration et du gel de séparation.	17
Tableau 5 : Composition du tampon d'échantillon.	18
Tableau 6 : Composition du tampon de migration.	18
Tableau 7 : Poids moléculaire des protéines standard (référence 161-0373, Bio-Rad, France)	18
Tableau 8 : Composition de la solution de coloration.	19
Tableau 9 : Composition de la solution décolorante.	19
Tableau 10 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) administré <i>in vivo</i> par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de <i>D. melanogaster</i> , sur le taux de mortalité observée ($m \pm \text{SD}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).	21
Tableau 11 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) administré <i>in vivo</i> par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de <i>D. melanogaster</i> , sur le taux de mortalité ($m \pm \text{SD}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).	22
Tableau 12 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) administré <i>in vivo</i> par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de <i>D. melanogaster</i> . Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{SD}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).	22
Tableau 13 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) administré <i>in vivo</i> par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de <i>D. melanogaster</i> . Analyse de la variance des données transformées. ($m \pm \text{SD}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).	22
Tableau 14 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) administré <i>in vivo</i> par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de <i>D. melanogaster</i> . Transformation en probits des mortalités corrigées. ($m \pm \text{SD}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).	23

Tableau 15 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) administré <i>in vivo</i> par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de <i>D. melanogaster</i> , sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en logarithmes décimaux. ($m \pm \text{SD}$, $n= 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).	23
Tableau 16 : Efficacité du spiromesifen administré <i>in vivo</i> par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de <i>D. melanogaster</i> , analyse des probits (IC: intervalle de confiance).	23
Tableau 17 : Toxicité du spiromesifen administré <i>in vivo</i> par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de <i>D. melanogaster</i> : détermination des concentrations létales et sublétales et létales (Logiciel GraphPad Prism).	24
Tableau 18 : Evolution du poids des pupes de <i>D. melanogaster</i> au cours du développement nymphal ($m \pm \text{SD}$; $n= 5$ répétitions chacune correspondant au poids d'une puce. Pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même âge, les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).	26
Tableau 19 : Analyse de la variance à deux critères de classification (âge, traitement) des données sur le poids des pupes de <i>D. melanogaster</i> .	26
Tableau 20 : Durée du développement nymphal (jours) de <i>D. melanogaster</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$ répétitions de 20 - 26 pupes chacune ; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).	27
Tableau 21 : Suivi de la génération F1 issue des croisements entre parents issus de pupes traitées ($m \pm \text{SD}$; $n= 10$ couples pour chaque série; pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même sexe les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).	28
Tableau 22 : Analyse de la variance à deux critères de classification (sexe, traitement) des données sur le nombre d'adultes émergés de <i>D. melanogaster</i> .	29

- Tableau 23 :** Taux de lipides totaux corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$; $n= 5$ répétitions chacune correspondant à un pool de 4 pupes ; pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même âge, les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$). **30**
- Tableau 24 :** Analyse de la variance à deux critères de classification (âge, traitement) des données sur le taux de lipides corporels totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les pupes de *D. melanogaster*. **30**
- Tableau 25 :** Taux de glucides corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$; $n= 5$ répétitions chacune correspondant à un pool de 4 pupes ; pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même âge les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$). **32**
- Tableau 26 :** Analyse de la variance à deux critères de classification (âge, traitement) des données sur le taux de glucides corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les pupes de *D. melanogaster*. **32**
- Tableau 27 :** Taux de protéines corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$; $n= 5$ répétitions chacune correspondant à un pool de 4 pupes ; pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même âge les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$). **34**
- Tableau 28 :** Analyse de la variance à deux critères de classification (âge, traitement) des données sur le taux de protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les pupes de *D. melanogaster*. **34**
- Tableau 29 :** Taux de MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les pupes de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$; $n= 6$ répétitions chacune correspondant à un lot de 4 pupes; pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même âge, les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$). **36**

Tableau 30 : Analyse de la variance à deux critères de classification (âge, traitement) des données sur le taux de MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) des pupes de <i>D. melanogaster</i> .	36
Tableau 31 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\text{pupe}$) administré par application topique à l'exuviation nymphale de <i>D. melanogaster</i> sur la biométrie de l'ovaire ($m \pm \text{SD}$, $n = 10$).	38
Tableau 32 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\text{pupe}$) administré par application topique à l'exuviation nymphale de <i>D. melanogaster</i> sur le taux de protéines ovariennes ($m \pm \text{SD}$, $n = 10$; ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu)).	41
Tableau 33 : Analyse de la variance à un critère de classification (traitement) des données sur le taux de protéines ovariennes de <i>D. melanogaster</i> .	42
Tableau 34 : Poids moléculaire et mobilités relatives des fractions protéiques des protéines standards (référence 161-0373, Bio-Rad, France).	42
Tableau 35 : Poids moléculaire (PM, kDa) des différentes fractions protéiques des ovaires de <i>D. melanogaster</i> femelles âgées de 4 jours traité par le spiromesifen aux doses sublétales CL_{10} et CL_{25} .	45
Tableau 36: Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\text{pupe}$) administré par application topique à l'exuviation nymphale de <i>D. melanogaster</i> sur la durée du développement des stades larvaire et nymphal ($m \pm \text{SD}$, $n = 6$ couples ; pour un même stade, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes $p > 0,05$).	46
Tableau 37 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\text{pupe}$) administré par application topique à l'exuviation nymphale de <i>D. melanogaster</i> sur le potentiel reproducteur ($m \pm \text{SD}$, $n = 6$ couples; pour un même stade les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$. Tandis que pour les différents sexes, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).	47
Tableau 38 : Effet du spiromesifen sur les HCs des femelles ($m \pm \text{SEM}$; $\text{ng}/\text{femelle}$; $\%/ \text{femelle}$; pour un même composé, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).	50
Tableau 39 : Effet du spiromesifen sur les HCs des mâles ($m \pm \text{SEM}$; $\text{ng}/\text{mâle}$; $\%/ \text{mâle}$; pour un même composé, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).	52

Liste des figures

- Figure 1.** Schéma montrant le dimorphisme sexuel de la patte thoracique. On note la présence du peigne et des nombreuses soies gustatives chez le mâle (flèches) (D'après [Possidente & Murphey, 1989](#)). 7
- Figure 2.** Cycle de développement de *D. melanogaster*. Le temps de génération est d'environ 10 jours à 25°C, avec environ 1 jour d'embryogénèse, 1 jour en premier stade larvaire, 1 jour en second stade larvaire, 3 jours en troisième stade larvaire, et 5 jours en stade pupal (Source: *FlyMove*, <http://flymove.uni-muenster.de/Genetics/Flies/GeneFliespage.html>). 8
- Figure 3.** Formule de structure du spiromesifen ([Shaoyong et al., 2010](#)). 10
- Figure 4.** Extraction des glucides, protéines et lipides totaux selon [Shibko et al. \(1966\)](#). 14
- Figure 5.** Droite de régression exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations (R^2 : coefficient de détermination). 24
- Figure 6.** Toxicité du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en application topique sur des pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster* (**Logiciel GraphPad Prism**). 25
- Figure 7.** Evolution du poids (mg) d'une pupe au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$; $n = 5$; pour un même âge, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$). 27
- Figure 8.** Nombre d'adultes issus de couples de *D. melanogaster* traités au stade nymphal ($m \pm \text{SD}$, $n = 10$ couples; pour une même série, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$). 29
- Figure 9.** Evolution du taux de lipides totaux corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$, $n = 5$ répétitions de groupes de 4 pupes chacun; pour un même âge, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$) (Les séries traitées au jour zéro ont été dosées 6 heures après). 31

- Figure 10.** Evolution du taux de glucides corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$, $n = 5$ répétitions de groupes de 4 pupes chacun; pour un même âge les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$) (Les séries traitées au jour zéro ont été dosées 6 heures après). **33**
- Figure 11 .** Evolution du taux de protéines corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$, $n = 5$ répétitions de groupes de 4 pupes chacun; pour un même âge les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$) (Les séries traitées au jour zéro ont été dosées 6 heures après). **35**
- Figure 12.** Effet du spiromesifen sur le taux de MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$, $n = 6$ répétitions de groupes de 4 pupes; pour un même âge les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$). **37**
- Figure 13 .** Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\text{pupe}$) administré par application topique chez les pupes de *D. melanogaster* sur la biométrie de l'ovaire des femelles âgées de 4 jours: poids des ovaires (**A**); nombre d'ovocytes par paire d'ovaires (**B**) ; longueur de l'ovocyte basal (**C**) ; largeur de l'ovocyte basal (**D**) ; volume de l'ovocyte basal (**E**) ($m \pm \text{SD}$; $n = 10$). **40**
- Figure 14 .** Effet du spiromesifen sur le taux des protéines ovariennes ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *D. melanogaster* après traitement des pupes ($m \pm \text{SD}$; $n = 10$). **41**
- Figure 15 .** Courbe de référence exprimant le logarithme décimal du poids moléculaire (KDa) des protéines standards en fonctions de leurs mobilités relatives (**a** : Bovine serum albumin; **b** : Ovalbumin ; **c** : Bovine carbonic anhydrase ; **d** : Soybean trypsin inhibitor ; **e** : Lysozyme). **43**

- Figure 16.** Séparation électrophorétique sur PAGE-SDS (12,5%) des protéines ovariennes de *D. melanogaster* âgées de 4 jours après traitement des pupes nouvellement exuviées. **A** : protéines standards (**a** : Bovine serum albumin (BSA) ; **b** : Ovalbumin ; **c** : Bovine carbonic anhydrase ; **d** : Soybean trypsin inhibitor ; **e** : Lysozyme) ; **T** : femelles témoins ; **CL₁₀** : femelles traitées à la dose sublétales CL₁₀ ; **CL₂₅** : femelles traitées à la dose sublétales CL₂₅. (Tête flèche : Position des bandes manquantes). **44**
- Figure 17.** Profil des hydrocarbures cuticulaires chez les femelles adultes de *D.melanogaster*. **51**
- Figure 18.** Profil des hydrocarbures cuticulaires chez les mâles adultes de *D.melanogaster*. **51**
- Figure 19.** Séquences des comportements pendant la parade sexuelle d'un mâle de drosophile. La séquence comportementale est sous le contrôle des interactions chimiques entre les deux partenaires. La légende à gauche correspond aux hydrocarbures cuticulaires (phéromones sexuelles) produits par les partenaires et celle de droite à leurs effets sur le comportement au cours des différentes phases de la parade. Source: Everaerts C., CNRS UMR 5548 ([Chabaud, 2008](#)). **65**

1. INTRODUCTION

Le développement économique implique une augmentation de la productivité agricole pour satisfaire les besoins alimentaires grandissants des populations (Altieri 1999 ; Altieri & Nicholls, 2004), tout en préservant la santé publique par la lutte contre les vecteurs de diverses maladies parasitaires (Zaim & Guillet, 2002 ; Ramade, 2005) et l'environnement (Paoletti & Pimentel, 2000).

Un immense effort est actuellement accompli à l'échelle mondiale pour lutter contre les insectes nuisibles par plusieurs méthodes, qu'elles soient physiques, biologiques ou chimiques. En effet, la perte de production mondiale relative aux ravageurs arthropodes est estimée à 15% (Pimentel, 2008) ; de plus, les pertes post-récolte en Afrique subsaharienne serait de 4 milliards de dollars par an pour une production totale annuelle évaluée à 27 milliards de dollars (moyenne annuelle 2005-2007) (FAO, 2011).

Face à ces menaces l'homme fait appel à l'utilisation intensive d'insecticides conventionnels pour contrer rapidement la nuisance que représente les insectes sur la productivité alimentaire (Oerke, 2006), ou encore l'invasion de mauvaises herbes (Matson *et al.*, 1997). Cependant, les signes évidents de toxicité et les conséquences néfastes de l'usage massif de pesticides conventionnels ne sont plus à prouver, puisqu'il cause des dommages à l'environnement, à la santé humaine et entraîne une perte d'efficacité liée au développement de résistance des insectes et des pertes économiques (Eriksson *et al.*, 1992 ; Snedeker, 2001 ; Den Hond & Schoeters, 2006 ; Schoeters & Hoogenboom, 2006 ; Bonde *et al.*, 2008 ; Ekström & Ekbohm 2011).

A cet effet, les problèmes de toxicité et de neurotoxicité qui sont associés à l'utilisation de certains organochlorés, organophosphorés, les pyréthriinoïdes et autres carbamates (Strong *et al.*, 2000 ; Colborn, 2006 ; Grandjean & Landrigan, 2006) entraînent de graves déséquilibres

dans le milieu (pollution des eaux, contamination du sol et de l'air) (Regnault-Roger, 2002 ; Gueye *et al.*, 2011), ou encore, l'érosion des sols, l'accumulation de résidus toxiques dans les produits récoltés (Norman, 2000 ; Snedeker, 2001 ; Den Hond & Schoeters, 2006 ; Schoeters & Hoogenboom, 2006 ; Bonde *et al.*, 2008). En outre, on signale la perte massive de la biodiversité liée à l'usage des insecticides à large spectre (Denys & Tschamntke 2002 ; Gabarra, 2002 ; Altieri & Nicholls, 2004 ; Bianchi *et al.*, 2006), ainsi que l'impact sur les organismes auxiliaires (Stark & Banques, 2003 ; Desneux *et al.*, 2007). Ces pesticides agissent sur plusieurs systèmes physiologiques (croissance, reproduction et métabolisme) chez les organismes non visés (Gagné *et al.*, 2008). L'usage intensif de ces produits provoque également le développement de formes résistantes de ravageurs vis à vis de différents types d'insecticides (Boyer, 2006 ; Brévault *et al.*, 2009 ; Yang *et al.*, 2009 ; Toma *et al.*, 2011 ; Carvalho *et al.*, 2013) qui sont aussi neurotoxiques sur les vertébrés (Mathew & Thanuja, 2008 ; Timothy, 2012) ainsi que sur les organismes aquatiques (De Groot, 2004).

Certains effets nocifs des pesticides sont liés à une perturbation du développement du système nerveux de la population humaine (les embryons, fœtus et enfants) même en concentration très faible dite concentration environnementale (Costa *et al.*, 2004 ; Colborn, 2006 ; Grandjean & Landrigan, 2006 ; Bjorling-Poulsen *et al.*, 2008). Il a été estimé que 12 millions d'enfants, rien qu'aux Etats-Unis, qui souffrent de troubles de l'apprentissage, d'altérations neuro-développementales et comportementales liées à une exposition à différents produits chimiques et le coût sanitaire s'élèverait à 50 milliards de dollars (Costa *et al.*, 2004).

Suite à ces conséquences néfastes la recherche a élaboré d'autres méthodes alternatives aux insecticides classiques (kim *et al.*, 2000) et a conduit au développement et l'utilisation de nouvelles molécules sélectives et à faibles risques écotoxicologiques (Grafton-Cadwell *et al.*, 2005 ; Dhadialla *et al.*, 2010 ; Hui *et al.*, 2013), dégradables et moins toxiques pour les organismes non visés (Kostyukovsky *et al.*, 2000) ; ou encore, plus spécifiques utilisant les paramètres biologiques, physiologiques et biochimiques des organismes vivants, tant à l'échelle du simple individu que des écosystèmes entiers. Ces alternatives sont venues combler les lacunes inhérentes aux analyses strictement chimiques (Kaiser, 2001 ; Markert *et al.*, 2003 ; Daby, 2006).

L'insecticide/acaricide spiromesifen découvert par Bayer CropScience (Allemagne) au cours des années 1990 a un mode d'action spécifique soit l'inhibition de la biosynthèse des lipides chez les insectes nuisibles (Nauen *et al.*, 2002 ; Liu 2004 ; Elbert *et al.*, 2005 ; Nauen *et al.*, 2005 ; ARLA, 2007) et est recommandé dans les programmes de gestion et de surveillance de la résistance aux insecticides (Guthrie *et al.*, 2003 ; Horowitz & Ishaaya, 2004 ; Nauen & Konanz, 2005 ; Ishaaya & Horowitz, 2007) tout en respectant davantage l'environnement (Nicolaus *et al.*, 2005 ; Sharma *et al.*, 2007). En effet, le taux de dégradation dans le sol est signalé entre 3-18 jours et dans l'eau ou les sédiments à 4-11 jours (Babczynski & Arthur, 2005). Ce nouveau produit a une faible toxicité pour les arthropodes non ciblés (Nicolaus *et al.*, 2005) comme les abeilles (Nauen *et al.*, 2002 ; Nicolaus *et al.*, 2005) et les bourdons (Bielza *et al.*, 2005), ainsi que chez les mammifères (Dekeyser, 2005), avec une dose journalière admissible de 0,022 mg/Kg (Sharma *et al.*, 2007). Ce produit est actuellement homologué en Algérie pour un usage sur les plantes ornementales, légumières et fruitières cultivées sous serre et en plain champ sous le certificat n° 0644250 (www.algeria.bayercropscience.com).

Ce pesticide a déjà fait l'objet d'un travail concernant la toxicité, l'activité des biomarqueurs et des constituants biochimiques ainsi que sur la morphométrie de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* au niveau du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée (Bouabida, 2014). Le spiromesifen est surtout actif contre les aleurodes et de nombreuses espèces d'acariens après application foliaire y compris les populations d'acariens résistants à d'autres insecticides (Nauen *et al.*, 2002 ; Bretschneider *et al.*, 2003 ; Liu, 2004 ; Elbert *et al.*, 2005 ; Nauen *et al.*, 2005 ; Bretschneider *et al.*, 2007) en laboratoire également sur *Bemisia tabaci* (Prabhaker, 2008) ou encore, *Tetranychus urticae* (Mar i , 2010). D'autres études réalisées en laboratoire et sur terrain ont permis d'évaluer les effets secondaires du spiromesifen sur *Eretmocerus mundus* (Hyménoptères, Aphelinidae) et *Orius laevigatus* (Hemiptera, Anthocoridae) (Pablo *et al.*, 2009). De plus, il est devenu utile pour la gestion de la résistance aux insecticides dans de nombreuses cultures comme le coton, le thé, les légumes, les fruits ou les plantes ornementales (Nauen *et al.*, 2002 ; Weber, 2005 ; Sharma *et al.*, 2007).

Nombre de découvertes biologiques nécessitent une validation sur un modèle. Or, il existe de nombreuses limitations éthiques, pratiques et financières à la recherche sur des modèles animaux, notamment sur les mammifères. L'espèce *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) est un modèle biologique très apprécié depuis près d'un siècle (Sturtevant, 1915) et l'organisme complexe le plus étudié à l'heure actuelle par les scientifiques du monde entier, utilisé pour la recherche en biologie, en particulier dans les domaines de la génétique et du développement (Gehring, 1999). En effet, sa survie, son métabolisme et son développement embryonnaire dépendent de mécanismes biologiques fondamentaux qui existent aussi chez les mammifères, dont l'Homme. Depuis le début du XXe siècle, la drosophile constitue ainsi un modèle expérimental aux nombreux avantages pour étudier le vivant. Ceci est en partie lié aux facilités d'élevage associées à un cycle de vie court, une descendance nombreuse, des embryons et des organes accessibles, un petit nombre de chromosomes, un génome séquencé depuis plus de 10 ans (Adams *et al.*, 2000) et qui permet l'utilisation de nombreux outils moléculaires (Duffy, 2002). Petite par sa taille, elle a cependant été à l'origine de grandes avancées scientifiques. En effet, la drosophile possède environ 75% d'homologie génétique avec l'homme pour les gènes responsables de maladies (Reiter *et al.*, 2001); elle est maintenant utilisée comme modèle de référence de maladies humaines ayant un lien avec la génétique, comme c'est le cas pour les maladies de Parkinson, de Huntington, d'Alzheimer, le cancer et les retards mentaux (Didelot, 2006). Cette espèce est également utilisée dans l'étude de la virulence bactérienne et de la réponse immunitaire (Lorec, 2013); elle permet aussi d'appréhender des questions scientifiques à bien d'autres niveaux biologiques comme le comportement, la reproduction, les relations avec les autres espèces ou bien encore l'adaptation à l'environnement (Joly, 2006). En effet, la drosophile est capable d'exprimer une grande variété de comportements complexes, car elle peut révéler différentes formes de mémoires associatives (DeZazzo & Tully, 1995) sous le contrôle de gènes et de structures spécifiques (Isabel *et al.*, 2004).

Mes recherches réalisées au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, concernent l'évaluation de l'activité biologique du spiromesifen en rapport avec la reproduction, la biochimie et le comportement chez ce modèle de référence, la mouche *D. melanogaster*. Ainsi, plusieurs aspects ont été envisagés. La première partie de la présente étude vise à déterminer en conditions contrôlées de laboratoire les paramètres toxicologiques du spiromesifen en application topique à l'égard des pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster*. La

seconde partie concerne l'évaluation des effets de deux concentrations sublétales (CL₁₀ et CL₂₅) sur le développement, la biochimie et la physiologie de la drosophile : durée du développement et la croissance pondérale des pupes, suivi de la descendance; taux des principaux constituants biochimiques corporels et les taux de malondialdéhyde (MDA), un biomarqueur de la peroxydation lipidique (Zielinski & Pörtner, 2000). Une troisième partie sera consacrée aux ovaires avec la détermination des différents paramètres morphométriques, les taux de protéines ovariennes et ainsi que leur analyse électrophorétique. Une quatrième partie abordera l'impact du traitement sur le potentiel reproducteur de *D. melanogaster* . Enfin, dans une dernière partie, l'analyse par chromatographie en phase gazeuse des hydrocarbures cuticulaires sera abordée chez les adultes de drosophiles témoins et traités sachant leur rôle dans la communication chimique (Masson & Brossut, 1981 ; Ha & Smith, 2006).

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. *Drosophila melanogaster*

La drosophile est connue sous le nom de « mouche de vinaigre » pour son attirance envers les produits fermentés (Mc Kenzie, 1974 ; Mc Kenzie & Mc Kechnie, 1979 ; Hoffmann & Parsons, 1991). Elle a une alimentation très variée, se nourrissant sur les fruits et légumes mûrs, les végétaux et champignons en décomposition et les liquides fermentés et sucrés (Tracqui & Demongeot, 2003). Cet insecte holométabole, hygrophile et lucicole de couleur jaune brunâtre pèse environ 0,5 mg et mesure 3 à 4 mm de long, ailes incluses (Gilbert, 1996 ; Slack, 2004). Son abdomen est plutôt court et rayé de bandes sombres, elle présente un dimorphisme sexuel ; son extrémité est foncée et arrondie chez le mâle, plus claire et pointue chez la femelle. Le mâle se distingue aussi par sa plus petite taille et par la présence de « peignes sexuels » sur ses pattes avant (Fig. 1). La position systématique de *D. melanogaster* est la suivante :

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Sous- embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Sous-classe	Pterygota
Infraclasse	Neoptera
Ordre	Diptera
Sous- ordre	Brachycera
Infra- ordre	Muscomorpha
Famille	Drosophilidae
Sous- famille	Drosophilinae
Genre	<i>Drosophila</i>
Espèce	<i>Drosophila melanogaster</i> (Meigen, 1830)

Les drosophiles utilisées pour l'ensemble des expérimentations sont des mouches Canton-S (CS), offertes en 2011 par Jean-François FERVEUR (Centre des Sciences du Goût et l'Alimentation, Université de Bourgogne, Dijon, France).

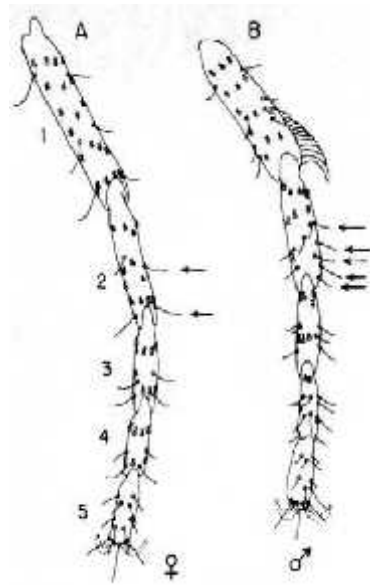


Figure 1. Schéma montrant le dimorphisme sexuel de la patte thoracique. On note la présence du peigne et des nombreuses soies gustatives chez le mâle (flèches) (D'après [Possidente & Murphey, 1989](#)).

Le cycle de reproduction de la drosophile varie en fonction de la température et dure environ 12 jours à 25°C. Après l'accouplement, la femelle pond sur le milieu, en général des fruits blessés ([Griffiths et al., 2002](#) ; [Tavernier & Lizeaux, 2002](#)), une centaine d'œufs allongés et blanchâtres d'environ 0,5 mm de long. Le stade embryonnaire dure 24h. Après l'éclosion, la drosophile apparaît sous forme d'une larve blanchâtre et commence immédiatement à se nourrir. Le développement larvaire comprend trois stades ponctué par 2 mues successives (à 24h et à 48h) et est caractérisé par une forte activité alimentaire. A la fin du 3^{ème} stade larvaire, elle cesse de se nourrir, quitte le milieu nutritif, s'immobilise et se transforme en pupa. Elle subit alors une métamorphose complète qui dure environ 5 jours, transformant progressivement son organisme larvaire en un individu adulte (Fig. 2). A l'émergence, l'imago recommence à s'alimenter, il passe encore par une phase de 8h d'immaturité où son système nerveux finit de se développer, puis le nouvel adulte devient sexuellement mature et s'engage dans la reproduction. La durée de vie de la drosophile est de 30 jours environ ([Lorec, 2013](#)).

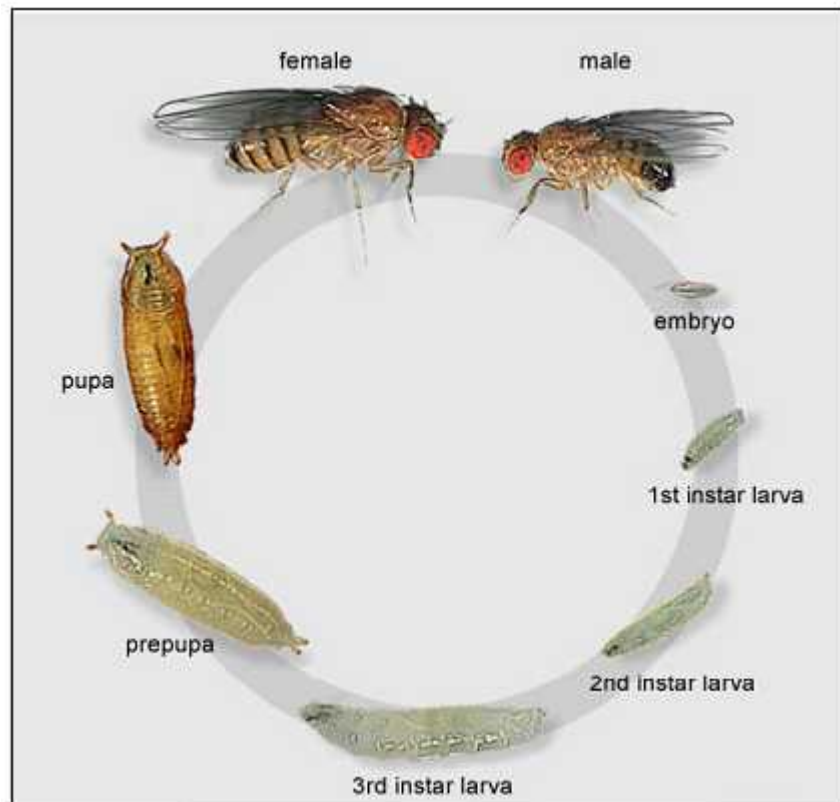


Figure 2. Cycle de développement de *D. melanogaster*. Le temps de génération est d'environ 10 jours à 25°C, avec environ 1 jour d'embryogénèse, 1 jour en premier stade larvaire, 1 jour en second stade larvaire, 3 jours en troisième stade larvaire, et 5 jours en stade pupal (Source: FlyMove, <http://flymove.uni-muenster.de/Genetics/Flies/GeneFliespage.html>).

2.2. Conditions d'élevage

Les drosophiles sont maintenues au laboratoire dans des étuves à 25°C sous une photopériode de 12 heures de jour (de 7h du matin à 19h) et 12 heures de nuit avec un taux d'humidité relative de 70%. Les mouches sont élevées dans des tubes en plastiques (9,5 x 2,5 cm) contenant du milieu nutritif standard [farine de maïs (33,33 g), de levure (33,33 g), d'agar-agar (4,8 g) et d'antifongique (25 ml de méthyl-hydroxy-4-benzoate à 10 % dans l'éthanol 95%)] nécessaire pour la ponte, le développement et l'alimentation des larves et adultes.

Pour la préparation du milieu nutritif, on met dans une cocotte tous les produits secs et on ajoute le volume nécessaire d'eau tiède en remuant à la spatule pour éviter les grumeaux. Faire chauffer la plaque en remuant jusqu'à ce que le milieu s'épaississe. A la fin, on laisse refroidir quelques minutes et on ajoute l'antifongique progressivement. Pour le coulage du milieu, on remplit les tubes en mettant 5 ml de milieu dans le fonds des tubes. Ensuite, on les protège avec de la gaze pendant 24h à température ambiante avant de remettre les bouchons en mousse.

2.3. Présentation de l'insecticide

Le spiromesifen (Oberon® 240 SC : solution concentrée) a été aimablement fourni par Pr. G. SMAGGHE (Université de Gent, Belgique). C'est le nom commun du 3,3-diméthylbutyrate de 3-mésityl-2-oxo-1-oxaspiro[4.4] non-3-en-4-yle, sa formule brute est $C_{23}H_{30}O_4$ et sa masse moléculaire est de 370,48g (Fig. 3). C'est un nouveau insecticide/acaricide systémique dérivé des acides tétroniques spirocyliques, doté d'un mode d'action unique, l'inhibition de la synthèse des lipides en empêchant la biosynthèse de leurs acides gras.

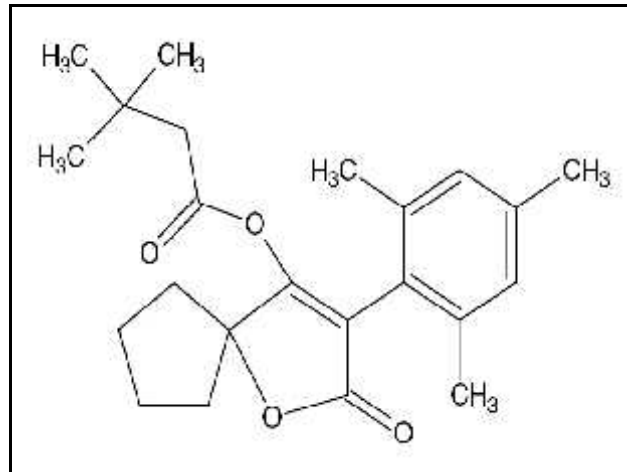


Figure 3. Formule de structure du spiromesifen (Shaoyong *et al.*, 2010).

2.4. Tests toxicologiques

Afin de caractériser l'efficacité du spiromesifen à l'égard des pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster*, il est nécessaire de déterminer les paramètres de létalité. Le produit a été administré par application topique sur les pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster* à raison d'1 µl de matière active dilué dans un mélange acétone/eau (50/50). Plusieurs concentrations (25, 50, 75, 100, 125, 150 et 200 µg/µl) ont été testées. Les pupes témoins reçoivent 1µl de solvant seul (acétone/eau : 50/50). La mortalité est enregistrée jusqu'au premier jour de l'émergence des adultes. Les tests de toxicité sont réalisés dans des boîtes de Pétri avec 3 répétitions comportant chacune 30 pupes. Après émergence des adultes, la mortalité des individus est enregistrée et le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle.

Les pourcentages de mortalités corrigées subissent une transformation angulaire selon Bliss (1938), cité par Fisher & Yates (1957). Les données normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification. Les mortalités corrigées obtenues permettent d'établir une courbe des probits en fonction des logarithmes décimaux des doses. Les pourcentages se convertissent en leurs probits (Fisher & Yates, 1957). Le logarithme décimal des concentrations de létalité de l'exuviation adulte (CL₅₀ et CL₉₀) sont déterminés à partir des droites de régression selon le procédé mathématique de Finney (1975). Les intervalles de confiances sont ensuite calculés selon la méthode de Swaroop *et al.* (1966) avec une probabilité de 95%.

La régression non linéaire exprimant le pourcentage de létalité corrigée en fonction du logarithme de la concentration a permis également d'estimer les concentrations létales ainsi que les concentrations sublétales utilisées dans cette étude (CL₁₀ et CL₂₅). Les calculs sont effectués à l'aide du logiciel GraphPad prism version 6.01 (GraphPad software, La Jolla California, U.S.A.).

2.5. Croissance pondérale et durée de développement

Deux concentrations sublétales du spiromesifen (CL₁₀: 21,45 µg/pupe et CL₂₅: 39,53 µg/pupe) déterminées précédemment ont été administrées par application topique sur les pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster* en raison de 1 µl par pupa. Les pupes témoins reçoivent 1 µl du solvant seul (acétone/eau : 50/50). Le poids des pupes a été mesuré quotidiennement durant toute la durée du développement nymphal sur 5 groupes comportant chacun 4 pupes. La durée du développement nymphal des pupes témoins et traitées a été déterminée en enregistrant le nombre d'adultes émergés quotidiennement avec des relevés le matin et en fin de journée.

2.6. Suivi de la génération F1

Les adultes nouvellement émergés issus des séries témoins et traitées (CL₁₀ et CL₂₅) ont été prélevés, séparés selon leur sexe et placés dans des tubes d'élevage d'une hauteur de 9,5 cm et d'un diamètre de 2,5 cm, contenant un milieu nutritif. Dix couples de drosophiles pour chaque série ont été élevés dans les mêmes conditions que l'élevage cité précédemment. Le dénombrement d'adultes ayant émergé dans chaque tube est réalisé toutes les 24 heures.

2.7. Extraction et dosage des constituants biochimiques

Les pupes témoins et traitées aux deux concentrations sublétales (CL₁₀ et CL₂₅) ont été prélevées chaque jour au cours de leur développement et conservées par lot de 4 individus dans 1 ml de TCA (acide trichloracétique) à 20%. L'extraction des principaux constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) a été réalisée sur les échantillons correspondants à des groupes de 4 pupes avec 5 répétitions selon le procédé de [Shibko *et al.*, \(1966\)](#) (Fig. 4). Après une homogénéisation aux ultra-sons, puis centrifugation (5000 tours/min à 4°C pendant 10 min), le surnageant I obtenu servira pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de

Duchateau & Florkin (1959). Le culot I est ensuite récupéré dans 1 ml d'un mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 tours/min pendant 10 min), on obtient le surnageant II qui sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldsworthy *et al.*, 1972) tandis que le culot II dissout dans la soude (0,1 N), servira pour la quantification des protéines selon Bradford (1976).

2.7.1. Dosage des protéines totales

Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de Bradford (1976), qui utilise le bleu brillant de coomassie comme réactif (BBC) (G 250, Merck) et l'albumine de sérum de bœuf (BSA) comme standard (Sigma). La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère de BSA (1mg/ml) et du BBC (On homogénéise 100 mg de BBC dans 50 ml d'éthanol 95°, on y ajoute 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% et le tout est complété à 1000 ml avec de l'eau distillée). La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4°C. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme (Tableau 1).

Tableau 1 : Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

2.7.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides a été réalisé selon Duchateau & Florkin (1959). Cette méthode utilise l'antrone comme réactif (150 mg d'antrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose (1 g/l) comme standard (Tableau 2). La méthode consiste à additionner à une fraction aliquote de 100 µl 4 ml de réactif d'antrone. Après chauffage du mélange dans un bain marie (80°C pendant 10 min), une coloration verte se développe. Les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 620 nm.

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

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

2.7.3. Dosage des lipides totaux

Le contenu en lipides corporels totaux est déterminé selon la méthode de [Goldsworthy et al., \(1972\)](#) utilisant le réactif sulfophosphovanillinique (0,38 g de vanilline, 55 ml d'eau distillée, 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%) et une solution mère de lipides à 25 mg/ml (25 mg d'huile de table, 1 ml éther/chloroforme (v/v)) comme standard. Après évaporation des prises aliquotes de 100 µl du surnageant II dans un bain à sec à 40°C pendant environ 20 mn, on additionne 1 ml d'acide sulfurique concentré (96%); les tubes fermés sont agités puis chauffés dans un bain à sec à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, on prélève 200 µl de chaque tube eppendorf qu'on met dans des tubes à essai auxquels on ajoute 2,5 ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique. Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose. La densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. La quantité de lipides est estimée à partir de la droite de régression obtenue après une gamme d'étalonnage (Tableau 3), effectuée à partir d'une solution mère de lipides (prendre 2,5 mg d'huile de tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et ajouter 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V).

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

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V)	100	80	60	40	20	0
Réactif de vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

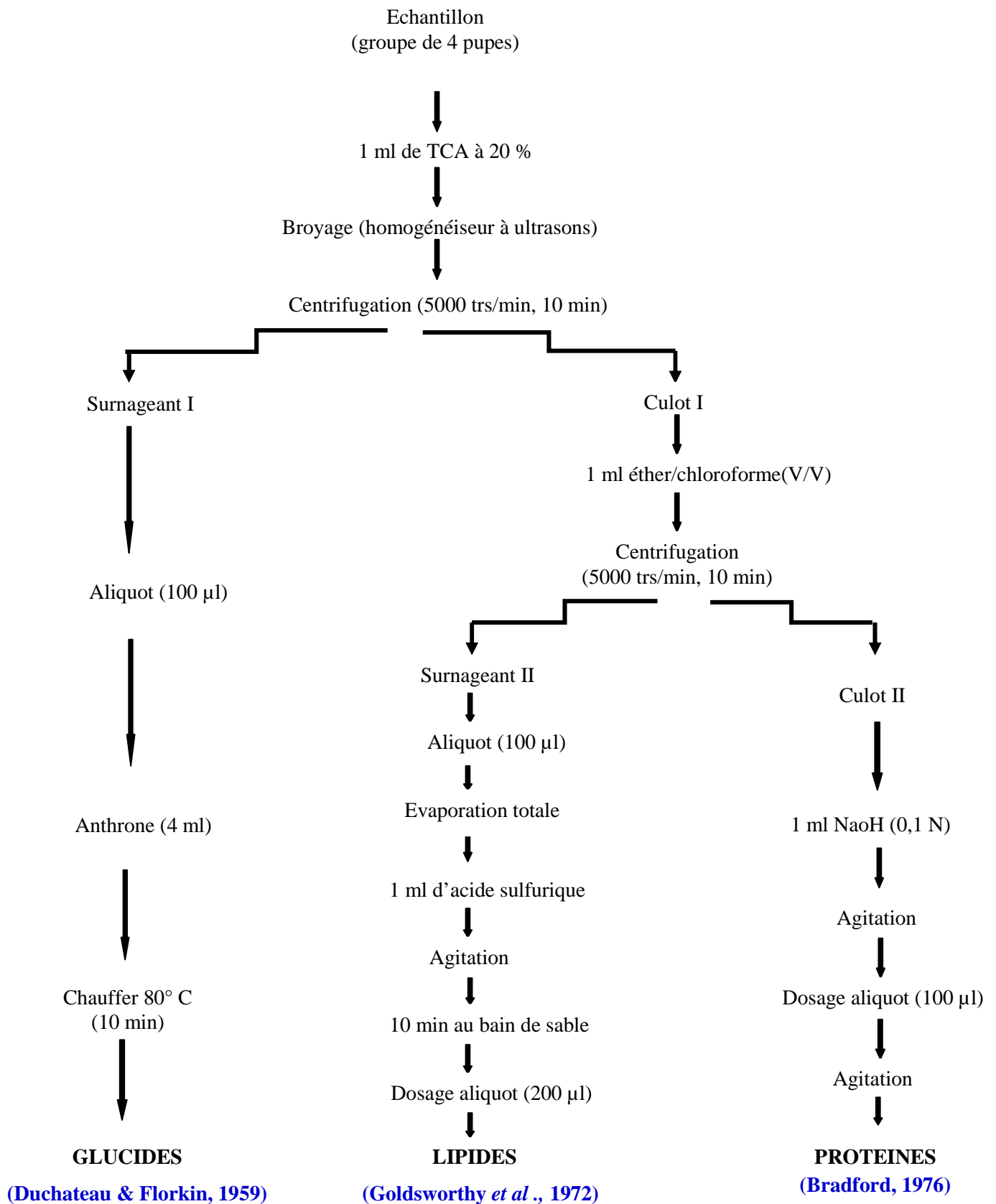


Figure 4. Extraction des glucides, protéines et lipides totaux selon Shibko *et al.*, (1966).

2.8. Extraction et dosage du malondialdéhyde

Les pupes nouvellement exuviées témoins et traitées de *D. melanogaster* sont prélevées à différentes âges (24, 72 heures) de leur développement nymphal. L'essai est conduit avec 5 à 6 répétitions chacune correspondant à un lot de 4 pupes. Les pupes sont broyées aux ultrasons dans 1 ml de tampon tris-HCl (50 mM, pH 7,5) [1,5137g tris, 0,0730 g EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), 42,78 g sucrose, 250 ml eau distillée]. Une fois l'homogénéisation réalisée, une centrifugation est effectuée pendant 10 min à 10000 tours/min et le surnageant récupéré servira au dosage du malondialdéhyde (MDA).

Le dosage est réalisé avec 500 µl du surnageant, additionné de 2,5 ml de TCA (100 g TCA et compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée). Après chauffage au bain marie à 100°C pendant 15 min et refroidissement dans de la glace, une deuxième centrifugation est effectuée à 10000 tours/min pendant 10 min. Une fraction aliquote de 2 ml du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) [6,7 g TBA, 1000 ml eau distillée]. Après un second chauffage (100 °C, 15 min) et refroidissement, 1,5 ml de butanol sont rajoutés. Après agitation, une dernière centrifugation (10000 tours/min, 10 min) est réalisée et le surnageant constitué de 1 ml de butanol renfermant le complexe ATB (acide thiobarbiturique) /MDA est récupéré. Le MDA est dosé selon la méthode de [Draper & Hadley \(1990\)](#). La méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre ATB avec le MDA, composé issu de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires, donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 532 nm contre un blanc (tampon tris-HCl). Le taux de MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$X = [(DO/156) \times (Vt/ Vs)] / \text{mg de protéines}$$

X : Taux du MDA (mM/mg de protéines).

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

156: Coefficient d'extinction molaire de l'ATB (mM⁻¹ cm⁻¹).

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

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

mg de protéines : Quantité de protéines exprimée en mg.

La détermination du taux de MDA nécessite le dosage des protéines réalisé selon la méthode décrite précédemment.

2.9. Etude morphométrique

Après l'émergence des adultes, les femelles âgées de 4 jours (âge de maturité sexuelle) (Everaerts, 2010 ; Farine *et al.*, 2012) sont disséquées sous une loupe binoculaire et les ovaires des séries témoins et traitées sont ainsi prélevés afin de mesurer les différents paramètres morphométriques : le poids, le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires, la longueur (L) et la largeur (l) de l'ovocyte basal. Le volume exprimé en mm³ est obtenu selon la formule de Lumbreas *et al.*, (1991). Pour chaque traitement 10 répétitions ont été réalisées.

$$V = 4/3(L/2)(l/2)^2$$

2.10. Extraction et dosage des protéines ovariens

L'extraction des protéines a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.*, (1966). Les ovaires témoins et traités ont été prélevés 4 jours après l'émergence des femelles et homogénéisés par lots de 2 dans 500 µl d'acide trichloracétique à 20 %. Les protéines ovariennes ont été déterminées selon la méthode de Bradford (1976) en utilisant comme réactif le bleu brillant de coomassie. Les quantités de protéines mesurées ont été exprimées en µg/mg de tissu.

2.11. Analyse électrophorétique des protéines ovariennes

L'étude qualitative des protéines ovariennes a été réalisée par électrophorèse sur mini gel selon la technique de Laemmli (1970). Il s'agit d'une électrophorèse verticale sur gel de polyacrylamide à 30% comprenant le Running gel à 8% et le stacking gel à 4,5% additionné de sodium dodécyl sulfat (SDS) à 10% (Tableau 4).

Tableau 4 : Composition du gel de concentration et du gel de séparation.

Produits	Gel de concentration	Gel de séparation
Acrylamide 30% (ml)	1,50 ml	5,3 ml
Lower gel (ml)	-	5 ml
Upper gel (ml)	2,5 ml	-
SDS 10% (ml)	-	0,2 ml
Sucrose 55% (ml)	-	2,5 ml
Eau distillée (ml)	5,7 ml	6,8 ml
Amonium persulfate 10% (ml)	300 µl	0,2 ml
TEMED (µl)	10 µl	25 µl

C'est une technique de séparation basée sur le fait que des molécules chargées électriquement et placées dans un champ électrique migrent à des vitesses différentes selon leur poids moléculaire, leur configuration, leur concentration ainsi que leurs propriétés amphotères (Lemoine, 1980 ; Maurer, 1991). L'appareil utilisé est composé d'une mini cuve de 8 cm x 7cm destinée à recevoir le tampon de migration, 2 plaques d'alumine blanches opaques, deux plaques de verre, quatre espaceurs de 1,5 mm, quatre pinces servant à attacher les plaques en verre avec les plaques d'alumine, deux peignes pour le moulage des chambres de dépôt et un chapeau avec électrodes.

Après dissection, les ovaires témoins et traités de *D. melanogaster* ont été déposés dans des tubes eppendorff et broyés dans 500 µl d'eau distillée + 1 µl de phenylmethane sulfonylfluoride (PMS). Après centrifugation (5000 tours, 10 min), 100 µl du surnageant ont servi pour le dosage quantitatif des protéines. La quantité des protéines ovariennes a été déterminée selon la méthode de Bradford (1976) en utilisant comme réactif le bleu brillant de coomassie. Les quantités de protéines mesurées ont été exprimées en µg/mg de tissu. Les 400 µl restants ont été mis sous agitation pendant 24 heures. Après congélation, ils ont été lyophilisés jusqu'à une déshydratation totale. Un tampon d'échantillon (Sample buffer) est ensuite préparé (Tableau 5) et mis dans chaque tube eppendorff des séries témoins et traités. La quantité du tampon additionnée correspond à la quantité des protéines déterminée auparavant.

Tableau 5 : Composition du tampon d'échantillon.

Produits	Tampon d'échantillon
Upper buffer	6,25 ml
Mercaptoéthanol	2,50 ml
SDS 10%	7,14 ml
Bleu de bromophénol 0,05%	5 ml
Glycérol	5 ml
EDTA	18,6 mg

-Manipulation

Une fois l'appareil est monté, on fait coulé entre la plaque d'alumine et la plaque en verre le gel de séparation (Runing gel) à 8%. Après 30mn de polymérisation, on coule le gel de concentration (stacking gel) à 4,5%, on place alors rapidement le peigne et on laisse polymériser pendant 30mn. On remplit ensuite la cuve de tampon de migration (Runing Buffer) (Tableau 6), on enlève alors délicatement le peigne. Chaque dent correspond à une chambre de dépôt d'échantillon.

Tableau 6 : Composition du tampon de migration.

Produits	Tampon de migration
Tris base (g)	6,00
Glycine (g)	28,8
SDS (g)	1,00
Eau distillée (ml)	1000

Les échantillons sont déposés à raison de 10 µl dans les chambres de dépôt en ayant soin de réserver la première chambre au marqueur dont le poids moléculaire est connu (Tableau 7). Le chapeau avec les électrodes reliées à un générateur est alors placé sur l'appareil. La tension électrique appliquée a été d'abord de 50 volts, ceci permettra l'alignement des protéines pendant 30 min, elle est ensuite ramenée à 100 volts pour faciliter la migration des protéines qui va durer environ 2h30 min.

Tableau 7 : Poids moléculaire des protéines standard (référence 161-0373, Bio-Rad, France).

Protéines standards	PM (KDa)
Bovine serum albumin (BSA)	66,2
Ovalbumin	45
Bovine carbonic anhydrase	31
Soybean trypsin inhibitor	21,5
Lysozyme	14,4

Après migration des protéines, le gel est enlevé délicatement à l'aide d'une spatule et mis dans le colorant (Tableau 8) sous agitation pendant 24 heures. Avant de mettre le gel dans la solution de décoloration (Tableau 9) pendant 30 min, on effectue d'abord sous agitation 2 à 3 bains d'une heure chacun d'acide acétique à 2%. (Ce procédé prend fin lorsque l'acide acétique devient clair). À la fin le gel est conservé sous vide dans un sachet.

Tableau 8 : Composition de la solution de coloration.

Produits	Solution de coloration
Bleu Brillant de Comassie R250 (mg)	250
Méthanol absolu (ml)	125
Acide acétique 10% (ml)	25
Eau distillée (ml)	1000

Tableau 9 : Composition de la solution décolorante.

Produits	Solution de rinçage
Méthanol 4,5% (ml)	45
Glycérol 2,5% (ml)	25
Acide acétique 10% (ml)	100
Ethanol 10% (ml)	100
Eau distillée (ml)	1000

2.12. Détermination de la durée du développement et du potentiel reproducteur

Cette expérience permis non seulement d'évaluer la durée de développement du stade larvaire (L_1 , L_2 et L_3) et le stade nymphal de la drosophile mais aussi d'estimer son potentiel reproducteur. Les mâles et femelles venant d'émerger issus des séries témoins et traitées (CL_{10} et CL_{25}) ont été prélevés et placés par couples dans des petits tubes contenant le milieu de ponte (l'expérience est menée sur 6 couples pour chaque série). Chaque 24h pendant 5 jours les couples sont transférés dans un nouveau tube, afin d'estimer le nombre d'œufs pondus, de larves de 3^{ème} stade (L_3) et de pupes exuviées ainsi que les adultes émergés. Chaque tube de croisement est identifié par la nature des parents (témoins ou traités) et la date du croisement.

2.13. Extraction et analyse des hydrocarbures cuticulaires

Après traitement des pupes nouvellement exuviées de *D.melanogaster* aux doses sublétales (CL_{10} et CL_{25}). Les mouches témoins et traitées émergées sont sexées grâce aux critères anatomiques classiques (la plaque génitale et la présence des peignes sexuels) et

séparées dans des tubes d'élevages pendant 4 jours (on peut mettre 5 à 10 femelles par tube alors que pour les mâles, un seul par tube).

Les extractions des HCs ont été réalisées d'après le protocole décrit par [Antony & Jallon \(1982\)](#) et par [Marcillac *et al.*, \(2005\)](#). Après avoir été congelées à -20°C, les mouches sont immergées individuellement pendant 5 min dans des microtubes en verre contenant 30 µl d'hexane distillé auxquels on a ajouté 100 ng d'hexacosane (C26) et 100 ng de triacontane (C30 ; PolyScience Corp.) comme standards internes. Ces standards permettent, non seulement de vérifier s'il n'y a pas eu de problèmes lors de l'analyse, mais également de quantifier les différents composés présents dans le mélange.

Les HCs des mouches étudiées ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS). L'analyse quantitative des différents HCs a été effectuée par GC-MS (QP2010 Shimadzu®) équipé d'une colonne capillaire de type apolaire (VF-1ms, 20 m x 0,15 mm ID, Varian®). L'injecteur est maintenu à 280° et le split est ouvert 1 min après l'injection. La programmation de température utilisée est la suivante : 140 à 300°C à 3°C/min ; l'hélium est utilisé comme gaz vecteur (vitesse de 47 cm/sec à 120°C). Le spectromètre de masse est réglé à 70 eV et le balayage effectué de 29 à 600 amu à 0,5 scans/sec. Les composés détectés sont identifiés grâce à leur indice de Kovats et par comparaison de leurs ions avec ceux des bases de données de référence (NIST/EPA/NIH, et bibliothèque de spectres du laboratoire de Dijon). Le GC-MS est piloté par un micro-ordinateur (Dell® Optiplex 280 sous Windows XP Professionnel®) en utilisant le logiciel GCMS-Solution (Shimadzu®).

2.14. Analyse statistique des données

Les résultats sont exprimés statistiquement par la moyenne plus ou moins l'écart type ($m \pm SD$) établie sur un nombre de répétitions précisées dans les tableaux et figures. Les moyennes des différentes séries sont comparées deux à deux en utilisant le test *t* de Student avec un seuil de signification $P = 0,05$. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel MINITAB (Version 16, PA State College, USA).

La régression non linéaire exprimant le pourcentage de létalité corrigée en fonction du logarithme de la concentration a permis d'estimer les concentrations de létalités des adultes émergés. Les calculs sont effectués à l'aide du logiciel GraphPad prism version 6.01 (GraphPad software, La Jolla California, U.S.A.).

3. RESULTATS

3.1. Essai insecticide à l'égard des pupes

Les tests de toxicité sont appliqués sur des pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster* avec différentes concentrations du spiromesifen (25, 50, 75, 100, 125, 150 et 200 µg/µl). Les individus témoins reçoivent 1 µl du solvant seul (acétone/eau: 50/50). La mortalité observée est mentionnée dans le tableau 10 avec des taux variant de 20 % (25 µg/µl) à plus de 88 % (200 µg/µl) avec une relation dose-réponse. Elle est corrigée à partir d'une mortalité naturelle (Tableau 11). Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités (Tableau 12), les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 13) qui révèle un effet dose très hautement significatif ($p < 0,001$).

Tableau 10 : Effet du spiromesifen (µg/µl) administré *in vivo* par application topique sur des pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster*, sur le taux de mortalité observée ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).

Répétitions	Concentrations (µg/µl)							
	Témoin	25	50	75	100	125	150	200
1	6,66	20	33,33	46,66	66,66	73,33	80	86,66
2	10	16,66	43,33	53,33	63,33	76,66	80	86,66
3	10	23,33	50	53,33	70	73,33	83,33	93,33
m ± SD	8,88 ±1,92	19,99±3,33	42,22±8,39	51,10±3,85	66,66±3,33	74,44±1,92	81,11±1,92	88,88±3,85

Les mortalités observées sont corrigées par la formule d'Abbott (1925) qui montre l'effet réel des différentes concentrations (Tableau 11).

Tableau 11: Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) administré *in vivo* par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de *D. melanogaster*, sur le taux de mortalité ($m \pm \text{SD}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).

Répétitions	Concentrations ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)						
	25	50	75	100	125	150	200
1	14,29	28,57	42,85	64,28	71,42	78,57	85,70
2	7,4	37,03	48,14	59,25	74,06	77,77	85,17
3	14,81	44,44	48,14	66,66	70,36	81,47	92,58
m \pm SD	12,16 \pm4,13	36,68 \pm7,94	46,37\pm3,05	63,39\pm3,78	71,94\pm1,90	79,27\pm1,94	87,82\pm4,13

Tableau 12 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) administré *in vivo* par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de *D. melanogaster*. Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{SD}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).

Répétitions	Concentrations ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)						
	25	50	75	100	125	150	200
1	21,97	31,95	40,40	53,13	57,42	62,03	67,21
2	15,34	37,46	48,85	50,18	59,34	61,34	67,21
3	21,97	41,55	48,85	54,33	56,79	64,16	73,57
m \pm SD	19,76\pm3,82	36,98\pm4,81	46,03\pm4,87	52,54\pm2,13	57,85\pm1,32	62,51\pm1,47	69,33\pm3,67

Tableau 13 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) administré *in vivo* par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de *D. melanogaster*. Analyse de la variance des données transformées. ($m \pm \text{SD}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 30 individus).

Sources de variation	DDL	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	6	5082,7	847,1	70,91	< 0,001***
Résiduelle	14	167,3	11,9		

Les concentrations létales (CL_{50} et CL_{90}) sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression (Fig. 5) qui exprime le probit du pourcentage de la mortalité corrigée en fonction du logarithme décimal des concentrations du spiromesifen (Tableaux 14 et 15). Le coefficient de détermination ($R^2 = 0,993$) révèle une liaison positive très forte entre les probits

et le logarithme des concentrations testées. Les CL₅₀ et CL₉₀ déterminées sont respectivement 73,29 µg/µl (intervalle de confiance : 67,79 - 79,22) et 236,40 µg/µl (intervalle de confiance : 218,68 – 255,54), avec un slope de 2,48 (Tableau 16).

Tableau 14 : Effet du spiromesifen (µg/µl) administré *in vivo* par application topique sur des pupes nouvellement écloses de *D. melanogaster*. Transformation en probits des mortalités corrigées. (m ± SD, n = 3 répétitions comportant chacune 30 individus).

Concentrations (µg/µl)	25	50	75	100	125	150	200
Mortalités corrigées (%)	12,16	36,68	46,37	63,39	71,94	79,27	87,82
Probits	3,83	4,65	4,90	5,34	5,57	5,81	6,16

Tableau 15 : Effet du spiromesifen (µg/µl) administré *in vivo* par application topique sur des pupes nouvellement écloses de *D. melanogaster*, sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (µg/µl) en logarithmes décimaux. (m ± SD, n= 3 répétitions comportant chacune 30 individus).

Concentrations (µg/µl)	25	50	75	100	125	150	200
Log concentrations	1,39	1,69	1,87	2	2,09	2,17	2,30

Tableau 16 : Efficacité du spiromesifen administré *in vivo* par application topique sur des pupes nouvellement écloses de *D. melanogaster*, analyse des probits (IC: intervalle de confiance).

Droite de régression	R ²	Slope	CL50 (IC)	CL90 (IC)
Y= 2,52 X + 0,30	0,993	2,48	73,29 (67,79 – 79,22)	236,40 (218,68 – 255,54)

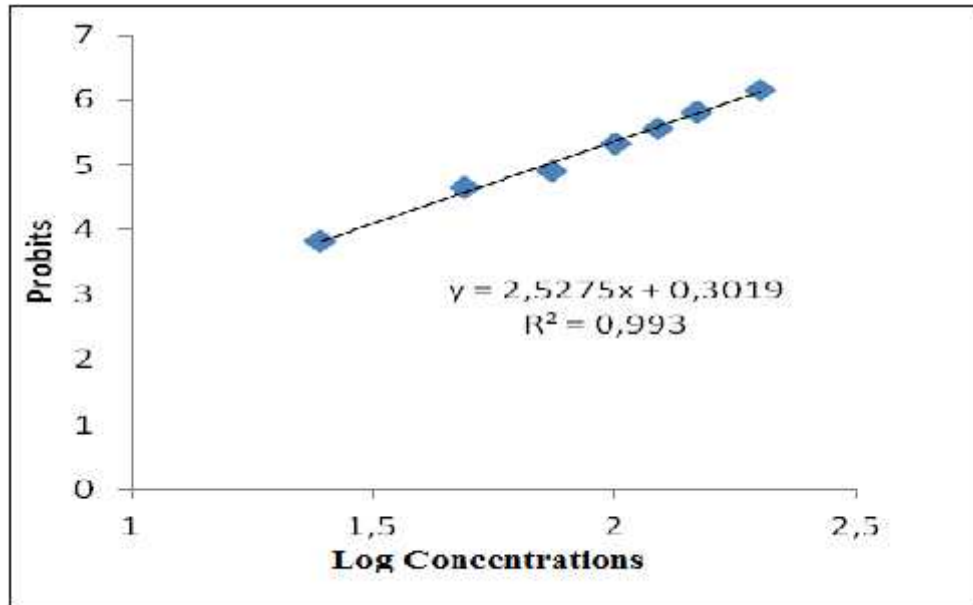


Figure 5. Droite de régression exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations (R^2 : coefficient de détermination).

Tableau 17 : Toxicité du spiromesifen administré *in vivo* par application topique sur des pupes nouvellement éxuvées de *D. melanogaster* : détermination des concentrations létales et sublétales et létales (**Logiciel GraphPad Prism**).

CL ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$)	Valeur	Intervalle de confiance
CL ₁₀	21,45	16,91 – 27,22
CL ₂₅	39,53	34,09 – 45,83
CL ₅₀	72,82	67,05 – 79,09
CL ₉₀	247,20	204,7 – 298,5

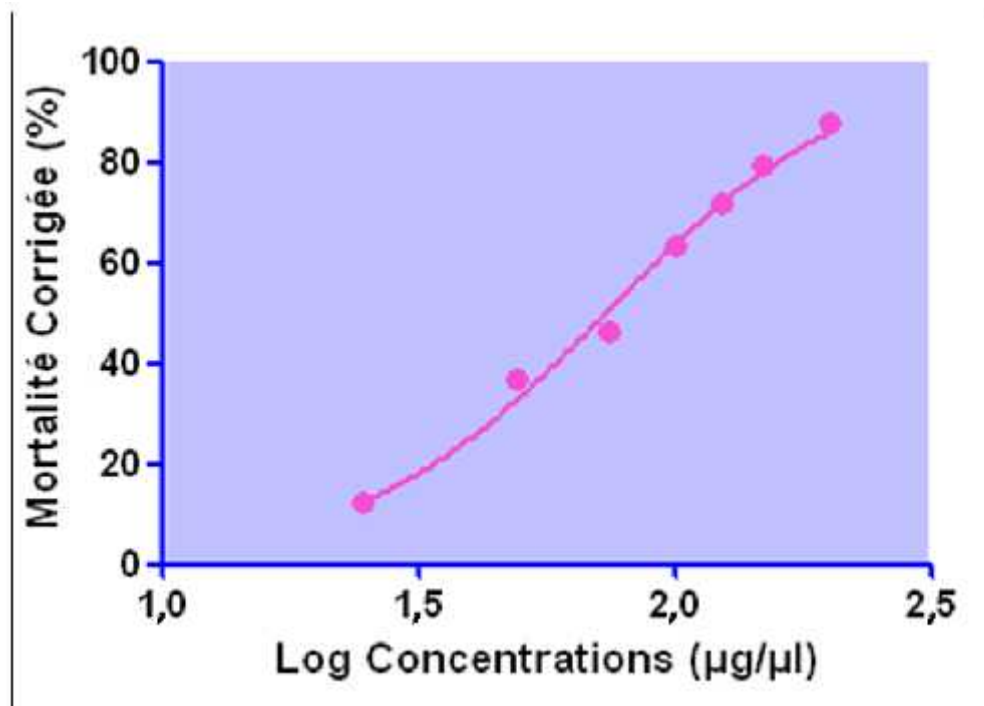


Figure 6. Toxicité du spiromesifen ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) en application topique sur des pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster* (Logiciel GraphPad Prism).

3.2. Impact du spiromesifen sur la croissance et le développement

3.2.1. Croissance pondérale

Les résultats de l'évolution du poids des pupes de *D. melanogaster* des séries témoins et traitées sont mentionnés dans le tableau 18 et la figure 7, dont les valeurs présentées correspondent au poids corporels d'une pupe. L'évolution pondérale est similaire dans les différentes séries avec une réduction du poids au cours du développement nymphal. Le traitement provoque une réduction relativement marquée du poids moyen des pupes seulement à 1 jour avec la CL_{25} . L'analyse de la variance indique un effet âge significatif ($F_{3, 48} = 70,29$; $p < 0,001$), un effet traitement non significatif ($F_{2, 48} = 1,98$; $p > 0,05$) et une interaction âge/traitement significative ($F_{6, 48} = 2,53$; $p < 0,01$) (Tableau 19).

Tableau 18 : Evolution du poids des pupes de *D. melanogaster* au cours du développement nymphal ($m \pm SD$; $n= 5$ répétitions chacune correspondant au poids d'une puce. Pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même âge, les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).

Traitement	Ages (jours)			
	0	1	2	3
Témoin	1,54 ± 0,03 a A	1,41 ± 0,04 b A	1,26 ± 0,02 cd A	1,18 ± 0,04 d A
CL ₁₀	1,63 ± 0,02 a A	1,33 ± 0,05 bc AB	1,23 ± 0,01 c A	1,09 ± 0,01 d A
CL ₂₅	1,49 ± 0,04 a A	1,29 ± 0,02 bd B	1,22 ± 0,00 cd A	1,19 ± 0,05 d A

Tableau 19 : Analyse de la variance à deux critères de classification (âge, traitement) des données sur le poids des pupes de *D. melanogaster*.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Ages	3	21,59	7,19	70,29	0,001 ***
Traitement	2	0,40	0,20	1,98	0,149
Interaction âge/traitement	6	1,55	0,25	2,53	0,033 *
Erreur résiduelle	48	4,91	0,10	-	-
Totale	59	28,46	-	-	-

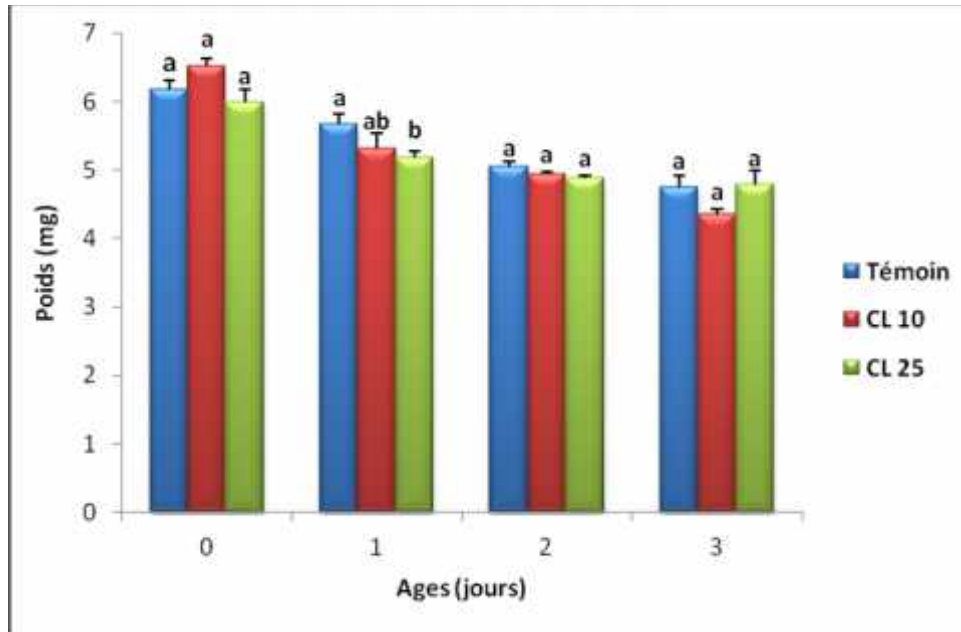


Figure 7. Evolution du poids (mg) d'une pupe au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm SD$; $n = 5$; pour un même âge, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).

3.2.2. Durée de développement nymphal

Les durées du développement nymphal des différentes séries sont indiquées dans le tableau 20. La comparaison des moyennes indique qu'il n'y pas de différences significatives ($p > 0,05$) entre la série témoin et les séries traitées.

Tableau 20 : Durée du développement nymphal (jours) de *D. melanogaster* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions de 20 - 26 pupes chacune ; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).

Traitement	Témoin	CL ₁₀	CL ₂₅
m ± SD	4,28 ± 0,05 a	4,26 ± 0,04 a	4,29 ± 0,021 a

3.3. Suivi de la génération F1

Le suivi de la génération F1 de *D. melanogaster* a été effectué toutes les 24h durant toute la vie des femelles témoins et traitées. Les résultats obtenus à partir des trois séries sont représentés dans le tableau 21 et la figure 8. Le nombre total moyen d'adultes émergés (mâles et femelles) (Témoin = $170,9 \pm 25$; CL₁₀ = $160,8 \pm 26$; CL₂₅ = $116,0 \pm 24$ n= 10 couples pour chaque série) diminue en fonction du traitement, mais de manière non statistiquement significative ($p > 0,05$) en raison de la variabilité de la taille des pontes. Pour la série témoin, le total de drosophiles émergées varie entre 55 et 307 mouches ayant 2 répétitions en dessous de 100 individus émergés ; tandis que la série traitée avec CL₁₀, on a un total d'adultes émergés variant de 63 à 309 mouches et 3 répétitions en dessous de 100 individus émergés. Chez la série traitée avec la CL₂₅, on a obtenu 10 répétitions, 5 d'entre elles varient de 1 à 95 individus émergés et 5 autres répétitions varient de 108 à 222 mouches émergées. Dans les séries témoins et traitées, le nombre de femelles est significativement ($p < 0,05$) supérieur à celui des adultes mâles. Ceci est confirmé par l'analyse de la variance qui révèle un effet sexe très significatif ($F_{1, 54} = 7,58$; $p < 0,01$) et un effet traitement non significatif ($F_{2, 54} = 2,55$; $p = 0,088$) (Tableau 22).

Tableau 21 : Suivi de la génération F1 issue des croisements entre parents issus de pupes traitées ($m \pm SD$; n= 10 couples pour chaque série; pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même sexe les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).

Traitement	Nombre adultes	
	Femelle	Mâle
Témoin	$105,4 \pm 16$ a A	$65,5 \pm 10$ b A
CL ₁₀	$92,6 \pm 15$ a A	$68,2 \pm 11$ b A
CL ₂₅	$69,5 \pm 14$ a A	$46,5 \pm 10$ b A

Tableau 22 : Analyse de la variance à deux critères de classification (sexe, traitement) des données sur le nombre d'adultes émergés de *D. melanogaster*.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	p
Sexe	1	12702	12702	7,58	0,008 **
Traitement	2	8538	4269	2,55	0,088
Interaction Sexe / traitement	2	880	440	0,26	0,770
Erreur résiduelle	54	90490	1676	-	-
Totale	59	112610	-	-	-

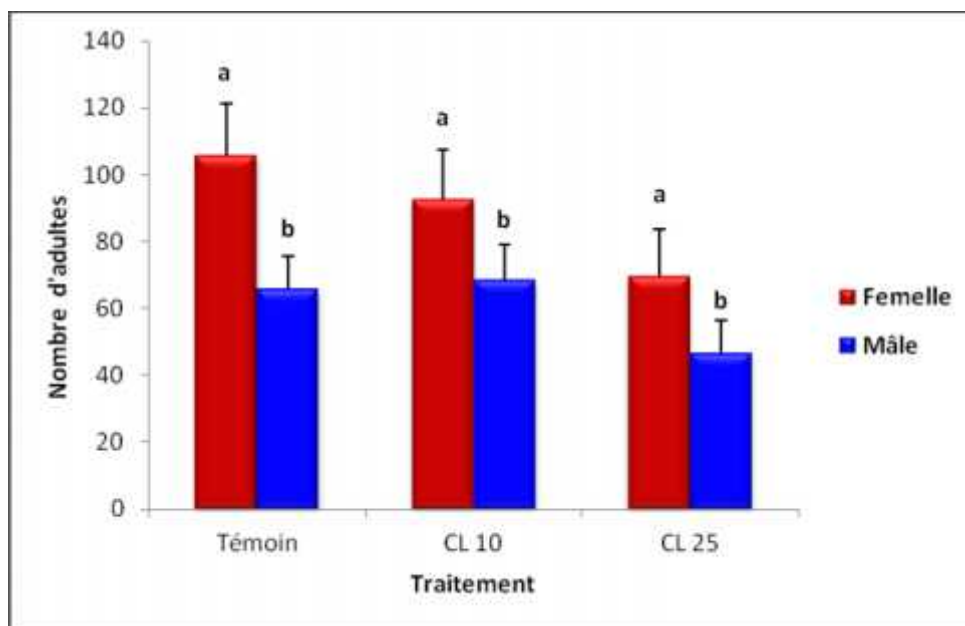


Figure 8. Nombre d'adultes issus de couples de *D. melanogaster* traités au stade nymphal ($m \pm SD$, $n = 10$ couples; pour une même série, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).

3.4. Composition biochimique des pupes

3.4.1. Taux de lipides totaux corporels

La teneur en lipides totaux corporels a été estimée chez les séries témoins et traitées (CL₁₀ et CL₂₅) à différents jours au cours du développement nymphal (Tableau 23, 24 et Fig. 9). Les résultats enregistrés chez les pupes témoins indiquent une diminution significative du taux de lipides corporels au cours du développement nymphal (0 vs 2 jours $p < 0,01$; 0 vs 3 jours

$p < 0,001$; 1 vs 3 jours $p < 0,01$). Pour les séries traitées, le spiromesifen réduit de manière significative la teneur en lipides totaux des pupes à tous les âges au cours du développement nymphal et ceci de façon dose-dépendante. L'effet est rapide puisqu'une réduction significative est obtenue chez les séries traitées dès 6 heures après application topique. L'analyse de la variance révèle des effets âge ($F_{3, 48} = 22,83$; $p < 0,001$) et traitement ($F_{2, 48} = 82,98$; $p < 0,001$) significatifs (Tableau 24). Les taux de lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu frais) enregistrés à 3 jours après traitement sont de $15,05 \pm 1,4$ pour la série témoin ; $11,22 \pm 1,1$ pour la série traitée avec la CL_{10} et $6,58 \pm 1,20$ pour la série traitée avec la CL_{25} (Tableau 23). Ainsi, une réduction significative est obtenue avec la concentration la plus élevée (CL_{25}) (témoin vs CL_{25} $p < 0,01$; CL_{10} vs CL_{25} $p < 0,05$).

Tableau 23 : Taux de lipides totaux corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$; $n = 5$ répétitions chacune correspondant à un pool de 4 pupes ; pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même âge, les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).

Traitement	Ages (jours)			
	0	1	2	3
Témoin	$24,97 \pm 1,4$ a A	$21,25 \pm 0,93$ ab A	$17,94 \pm 1,5$ bc A	$15,05 \pm 1,4$ c A
CL_{10}	$16,60 \pm 0,58$ a B	$12,09 \pm 0,58$ bcd B	$10,15 \pm 1,4$ cd B	$11,22 \pm 1,1$ d B
CL_{25}	$13,29 \pm 0,97$ a C	$9,42 \pm 0,82$ b C	$9,70 \pm 1,4$ ab B	$6,58 \pm 1,2$ cb C

Tableau 24 : Analyse de la variance à deux critères de classification (âge, traitement) des données sur le taux de lipides corporels totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les pupes de *D. melanogaster*.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	p
Ages	3	445,94	148,65	22,83	0,001 ***
Traitement	2	1080,40	540,20	82,98	0,001 ***
Interaction Ages /traitement	6	62,82	10,47	1,61	0,165
Erreur résiduelle	48	312,48	6,51	-	-
Totale	59	1901,64	-	-	-

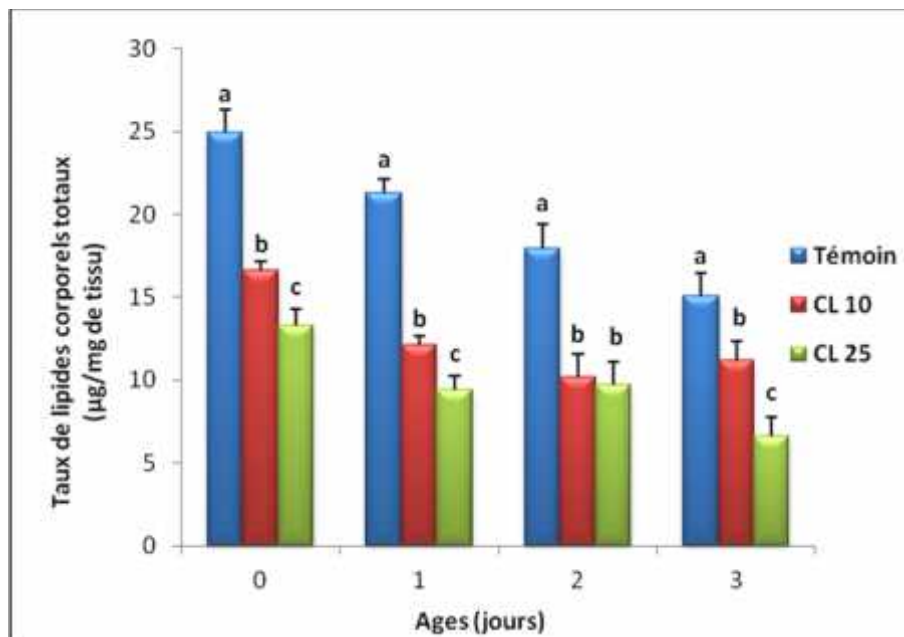


Figure 9. Evolution du taux de lipides totaux corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$, $n = 5$ répétitions de groupes de 4 pupes chacun; pour un même âge, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$) (Les séries traitées au jour zéro ont été dosées 6 heures après).

3.4.2. Taux de glucides totaux corporels

L'évolution du contenu en glucides présente une diminution significative entre la série témoin et les séries traitées (CL₁₀ et CL₂₅) dès les premières heures après traitement (Tableau 25, Fig. 10). Au cours du développement nymphal, le taux de glucides de la série témoin diminue significativement à 1 et 2 jours ($p < 0,05$). Inversement, pour les pupes traitées avec la CL₂₅, ce taux augmente significativement jusqu'au 2^{ème} jour après traitement puis baisse de manière non significative ($p > 0,05$), alors que chez la série traitée à la CL₁₀ le taux ne varie pas significativement au cours du temps. L'analyse de la variance révèle un effet âge significatif ($p < 0,05$) et un effet traitement non significatif ($p > 0,05$), mais elle révèle une interaction âge/traitement hautement significative ($p < 0,001$) (Tableau 26).

Tableau 25 : Taux de glucides corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm SD$; $n= 5$ répétitions chacune correspondant à un pool de 4 pupes ; pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même âge les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).

Traitement	Ages (jours)			
	0	1	2	3
Témoin	$39,53 \pm 4,1$ a A	$27,98 \pm 1,1$ b A	$28,13 \pm 1,1$ cb A	$32,82 \pm 4,1$ ab A
CL ₁₀	$30,41 \pm 0,77$ a B	$29,06 \pm 1,1$ a A	$32,05 \pm 1,8$ a A	$30,01 \pm 1,8$ a A
CL ₂₅	$22,82 \pm 0,75$ a C	$28,43 \pm 1,5$ b A	$38,42 \pm 1,8$ cd B	$34,64 \pm 0,48$ d AB

Tableau 26 : Analyse de la variance à deux critères de classification (âge, traitement) des données sur le taux de glucides corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les pupes de *D. melanogaster*.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	p
Ages	3	177,95	59,32	2,83	0,048 *
Traitement	2	30,40	15,20	0,72	0,490
Interaction Ages / traitement	6	996,16	166,03	7,91	0,001 ***
Erreur résiduelle	48	1007,34	20,99	-	-
Totale	59	2211,85	-	-	-

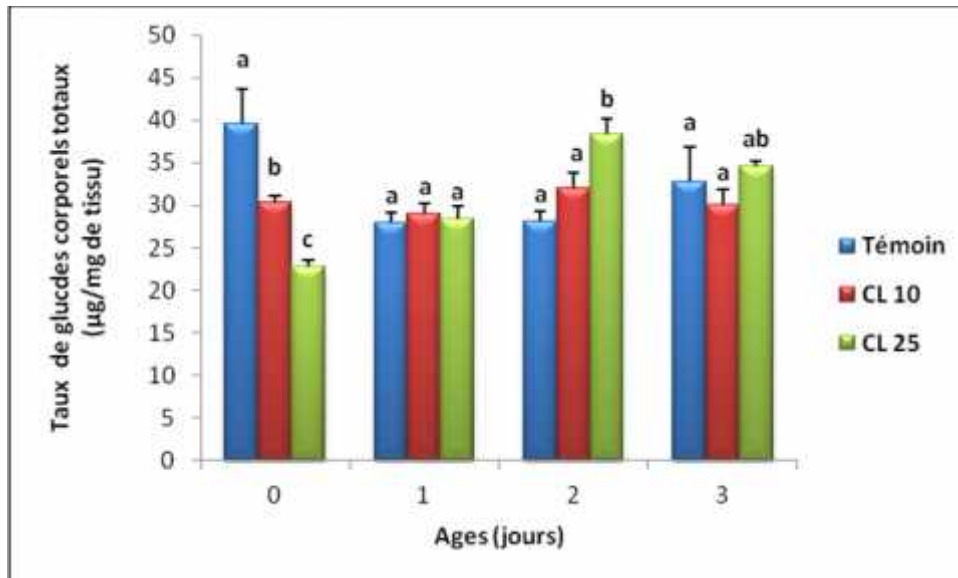


Figure 10. Evolution du taux de glucides corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$, $n = 5$ répétitions de groupes de 4 pupes chacun; pour un même âge les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$) (Les séries traitées au jour zéro ont été dosées 6 heures après).

3.4.3. Taux de protéines totales corporelles

Les taux de protéines diminuent dans les trois séries témoins et traitées au cours du développement nymphal (Tableau 27, Fig. 11). Chez les témoins, le taux de protéines augmente significativement ($p < 0,001$) à 1 jour puis diminue significativement à 2 jours ($p < 0,001$). Chez les pupes traitées, on remarque une même évolution des taux de protéines au cours du temps par rapport à ceux des témoins mais avec des valeurs inférieures. 3 jours après le traitement, les valeurs observées pour les trois séries sont en baisse par rapport au témoin à 0 jour. La comparaison des valeurs de chaque âge entre elles révèle une diminution hautement significative ($p < 0,001$) à 1 jour seulement. L'analyse de la variance révèle des effets âge et traitement hautement significatifs ($p < 0,001$) ainsi qu'une interaction âge/traitement significative ($P < 0,05$) (Tableau 28).

Tableau 27 : Taux de protéines corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$; $n= 5$ répétitions chacune correspondant à un pool de 4 pupes ; pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même âge les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p>0,05$).

Traitement	Ages (jours)			
	0	1	2	3
Témoin	77,08 \pm 1,4 a A	91,23 \pm 1,7 b A	56,72 \pm 2,9 c A	58,9 \pm 5,0 d A
CL ₁₀	67,82 \pm 4,2 a A	76,63 \pm 1,6 a B	53,87 \pm 3,0 b AB	41,30 \pm 3,3 c B
CL ₂₅	55,53 \pm 2,3 a B	67,26 \pm 0,80 b C	48,79 \pm 1,9 a B	46,24 \pm 4,0 a AB

Tableau 28 : Analyse de la variance à deux critères de classification (âge, traitement) des données sur le taux de protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) chez les pupes de *D. melanogaster*.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	p
Ages	3	8148,9	2716,3	63,47	0,001***
Traitement	2	2841,7	1420,9	33,20	0,001***
Interaction Ages / traitement	6	776,9	129,5	3,03	0,014 *
Erreur résiduelle	48	2054,3	42,8	-	-
Totale	59	13821,9	-	-	-

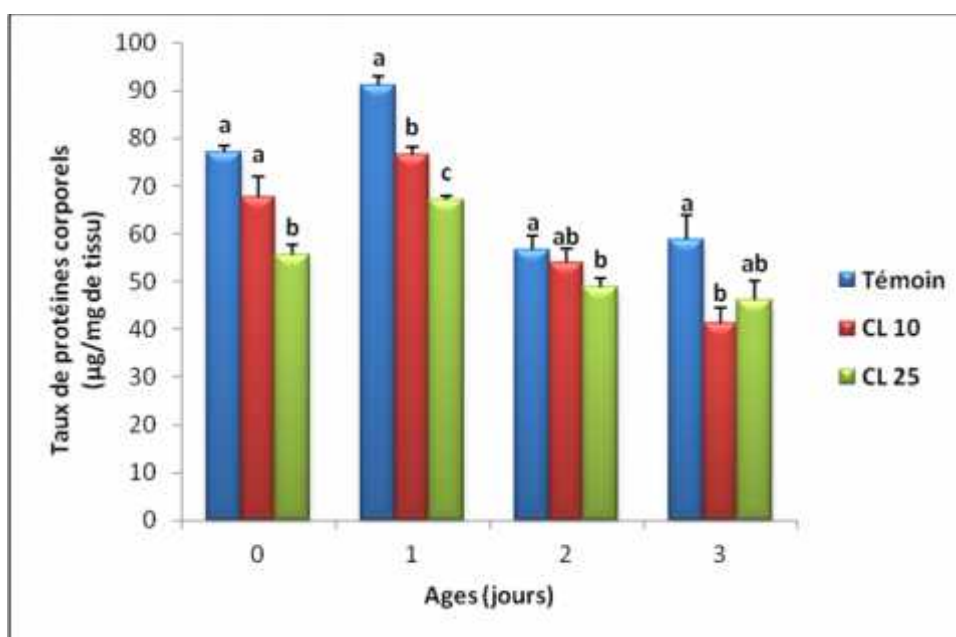


Figure 11. Evolution du taux de protéines corporels ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$, $n = 5$ répétitions de groupes de 4 pupes chacun; pour un même âge les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$) (Les séries traitées au jour zéro ont été dosées 6 heures après).

3.5. Effet sur le taux de malondialdéhyde

Les taux de malondialdéhyde (MDA) ont été déterminés chez les séries témoins et traitées au cours du développement nymphal selon la méthode de [Draper & Hadley \(1990\)](#). Les résultats sont représentés dans le tableau 29 et la figure 12. Chez les témoins, le taux de MDA ne varie pas significativement ($p > 0,05$) au cours du temps. Tandis que les résultats obtenus chez les séries traitées montrent une augmentation immédiate à 0 jour (quelques heures seulement après traitement) et est non significative ($p > 0,05$). Au 1^{er} jour les taux continuent à augmenter d'une manière très significative ($p < 0,01$) avec la CL₂₅. Cette évolution diminue de manière non significative ($p > 0,05$) au 2^{ème} jour pour finalement se stabiliser au 3^{ème} jours. L'analyse de la variance montre un effet traitement très significatif ($F_{2,60} = 2,10$; $p < 0,01$) ; les résultats indiquent également une différence significative chez la série traitée (CL₂₅) entre les pupes âgées d'un jour et celles de 3 jours (Tableau 30).

Tableau 29 : Taux de MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les pupes de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$; $n= 6$ répétitions chacune correspondant à un lot de 4 pupes; pour un même traitement, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes, tandis que pour un même âge, les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).

Traitement	Ages (jours)			
	0	1	2	3
Témoin	$0,08 \pm 0,03$ a A	$0,086 \pm 0,03$ a A	$0,082 \pm 0,03$ a A	$0,087 \pm 0,03$ a A
CL ₁₀	$0,117 \pm 0,04$ a A	$0,123 \pm 0,04$ a A	$0,100 \pm 0,05$ a A	$0,082 \pm 0,02$ a A
CL ₂₅	$0,121 \pm 0,04$ a A	$0,159 \pm 0,03$ ab B	$0,111 \pm 0,05$ a A	$0,105 \pm 0,02$ ac A

Tableau 30 : Analyse de la variance à deux critères de classification (âge, traitement) des données sur le taux de MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) des pupes de *D. melanogaster*.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	p
Ages	3	0,0098	0,0032	6,31	0,110
Traitement	2	0,0196	0,0098	2,10	0,003**
Interaction Ages / traitement	6	0,0069	0,0011	0,74	0,617
Erreur résiduelle	60	0,0935	0,0015	-	-
Totale	71	0,1300	-	-	-

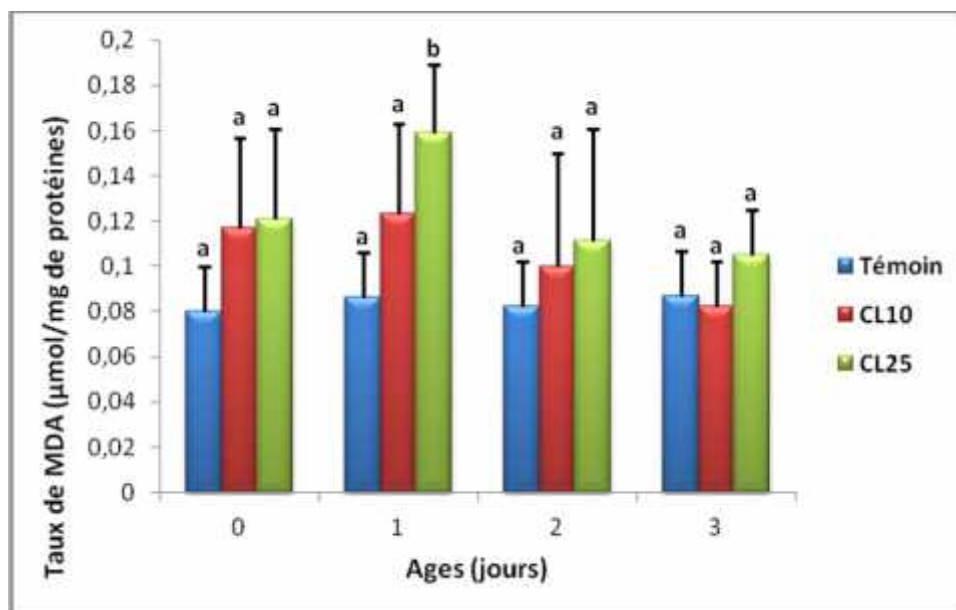


Figure 12. Effet du spiromesifen sur le taux de MDA ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) au cours du développement nymphal de *D. melanogaster* ($m \pm \text{SD}$, $n = 6$ répétitions de groupes de 4 pupes; pour un même âge les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$).

3.6. Effet sur la biométrie de l'ovaire

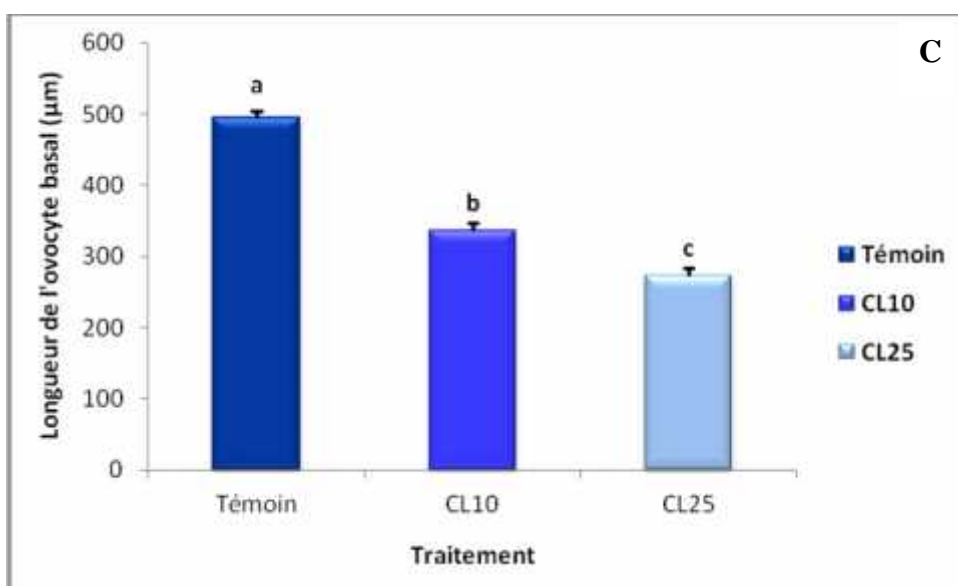
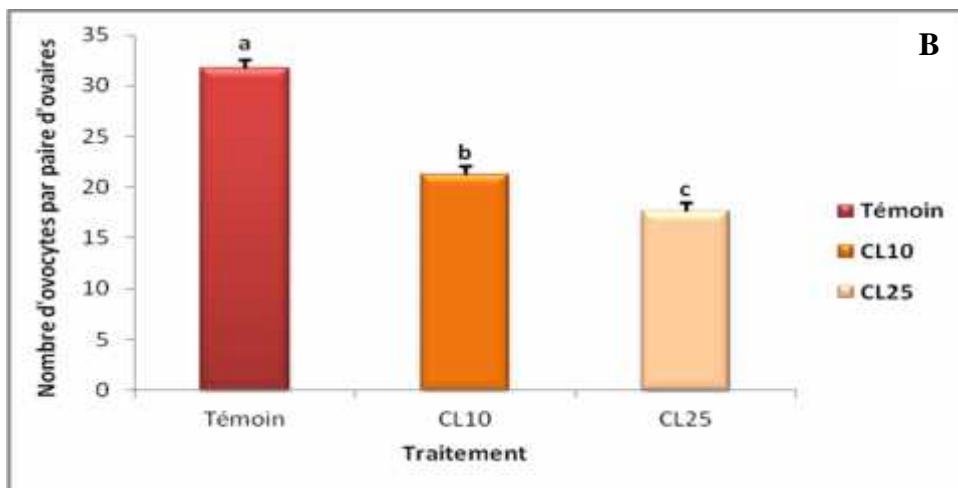
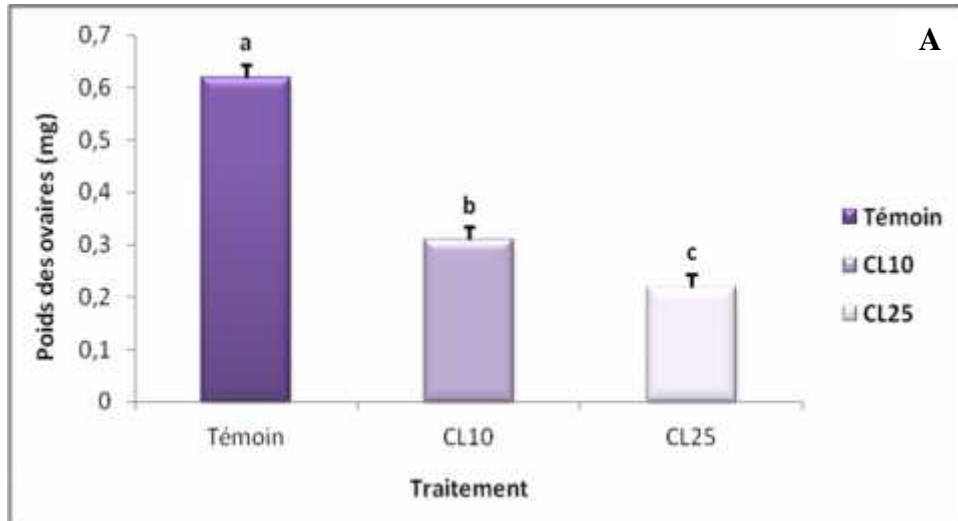
L'effet du spiromesifen a été envisagé par application topique sur les pupes nouvellement éxuvées de *D. melanogaster* aux doses sublétales CL_{10} et CL_{25} . Le poids frais des ovaires, le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires, la longueur (L), la largeur (l) et le volume (V) de l'ovocyte basal ont été déterminés sur des femelles témoins et traitées âgées de 4 jours après leur émergence (âge de maturité sexuelle) (Tableau 31, Fig. 13).

Le traitement provoque une diminution marquée du **poids moyen des ovaires** ; on note une moyenne de $0,31 \pm 0,028$ mg chez la série traitée à la CL_{10} et de $0,22 \pm 0,025$ mg chez la série traitée à la CL_{25} , comparativement aux témoins avec $0,62 \pm 0,036$ mg. L'analyse de la variance indique un effet traitement significatif ($F_{2, 27} = 49,33$; $p < 0,001$). Le spiromesifen induit une réduction de manière significative du **nombre d'ovocytes par paire d'ovaires** par rapport aux témoins et la comparaison des séries traitées entre elles présentent également une différence significative. L'analyse de la variance révèle un effet traitement hautement significatif ($F_{2, 27} = 94,04$; $p < 0,001$). Les deux doses testées réduisent également de manière

significative la **longueur de l'ovocyte basal** comparativement aux témoins. L'analyse de la variance révèle un effet traitement significatif ($F_{2, 27} = 54,09$; $p < 0,001$). Le traitement entraîne également une réduction significative de la **largeur de l'ovocyte basal** dans les séries traitées comparativement à la série témoin. L'analyse de la variance révèle un effet traitement hautement significatif ($F_{2, 27} = 29,75$; $p < 0,001$). Ces anomalies biométriques affectent le **volume de l'ovocyte basal**. Puisque l'analyse de la variance indique un effet traitement significatif ($F_{2, 27} = 26,53$; $p < 0,001$).

Tableau 31 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g/pupe}$) administré par application topique à l'exuviation nymphale de *D. melanogaster* sur la biométrie de l'ovaire ($m \pm SD$, $n = 10$).

Paramètres	Témoin	CL10	CL25
Poids des ovaires (mg)	0,62 \pm 0,036 A	0,31 \pm 0,028 B	0,22 \pm 0,025 C
Nombre d'ovocyte	31,70 \pm 0,68 A	21,20 \pm 0,65 B	17,60 \pm 0,91 C
Longueur (μm)	495 \pm 19 A	337 \pm 16 B	274 \pm 10 C
Largeur (μm)	238 \pm 15 A	142 \pm 8,1 B	111 \pm 8,5 C
Volume (mm^3)	0,01558 \pm 0,0024 A	0,00381 \pm 0,00068 B	0,00190 \pm 0,00034 C



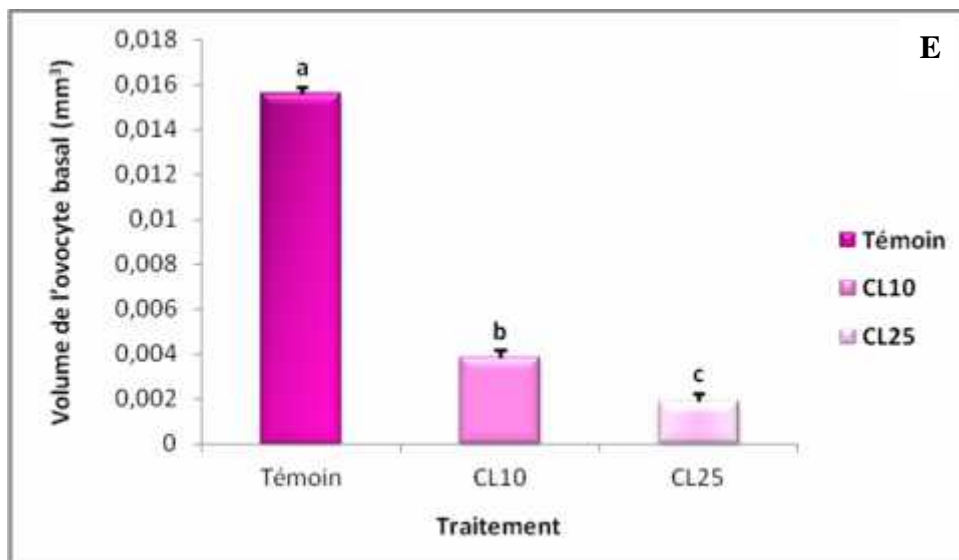
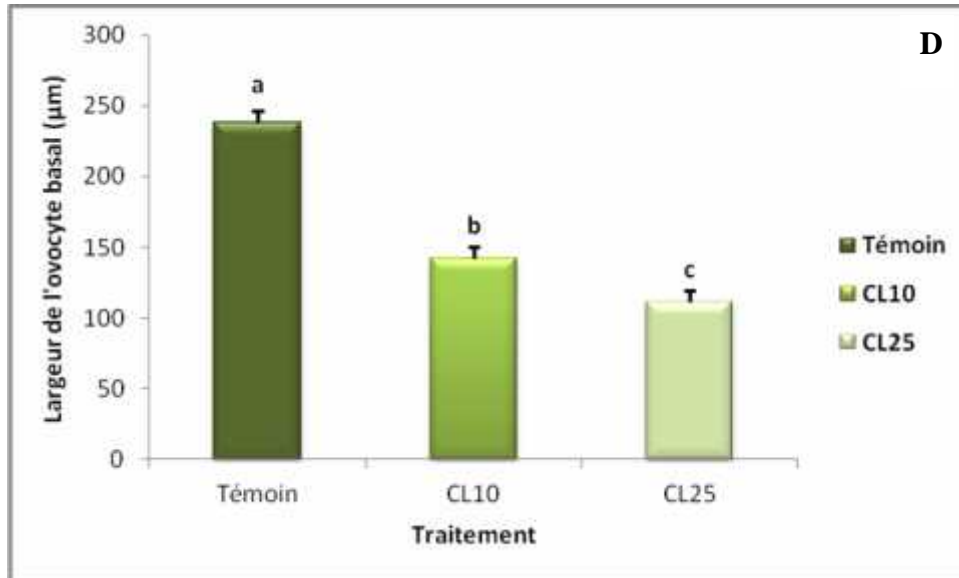


Figure 13 . Effet du spiromesifen ($\mu\text{g/pupe}$) administré par application topique chez les pupes de *D. melanogaster* sur la biométrie de l'ovaire des femelles âgées de 4 jours: poids des ovaires (A); nombre d'ovocytes par paire d'ovaires (B) ; longueur de l'ovocyte basal (C) ; largeur de l'ovocyte basal (D) ; volume de l'ovocyte basal (E) ($m \pm SD$; $n = 10$).

3.7. Effet sur les protéines ovariennes

3.7.1. Taux des protéines ovariennes

Concernant les protéines ovariennes, le spiromesifen affecte leur taux avec un effet dose-réponse significatif par rapport aux lots témoins. Les résultats relatifs aux trois séries sont représentés dans le tableau 32 et la figure 14. L'analyse de la variance révèle un effet traitement significatif ($F_{2, 27} = 20,71$; $p < 0,001$) (Tableau 33).

Tableau 32 : Effet du spiromesifen ($\mu\text{g/pupe}$) administré par application topique à l'exuviation nymphale de *D. melanogaster* sur le taux de protéines ovariennes ($m \pm \text{SD}$, $n = 10$; ($\mu\text{g/mg}$ de tissu)).

Témoin	CL10	CL25
$87,41 \pm 2,9$ A	$74,08 \pm 2,1$ B	$62,20 \pm 3,2$ C

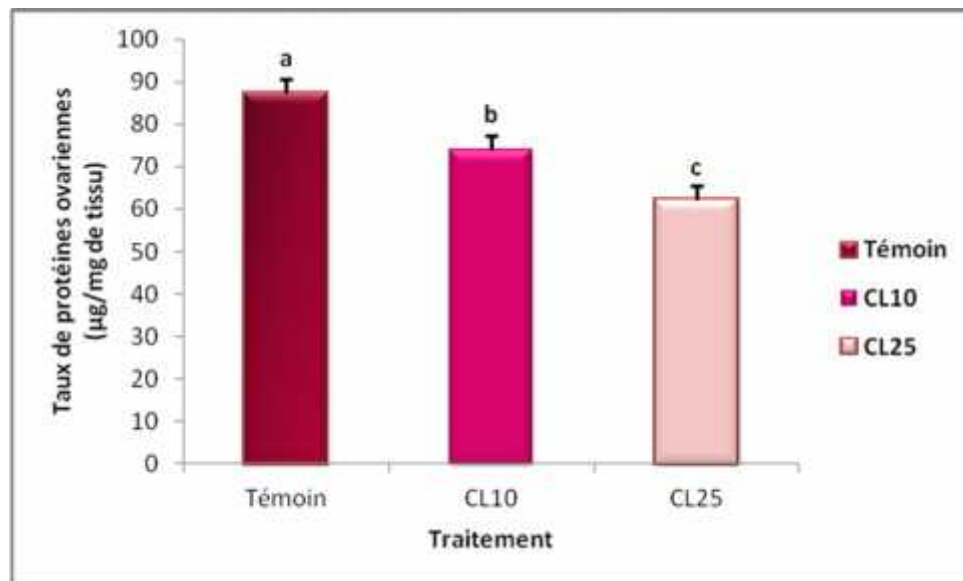


Figure 14 . Effet du spiromesifen sur le taux des protéines ovariennes ($\mu\text{g/mg}$ de tissu) chez les adultes femelles de *D. melanogaster* après traitement des pupes ($m \pm \text{SD}$; $n = 10$).

Tableau 33 : Analyse de la variance à un critère de classification (traitement) des données sur le taux de protéines ovariennes de *D. melanogaster*.

Sources	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Traitement	2	3175.2	1587.6	20.71	0,001 ***
Erreur résiduelle	27	2070.1	76.7		
Totale	29	5245.4			

3.7.2. Analyse électrophorétique des protéines ovariennes

Le traitement des pupes nouvellement éxuvées de *D. melanogaster* par application topique aux doses sublétales CL₁₀ et CL₂₅ du spiromesifen a permis d'analyser le profil électrophorétique sur PAGE-SDS des protéines ovariennes sur les drosophiles âgées de 4 jours selon le procédé de (Laemmli, 1970). Les poids moléculaires des protéines ovariennes ont été déterminés d'après une courbe de référence exprimant les logarithmes décimaux des poids moléculaires des protéines standards en fonction de leur mobilité relative (Rf) (Tableau 34, Fig. 15).

Tableau 34 : Poids moléculaire et mobilités relatives des fractions protéiques des protéines standards (référence 161-0373, Bio-Rad, France).

Protéines standards	PM (KDa)	Rapport frontal
Bovine serum albumin (BSA)	66,200	0,18
Ovalbumin	45	0,41
Bovine carbonic anhydrase	31	0,62
Soybean trypsin inhibitor	21,500	0,79
Lysozyme	14,400	0,95

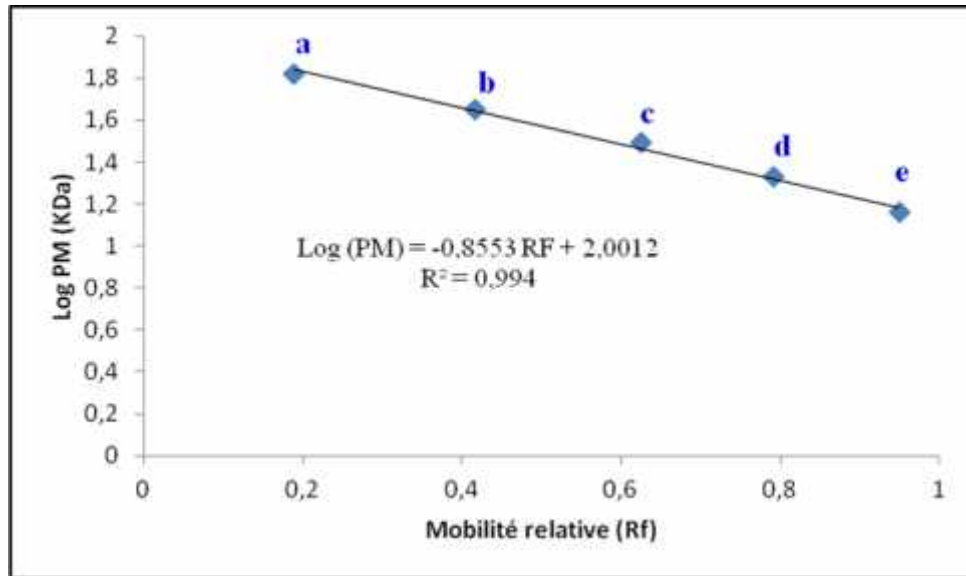


Figure 15 . Courbe de référence exprimant le logarithme décimal du poids moléculaire (KDa) des protéines standards en fonctions de leurs mobilités relatives (**a** : Bovine serum albumin; **b** : Ovalbumin ; **c** : Bovine carbonic anhydrase ; **d** : Soybean trypsin inhibitor ; **e** : Lysozyme).

Le profil électrophorétique des protéines ovariennes chez *D. melanogaster* montre la présence de 11 fractions protéiques chez les témoins (T) dont les poids moléculaires varient de 14,66 à 61,12 kDa, 10 fractions chez les traitées à la dose sublétales CL₁₀ avec l'absence de la fraction 2 (PM 44,03 kDa) et la présence de 6 fractions chez les traitées à la dose sublétales CL₂₅ avec l'absence des fractions 2, 3,4, 10 et 11 (PM 44,03 ; 37,36 ; 34,43 ; 19,38 ; 14,66 kDa) (Tableau 35 et Fig. 16).

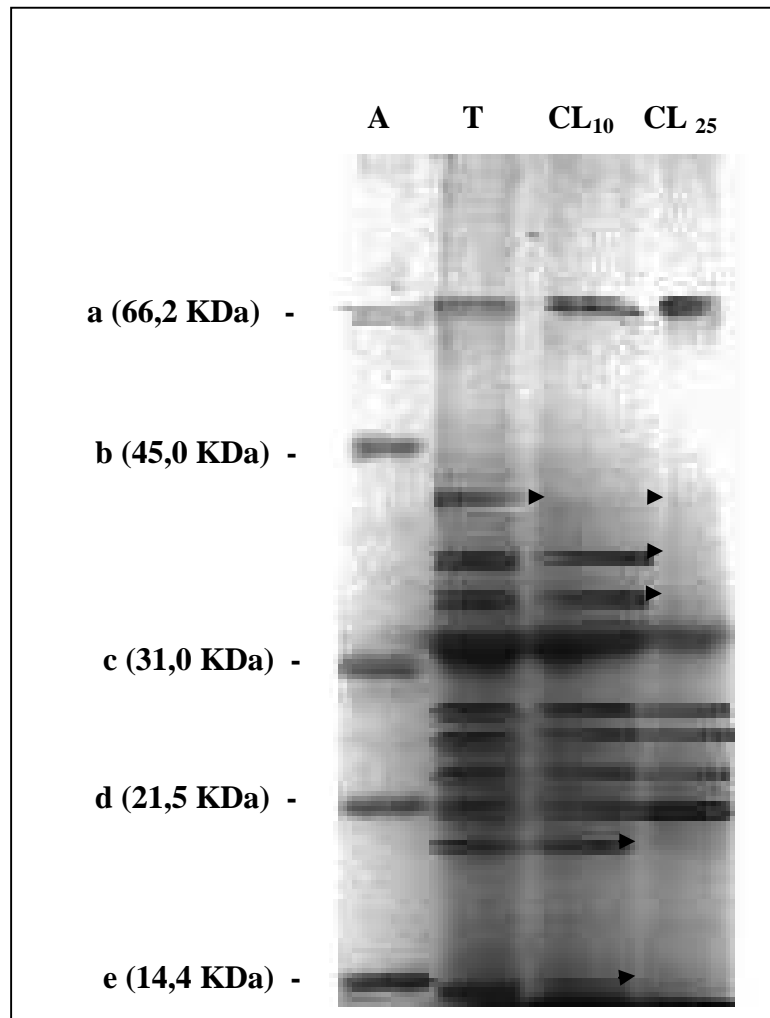


Figure 16. Séparation électrophorétique sur PAGE-SDS (12,5%) des protéines ovariennes de *D. melanogaster* âgées de 4 jours après traitement des pupes nouvellement exuviées. **A** : protéines standards (**a** : Bovine serum albumin (BSA) ; **b** : Ovalbumin ; **c** : Bovine carbonic anhydrase ; **d** : Soybean trypsin inhibitor ; **e** : Lysozyme) ; **T** : femelles témoins ; **CL₁₀** : femelles traitées à la dose sublétales CL₁₀ ; **CL₂₅** : femelles traitées à la dose sublétales CL₂₅. (Tête flèche : Position des bandes manquantes).

Tableau 35 : Poids moléculaire (PM, kDa) des différentes fractions protéiques des ovaires de *D. melanogaster* femelles âgées de 4 jours traité par le spiromesifen aux doses sublétales CL₁₀ et CL₂₅.

Fraction	PM (kDa)	Témoin	CL 10	CL 25
1	61,12	+	+	+
2	44,03	+	0	0
3	37,36	+	+	0
4	34,43	+	+	0
5	31,71	+	+	+
6	26,91	+	+	+
7	24,79	+	+	+
8	22,84	+	+	+
9	21,04	+	+	+
10	19,38	+	+	0
11	14,66	+	+	0

PM : Poids moléculaire ; + : Fraction présente ; 0 : Fraction absente ; T : Témoin ; CL₁₀ et CL₂₅ : Doses sublétales.

3.8. Effet sur le développement de la descendance et la reproduction

Dans nos conditions expérimentales (température 25°C, photopériode de 12 heures de jour (7h-19h) et 12 heures de nuit et humidité relative à 70%) un suivi régulier des pontes de *D. melanogaster* a permis non seulement de déterminer la durée de développement des différents stades larvaires (L₁, L₂ et L₃) et le stade nymphal mais aussi d'évaluer le potentiel reproducteur de chaque femelle étudiée durant 5 jours après émergence (dénombrement des œufs, des larves du 3^{ème} stade, des pupes et des adultes).

3.8.1 Effet du spiromesifen sur le développement

Après éclosion des œufs déposés par les femelles dans les milieux de cultures, on observe 3 stades larvaires (L₁, L₂ et L₃) qui mettent en moyenne $5,75 \pm 0,04$ jours pour les témoins durant lesquels la larve ne cesse de se nourrir. La comparaison entre la série témoin et les séries traitées (CL₁₀ et CL₂₅) montre qu'il n'y a pas de différences significatives ($p > 0,05$) (Tableau 36). Le 3^{ème} stade larvaire se termine par une phase d'errance durant laquelle la larve

cesse de se nourrir, s'immobilise et forme le puparium marquant ainsi le début du stade nymphal qui dure en moyenne $4,77 \pm 0,05$ jours pour les témoins. La comparaison entre les trois séries (Témoin, CL₁₀ et CL₂₅) indique qu'il n'y pas de différences significatives ($p > 0,05$).

Tableau 36: Effet du spiromesifen ($\mu\text{g/pupe}$) administré par application topique à l'exuviation nymphale de *D. melanogaster* sur la durée du développement des stades larvaire et nymphal ($m \pm \text{SD}$, $n = 6$ couples ; pour un même stade, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes $p < 0,05$)

Durée (jours)	Traitement		
	Témoin	CL10	CL25
Stades larvaires (L ₁ ,L ₂ ,L ₃)	$5,75 \pm 0,04$ a	$5,73 \pm 0,06$ a	$5,74 \pm 0,05$ a
Stade nymphal	$4,77 \pm 0,05$ a	$4,75 \pm 0,07$ a	$4,82 \pm 0,10$ a

3.8.2. Effet sur le potentiel reproducteur

D'après les résultats obtenus sur les couples des drosophiles étudiés, on note une perturbation sur l'ensemble du potentiel reproducteur des femelles traitées (CL₁₀ et CL₂₅) comparativement aux témoins (Tableau 37). En effet le dénombrement des œufs déposés par les femelles témoins est de $175,33 \pm 4,84$ œufs/femelle, ce nombre est réduit significativement ($p < 0,001$) par le spiromesifen puisqu'il atteint $146,67 \pm 6,02$ œufs/femelle à la dose sublétales CL₁₀ et seulement $128,50 \pm 2,59$ œufs/femelle à la dose sublétales CL₂₅ ; l'analyse de la variance révèle un effet traitement significatif ($F_{2,15} = 151,06$; $p < 0,001$). De même pour l'effet du traitement sur le nombre moyen des larves de troisième stade (L3) qui révèle une réduction significative par rapport à la série témoin ($p < 0,001$) et l'analyse de la variance révèle un effet traitement significatif ($F_{2,15} = 175,01$; $p < 0,001$). Les résultats indiquent également un nombre moyen des pupes issues de la dernière mue larvaire de $161 \pm 7,80$ pupes/femelle chez la série témoin, ce nombre est également affecté significativement par le traitement ($p < 0,001$) ; on note $124 \pm 7,40$ pupes/femelle à la dose sublétales CL₁₀ et uniquement $96,17 \pm 2,93$ pupes/femelle à la dose sublétales CL₂₅ ; l'analyse de la variance révèle un effet traitement significatif ($F_{2,15} = 153,35$; $p < 0,001$).

Les perturbations provoquées par l'effet du spiromesifen sur les stades immatures de la drosophile provoquent une diminution significative sur le nombre total des adultes émergés

entre les trois séries [(témoin vs CL₁₀, témoin vs CL₂₅ et CL₁₀ vs CL₂₅) p < 0,001] et l'analyse de la variance révèle un effet traitement significatif (F_{2, 15} = 120,74 ; p < 0,001).

De plus, le nombre de femelles témoins est significativement élevé (p < 0,001) par rapport à celui des femelles traitées (CL₁₀ et CL₂₅). De même pour les mâles où le nombre des témoins est significativement supérieur (p < 0,001) aux mâles traités (CL₁₀ et CL₂₅). D'autre part si on compare le nombre des femelles et des mâles, on constate des fréquences significativement élevées à l'avantage des femelles (p < 0,001) puisqu'on compte pour les femelles (témoins : 109,50±4,23 ; CL₁₀ : 82,00±5,44 ; CL₂₅ : 61,33±5,39) alors que le nombre des mâles enregistré dans chaque série est relativement faible (témoins : 49,50±6,12 ; CL₁₀ : 35,50±5,68 ; CL₂₅ : 23,67±4,08). L'analyse de la variance révèle des différences significatifs pour l'effet traitement (F_{2,30} = 151,89; p < 0,001), l'effet sexe (F_{1,30} = 764,90; p < 0,001) et l'interaction traitement, sexe (F_{2,30} = 13,97; p < 0,001).

Tableau 37 : Effet du spiromesifen (µg/pupe) administré par application topique à l'exuviation nymphale de *D. melanogaster* sur le potentiel reproducteur (m ± SD, n = 6 couples; pour un même stade les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à p > 0,05. Tandis que pour les différents sexes, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes à p > 0,05).

Traitements	Nombre						
	Œufs	Larves (L ₃)	Pupes	Adultes	Mâles	Femelles	Sex-ratio
Témoin	175,33±4,84 A	166,17±5,88 A	161,00±7,80 A	159,00±9,47 A	49,50±6,12a A	109,50±4,23b A	0,451± 0,046 A
CL10	146,67±6,02 B	134,83±5,60 B	124,00±7,40 B	117,50±9,31 B	35,50±5,68a B	82,00±5,44b B	0,433 ± 0,065 A
CL25	128,50±2,59 C	108,33±4,50 C	96,17±2,93 C	85,00±5,37 C	23,67±4,08 a C	61,33±5,39 b C	0,390 ± 0,083 A

3.9. Analyse des hydrocarbures cuticulaires

La caractérisation des hydrocarbures cuticulaires (HCs) chez les adultes vierges âgés de 4 jours (âge de maturité sexuelle) issus du traitement des pupes, indique des perturbations observées sur la qualité et la quantité de ces composés.

3.9.1. Effet du spiromesifen sur les femelles

Le spiromesifen affecte le profile cuticulaire chez les femelles traitées (CL₁₀ et CL₂₅) puisqu'elles possèdent des quantités totales d'HCs (774 ng/femelle et 677 ng/femelle respectivement) plus faibles que celles des femelles témoins (1058 ng/femelle) mais de manière non significative (Tableau 38 et Fig. 17). L'analyse de la variance révèle un effet traitement non significatif pour l'ensemble des composés entre femelles témoins et traitées ($F_{2,72} = 1,84$; $p = 0,167$). On note, une diminution dans la quantité relative à chaque composé d'HCs entre les femelles témoins et traitées et on enregistre une différence significative (test *t* de Student) entre elles (témoins et traitées) pour 6 HCs (le 7,11-TD, le 9-T, le 7,11-PD, le 7-P, le n-C27 et le 31-Br).

Chez les femelles témoins, les composés diènes (le 7,11-TD, le 9,13-PD, le 7,13-PD, le 5,9-PD, le 9,13-HD, le 7,11-HD, le 9,13-ND et le 7,11-ND) sont majoritaires et représentent 39,8 % des HCs quantifiés. Ces pourcentages diminuent chez les femelles traitées avec 34,9 % pour les doses CL₁₀ et 34,2 % après traitement à des doses CL₂₅.

3.9.2. Effet du spiromesifen sur les mâles

Après traitement, les quantités totales des HCs chez les mâles sont également réduites mais de manière non significative. On enregistre, 1041 ng/mâle pour les témoins, 743 ng/mâle pour les traités avec la dose sub létale CL₁₀ contre seulement 613 ng/mâle pour les traités avec la dose sub létale CL₂₅ (Tableau 39 et Fig. 18). L'analyse de la variance montre un effet traitement non significatif entre les mâles témoins et traités pour l'ensemble des composés ($F_{2,72} = 2,49$; $p = 0,09$). Cette réduction est également observée au niveau des quantités d'HCs de chaque composé entre les mâles témoins et traités (CL₁₀ et CL₂₅) mais de manière non significative ($p > 0,05$) sauf pour 9 HCs (test « *t* » de Student) (le 23-Br, le 9-T, le 5-T, le n-C23, le 24-Br, le 9-P, le 7-P, le 27-Br et le n-C27).

Chez les mâles témoins, les monoènes (le 7-D, le 9-T, le 7-T, le 5-T, le 7-Te, le 9-P, le 7-P, le 5-T et le 7-H) sont majoritaires et représentent 42,2 % des HCs quantifiés. Après traitement, ces pourcentages varient peu 41,7 % avec les doses CL₁₀ et 38,9 % après traitement à des doses CL₂₅.

3.9.3. Comparaison entre les femelles et les mâles

Si on compare la qualité des HCs entre les femelles (témoins et traitées) et les mâles (témoins et traités), on constate, chez les femelles 28 HCs quantifiés qui sont majoritaires en composés diènes. Tandis que, les mâles possèdent 26 HCs et leur profil est caractérisé par la présence des composés monoènes et du cVA (Tableau 38 et 39).

D'autre part, la comparaison des quantités totales d'HCS entre les deux sexes (témoins et traités) restent proches et l'analyse de la variance des composés en communs entre mâles et femelles révèle des effets : traitement ($F_{2, 90} = 2,65$; $p = 0,07$), sexe ($F_{1, 90} = 0,02$; $p = 0,885$) et interaction traitement-sexe ($F_{2, 90} = 0,01$; $p = 0,990$) non significatifs.

Tableau 38 : Effet du spiromesifen sur les HCs des femelles (m±SEM; ng/femelle; %/femelle; pour un même composé, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à p> 0,05).

Pic	Abréviation	Nom	Quantité			Pourcentage		
			Témoin (n=21)	CL10 (n=13)	CL25 (n=20)	Témoin	CL10	CL25
1	n-C21	n-Heneicosane	9±4 a	4±1 a	4±1 a	1,5	0,3	0,3
2	n-C22	n-Docosane	7±2 a	8±3 a	5±1 a	0,4	1,0	0,3
3	7,11-TD	(Z,Z)-7,11-Tricosadiene	14±2 a	6±1 bc	7±1 c	1,4	0,5	1,0
4	9-T	(Z)-9-Tricosene	54±9 a	28±6 bc	27±5 c	4,1	2,3	4,8
5	7-T	(Z)-7-Tricosene	10±7 a	4±2 a	3±1 a	0,6	0,3	0,2
6	5-T	(Z)-5-Tricosene	9±4 a	5±1 a	5±1 a	0,6	0,4	0,5
7	n-C23	n-Tricosane	103±16 a	79±14 a	75±13 a	8,5	6,3	7,4
8	n-C24	n-Tetracosane	19±8 a	8±2 a	9±1 a	1,1	1,7	2,6
9	9,13-PD	(Z,Z)-9,13-Pentacosadiene	8±5 a	2±1 a	2±1 a	2,1	0,2	0,4
10	7,11-PD	(Z,Z)-7,11-Pentacosadiene	29±6 a	21±5 b	17±3 ab	3,1	1,7	2,0
11	5,9-PD +25-Br + 9-P	(Z,Z)-9,5-Pentacosadiene 2-Methyltetracosane (Z)-9-Pentacosene	72±12 a	47±12 a	45±11 a	7,4	7,0	7,8
12	7-P	(Z)-7-Pentacosene	100±14 a	60±13 bc	56±13 c	8,2	7,8	8,6
13	5-P	(Z)-5-Pentacosene	12±3 a	10±2 a	9±2 a	0,7	0,8	0,6
14	n-C25	n-Pentacosane	97±15 a	85±17 a	82±14 a	11,5	13,2	13,4
15	9,13-HD	(Z,Z)-9,13-Heptacosadiene	14±6 a	5±2 a	4±1 a	0,9	0,4	0,4
16	7,11-HD	(Z,Z)-7,11-Heptacosadiene	65±19 a	53±16 a	54±18 a	16,7	16,4	14,8
17	27-Br + 9-H	2-Methylhexacosane (Z)-9-Heptacosene	33±6 a	30±5 a	27±4 a	3,1	2,4	4,4
18	7-H	(Z)-7-Heptacosene	75±11 a	61±14 a	51±10 a	5,8	6,0	6,3
19	n-C27	n-Heptacosane	64±8 a	47±9 ab	43±6 b	4,7	7,3	4,6
20	28-Br	2-Methylheptacosane	10±7 a	9±6 a	6±3 a	0,6	1,6	1,1
21	9,13-ND	(Z,Z)-9,13-Nonacosadiene	18±9 a	3±1 a	2±1 a	1,0	1,3	1,1
22	7,11-ND	(Z,Z)-7,11-Nonacosadiene	87±13 a	76±14 a	56±10 a	7,2	7,4	6,7
23	29-Br	2-Methyloctacosane	80±11 a	71±9 a	55±8 a	4,8	6,9	5,9
24	n-C29	n-Nonacosane	27±9 a	22±8 a	12±2 a	1,6	2,7	2,0
25	31-Br	2-Methyltriacontane	40±7 a	30±6 ab	22±4 b	2,4	4,1	2,9
Total			1058±76	774±55	677±52			

Tableau 39 : Effet du spiromesifen sur les HCs des mâles (m±SEM; ng/mâle; %/mâle ; pour un même composé, les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes à p> 0,05).

Pic	Abréviation	Nom	Quantité			Pourcentage		
			Témoin (n=20)	CL10 (n=14)	CL25 (n=20)	Témoin	CL10	CL25
1	n-C21	n-Heneicosane	14±5 a	7±2 a	5±1 a	2,0	0,4	0,4
2	cVA	(Z)-11-Vaccenyl Acetate	28±7 a	21±7 a	16±3 a	11,1	12,0	9,7
3	7-D	(Z)-7-Docosene	26±9 a	15±10 a	14±4 a	2,0	4,2	1,9
4	n-C22	n-Docosane	39±12 a	24±5 a	15±4 a	2,0	1,5	1,2
5	23-Br	2-Methyldocosane	28±9 a	18±7 ab	7±2 b	1,4	1,1	0,6
6	9-T	(Z)-9-Tricosene	44±7 a	34±7 ab	27±3 b	2,2	2,1	2,1
7	7-T	(Z)-7-Tricosene	48±19 a	44±17 a	44±15 a	14,6	16,1	17,2
8	5-T	(Z)-5-Tricosene	25±3 a	21±4 ab	16±2 b	1,2	1,3	1,2
9	n-C23	n-Tricosane	115±16 a	71±19 ab	66±15 b	7,3	9,1	10,3
10	24-Br	2-Methyltricosane	17±5 a	6±1 ab	4±1 b	0,9	0,4	0,5
11	7-Te	(Z)-7-Tetracosene	12±4 a	10±4 a	6±1 a	7,0	4,3	0,7
12	n-C24	n-Tetracosane	20±8 a	13±3 a	10±3 a	2,4	1,8	2,2
13	25-Br	2-Methyltetracosane	13±3 a	10±3 a	8±4 a	0,7	1,1	1,4
14	9-P	(Z)-9-Pentacosene	83±11 a	59±11 ab	49±6 b	4,9	3,7	4,4
15	7-P	(Z)-7-Pentacosene	147±19 a	85±15 bc	75±13 c	8,6	8,2	9,9
16	5-P	(Z)-5-Pentacosene	7±2 a	6±2 a	3±1 a	1,2	0,5	0,4
17	n-C25	n-Pentacosane	45±9 a	38±9 a	29±5 a	12,1	5,2	6,0
18	26-Br	2-Methylpentacosane	19±8 a	11±4 a	9±3 a	0,9	0,7	0,8
19	27-Br + 9-H	2-Methylhexacosane (Z)-9-Heptacosene	94±10 a	81±13 ab	66±8 b	4,7	6,5	6,5
20	7-H	(Z)-7-Heptacosene	11±3 a	9±5 a	7±2 a	0,5	1,3	1,1
21	n-C27	n-Heptacosane	37±4 a	25±4 bc	19±3 c	1,9	3,1	3,5
22	28-Br	2-Methylheptacosane	45±15 a	34±15 a	24±12 a	3,2	3,1	3,1
23	29-Br	2-Methyloctacosane	76±8 a	61±12 a	58±8 a	3,8	5,8	7,1
24	n-C29	n-Nonacosane	16±4 a	13±4 a	8±2 a	1,1	3,0	3,8
25	31-Br	2-Methyltriacontane	31±5 a	29±7 a	28±5 a	2,3	3,4	4,0
Total			1041±72	743±56	613±35			

4. DISCUSSION

4.1. Toxicité à l'égard des pupes

De par leurs objectifs et mode d'action, les insecticides utilisés dans le milieu naturel ont un impact écologique plus ou moins important selon leur efficacité, leur toxicité plus ou moins ciblée et leur rémanence dans l'environnement. Ainsi, l'usage des pesticides conventionnels de manière prolongée, intensive, répétée et non spécifique a provoqué non seulement des altérations de l'environnement, mais aussi des perturbations au niveau de plusieurs systèmes physiologiques (croissance, reproduction et métabolisme) chez les organismes non visés (Gagné *et al.*, 1999). Ces produits ont conduit également au développement de nouvelles espèces de nuisibles et l'apparition de souches résistantes (Dong *et al.*, 1998 ; Valles *et al.*, 2000 ; Fulton & Key, 2001 ; Palumbo *et al.*, 2001 ; Yu *et al.*, 2003 ; Wang *et al.*, 2004 ; Kristensen *et al.*, 2005 ; Swanton *et al.*, 2011).

Par conséquent, les agences spécialisées ont instauré des systèmes complexes d'homologation; des organismes de suivi et de contrôle ont établi des conditions préalables avant toute mise sur le marché d'un produit nouveau. Des données sur la toxicité chronique et aiguë de la molécule vis-à-vis des mammifères, des poissons et des abeilles, par exemple, ses voies de dégradation et son devenir dans l'environnement sont nécessaires. Ces programmes furent lancés d'une part pour le suivi des résidus de pesticides et leur persistance dans l'eau, le sol mais aussi leur bioaccumulation le long des chaînes alimentaires ; d'autre part, pour éviter la résistance des nuisibles. Ainsi, des composés alternatifs aux pesticides conventionnels sont développés, moins toxiques et plus spécifiques, capables d'interférer spécifiquement sur le développement de l'insecte (Dhadialla *et al.*, 2005 ; Bruneton, 2009).

Parmi ces molécules, le spiromesifen est classé dans le groupe 23 selon l'Insecticide Resistance Action Committee (2005). Du fait de son importance dans le programme de gestion de la résistance (Horowitz & Ishaaya, 2004 ; Ishaaya & Horowitz, 2007) et de son mode d'action sur la synthèse des lipides via l'inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase (Nauen *et al.*, 2005) et de sa faible toxicité à l'égard des espèces d'Arthropodes non ciblées, notamment les abeilles (Nicolaus *et al.*, 2005) ou les prédateurs (Planes *et al.*, 2013), le spiromesifen constitue une alternative prometteuse. Ce nouveau produit synthétique dérivé des acides tétroniques spirocycliques est utilisé pour lutter contre certains ravageurs de

cultures comme les acariens et les aleurodes (Bretschneider *et al.*, 2003 ; Nauen & Konanz, 2005) et est plus efficace à tous les stades immatures y compris les œufs par contact et par ingestion (Dekeyser, 2005 ; Prabhaker *et al.*, 2008). Sharma *et al.*, (2007) révèlent que la persistance du spiromesifen dans le sol varie de nulle à modérée, selon les caractéristiques du sol ; il est légèrement persistant dans l'eau et compte tenu de sa faible volatilité, les résidus du produit ne se trouvent pas dans l'air. Cette même équipe indique également, que les résidus du spiromesifen n'ont pas été détectés dans les échantillons de cultures et dans le sol après 15 jours de son application. De plus, les travaux de Palumbo (2009) montrent que le spiromesifen et le buprofezin ne sont pas des contaminants pour les végétaux.

Notre étude sur le spiromesifen a été réalisée sur les pupes de *D. melanogaster*. Ainsi, les paramètres de létalité ont été déterminés et les différentes concentrations létales ($\mu\text{g/pupe}$) en application topique précisées : $\text{CL}_{50} = 72,82$ et $\text{CL}_{90} = 247,2$. La molécule manifeste une activité insecticide à l'égard des pupes de *D. melanogaster* avec une relation dose-réponse significative. Ces résultats sont similaires aux travaux antérieurs portant sur la toxicité chez les œufs, les larves et les adultes de *B. tabaci* biotype B (aleurode de la patate douce) ; les résultats indiquent des taux de mortalité chez les adultes de *B. tabaci* de 40% ainsi que des malformations des œufs et les larves néonates (Kontsedalov *et al.*, 2008b ; Ghanim & Kontsedalov, 2009). Un autre travail réalisé sur l'acarien *T. urticae* révèle des pourcentages de femelles survivant au traitement variant selon la dose de l'ordre de 50% (180 mg/l), 45% (18 mg/l), 51% (1,8 mg/l), 74% (0,18 mg/l), 96 % (0,018 mg/l) et 98% (0 mg/l) ; cependant, les femelles traitées aux doses les plus élevées (180 et 18 mg/l) ne déposées pas d'œufs (Mar i *et al.*, 2009). Le spiromesifen utilisé en serre contre les mouches blanches et de nombreuses espèces d'acariens (*Tetranychus* et *Panonychus* spp) est efficace à de très faibles doses de 100 à 150 g/ha (Bretschneider *et al.*, 2003).

L'effet toxique du spiromesifen a été évalué récemment sur d'autres espèces de Diptères comme les larves du 4^{ème} stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* et les résultats indiquent une toxicité avec une relation dose-réponse significative; les DL_{50} obtenues sont 551,57 et 542,21 $\mu\text{g/l}$, respectivement (Bouabida, 2014). Ces résultats sont similaires à ceux trouvés chez *B. tabaci* en appliquant le produit sur les feuilles de coton en laboratoire (DL_{50} : 500 et DL_{90} : 1400 $\mu\text{g/l}$) (Kontsedalov *et al.*, 2008). Par ailleurs, le spiromesifen est extrêmement efficace contre *B. tabaci* biotype Q résistantes

au pyriproxyfen et aux insecticides néonicotinoïdes (Horowitz *et al.*, 2004 ; Nauen & Konanz, 2005 ; Reditakis *et al.*, 2009 ; Luo *et al.*, 2010) ; mais aussi chez *B. tabaci* biotype B (Wang *et al.*, 2009; Schuster *et al.*, 2010). Chez la même espèce, le spiromesifen présente un effet plus marqué sur les œufs et les stades larvaires, tandis que son effet est modéré sur les adultes et les stades nymphaux (Nauen *et al.*, 2003 ; Nauen & Konanz, 2005). La même molécule, utilisée à différentes doses (0,0024; 0,024; 0,24; 2,4 et 24 mg/l) sur les plantes de tomates et de pommes de terre disposées dans une cage entomologique, induit une mortalité des nymphes chez *Bactericera cockerelli* (Hemiptera, Triozidae) (Tucuch *et al.*, 2010).

D'autre part, l'application de deux mimétiques de l'hormone de mue, le méthoxyfénozide et l'halofénozide a pu mettre en évidence des toxicités à l'égard de deux espèces de moustiques : *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* avec une relation dose réponse (Tine-Djebbar, 2009). D'autres travaux sur *Culex pipiens* utilisant l'alsystine, un inhibiteur de la synthèse de la chitine montrent des effets toxiques avec des aberrations morphologiques (Soltani *et al.*, 1999). De même, l'effet d'un autre régulateur de croissance analogue de l'hormone juvénile, le kinoprène utilisé à différentes concentrations (comprises entre 162,5 et 650 µg/l) sur la même espèce de moustique révèle une activité insecticide sur les larves de 4^{ème} stade (Hamaidia & Soltani, 2014).

4.2. Impact sur la croissance et le développement

Les résultats obtenus au cours de notre étude réalisée par application topique de deux doses sublétales (CL₁₀ : 21,45 et CL₂₅ : 39,53 µg/pupe) sur les pupes nouvellement exuviées (sexes non séparés) révèlent une réduction du poids des pupes au cours du développement nymphal à la concentration sublétale la plus élevée et à 1 jour seulement après traitement. Très récemment, il a été mis en évidence par Testa *et al.* (2013) un dimorphisme sexuel au niveau du poids chez les pupes de *D. melanogaster*, en déterminant le sexe par la présence ou l'absence d'un chromosome X marqué hérité du père. Sachant que la durée du développement et la masse corporelle de chaque stade (larve de 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} stade ; pupes ; adultes) étaient enregistrées chaque 24h, ainsi le sexe des pupes a été déterminé et les femelles émergées pèsent plus que les mâles. De plus, le profil de l'évolution du poids des pupes de cette étude est similaire à la notre. En effet, nos résultats révèlent que le poids de la pupes témoin à 0 jour est de 1,54 mg, ensuite il diminue progressivement jusqu'à se stabiliser à 1,18 mg. L'impact

du spiromesifen (DL₅₀ et DL₉₀) chez les différents stades de *C. longiareolata* et *C. pipiens* provoque une réduction de divers paramètres biométriques comme la largeur du thorax des larves de 4^{ème} stade, la largeur céphalothoracique des pupes, la longueur des ailes des adultes ainsi que le poids et le volume corporel (Bouabida, 2014). De même, pour la caractérisation morphométrique de certaines espèces de moustiques inventoriées dans la région de Tébessa, les résultats ont révélé une augmentation significative du volume corporel et une diminution du poids corporel des individus au cours des stades testés (Tine-Djebbar *et al.*, 2011). Des résultats similaires ont été obtenus suite à l'application d'un dérivé de la benzoylphenylurée (Novarulon) avec notamment une réduction du poids corporel chez *C. pipiens* (Djeghader *et al.*, 2013) aussi chez *C. longiareolata* (Bouaziz *et al.*, 2011). L'halofénozide, un agoniste de l'hormone de mue perturbe également les paramètres biométriques des moustiques (Tine-Djebbar, 2009). De plus, dans une étude utilisant deux agonistes (RH-2485 et RH-0345) sur *Harmonia axyridis* (Coleoptera, Coccinellidae), une chute de poids des larves avec des mues larvaires prématurées et des nymphoses incomplètes sont signalées (Carton *et al.*, 2003).

Notre étude sur *D. melanogaster* ne révèle aucun effet significatif sur la durée du développement nymphal induite par le spiromesifen. Des observations similaires ont été signalées par Testa *et al.*, (2013) sur la même espèce où le chromosome X été marqué et le développement des différents stades suivi ; ainsi, ils ont constaté que la durée du stade larvaire est d'environ 4 jours et de même pour le développement des pupes.

Le novaluron à la CL₉₀ (inhibiteur de la synthèse de la chitine) chez des larves L₃ et L₄ de *C. pipiens* provoque une augmentation significative de la durée de développement larvaire suivie par une diminution significative de la longévité des adultes et de la taille en fonction des concentrations, ainsi que l'apparition de certains aspects morphologiques lors du traitement (Djeghader *et al.*, 2014).

4.3. Impact sur la composition biochimique des pupes

Des constituants biochimiques sont synthétisés dans le corps gras (Keely, 1985 ; Van Hensden & Law, 1989) puis transportés vers les organes utilisateurs (Chino *et al.*, 1981; Dapporto *et al.*, 2008; Zhou & Miesfeld, 2009) *via* l'hémolymphe (Downer, 1985 ; Keely, 1985). Les variations de ces métabolites s'observent pendant le cycle de mue, la vitellogénèse

et l'embryogénèse. En effet, durant ses différents stades évolutifs (stade larvaire, nymphal, imaginal), des modifications métaboliques intenses liées aux systèmes hormonaux et neurosécrétoires sont observées (Buck, 1953 ; Lamy, 1964 a ; Lamy, 1964 b ; Marty, 1968 ; Lamy, 1969). Les lipides jouent un rôle primordial dans les processus de reproduction et de développement des insectes où ils représentent 30 à 40% du poids sec des ovocytes (Allais *et al.*, 1964 ; Troy *et al.*, 1975 ; Kawooya & Law, 1988 ; Briegel, 1990). De plus, les acides gras sont connus pour faire partie de voies métaboliques importantes comme la synthèse de phéromones ; ce sont des éléments constitutifs des phospholipides et des glycolipides qui eux-mêmes sont des constituants des membranes lipidiques; ils représentent également un réservoir énergétique important.

Chez *D. melanogaster*, le spiromesifen réduit rapidement la teneur en lipides corporels totaux au cours du développement nymphal et ceci avec une relation dose-réponse, confirmant ainsi son mécanisme d'action primaire sur la synthèse des lipides *via* l'inhibition de l'acétyl-CoA carboxylase, une enzyme catalysant la carboxylation de l'acétyl-CoA en malonyl-CoA, qui est une des première étapes de la biosynthèse des acides gras (Bretschneider *et al.*, 2003 ; Nauen *et al.*, 2005). Chez *Blatella germanica*, une diminution des taux de lipides ovariens a été obtenue après traitement avec l'acide borique, un insecticide inorganique (Kilani-Morakchi *et al.*, 2009) et avec l'halofenozide (agoniste des ecdystéroïdes) ou le méthoprène (mimétique de l'hormone de mue) (Maïza *et al.*, 2004) ainsi qu'avec l'indoxacarbe (groupe des oxadiazines) (Maïza *et al.*, 2010). Le méthoxyfenozide provoque également une diminution des taux de lipides ovariens après traitement des pupes d'*E. kuehniella* (Soltani-Mazouni *et al.*, 2012). L'étude menée sur certaines espèces de moustiques inventoriées dans la région de Tébessa, d'importance médicale (*Aedes caspius* , *C. pipiens* , *C. perexiguus* et *C. theileri*) ou vétérinaire (*C. longiareolata* et *C. annulata*) montre des différences significatives dans la composition biochimique des larves L₄ et des adultes mâle et femelle entre les espèces testées au cours du cycle de vie. De plus, le genre *Culex* est le plus riche en réserves métaboliques par rapport aux autres espèces inventoriées (Tine-Djebbar *et al.*, 2011). Quant à l'utilisation du novaluron chez *C. longiareolata*, il induit une perturbation dans la composition biochimique avec l'augmentation des taux de glucides et lipides et une diminution des taux corporels des protéines (Bouaziz *et al.*, 2011).

Les glucides représentent l'élément énergétique principal de l'organisme. Les taux de glycogène et de tréhalose dans les tissus et l'hémolymphe sont étroitement liés aux événements physiologiques comme la mue et la reproduction (Wiens & Gilbert, 1968). Les résultats obtenus avec le spiromesifen, montrent que ce dernier a un effet rapide sur le taux de glucides et cause une diminution significative surtout avec la CL₂₅. Par ailleurs, l'halofénoside (RH0345) entraîne une diminution des concentrations en glucides, chez *Anthonomus grandis* (Thompson & Skorvovski, 1982) et chez *B. germanica* (Rouibi, 2002). Les mêmes effets sont constatés chez *Musca domestica* avec l'altoside ou ZR-515 (analogue de l'hormone juvénile) (Abou El-Ala *et al.*, 1990). L'halofénoside et le méthoprène (Maiza *et al.*, 2004) et l'indoxacarbe (groupe des oxadiazines) (Maïza *et al.*, 2010) diminuent les taux de glucides chez *B. germanica*.

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces vivantes connues (Malher & Gordes, 1968). Elles sont impliquées dans diverses réactions et assurent la catalyse biochimique et la régulation hormonale entre autres (Jacobe *et al.*, 1961). Notre expérimentation réalisée sur *D. melanogaster* indique que le spiromesifen, en application topique sur les pupes nouvellement exuviées, réduit le taux de protéines avec un effet temps et un effet dose significatifs. Les travaux de Stemberger & Gilbert (1985, 1987) ont montré que le contenu en protéines est faible quand le volume corporel des espèces est petit. Des résultats similaires obtenus chez plusieurs espèces traitées avec des IGRs tels que les agonistes des ecdystéroïdes (RH 5849, RH 5992 et RH0345) révèlent une diminution du contenu en protéines chez *Spodoptera littoralis* (Smaghe & Deggheele, 1992), *Leptinotarsa decemlineata* (Smaghe *et al.*, 1999), *Tenebrio molitor* (Soltani *et al.*, 2002) et chez *B. germanica* (Kilani-Morakchi *et al.*, 2009) ainsi que le fénoxycarbe chez *Locusta migratoria* (Dekort & Koopmanshap, 1991) et *Bombyx mori* (Monconduit & Mauchamp, 1998). D'autres IGRs présentent des effets similaires chez *T. molitor* comme le KK42 (antagoniste de l'hormone de mue) (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001), les analogues de l'hormone juvénile comme le pyriproxifène (Aribi *et al.*, 2006) ou encore l'halofénoside, le méthoprène (Maiza *et al.*, 2004) et l'indoxacarbe (Maïza *et al.*, 2010) chez *B. germanica*. Le méthoxyfénoside (agoniste de l'ecdysone) cause quant à lui une diminution des taux de protéines des ovaires des femelles d'*E. kuehniella* traitées au stade pupal (Soltani-Mazouni *et al.*, 2012).

4.4. Impact sur le taux de malondialdéhyde

La peroxydation lipidique est un processus complexe qui peut créer des altérations de la membrane cellulaire telles que la modification de sa fluidité, l'inactivation de récepteurs ou d'enzymes conduisant à la formation d'importantes lésions au niveau des tissus et des organes (Van der Vaart *et al.*, 2004). Le malondialdéhyde (MDA), formé lors de l'action des radicaux libres sur les acides gras polyinsaturés, est largement utilisé comme biomarqueur de la peroxydation lipidique et plus généralement d'un stress oxydatif (Zielinski & Pörtner, 2000 ; Viarengo *et al.*, 2007). Le MDA peut interagir avec les acides aminés, les protéines, les phospholipides et l'ADN (Storey, 1996 ; Stohs *et al.*, 2000), pour former des biomolécules toxiques, non dégradables par l'organisme et qui s'accumulent avec l'âge (Leibovitz & Siegel, 1980). Le présent travail montre que le spiromesifen appliqué sur les pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster* augmente rapidement le taux de MDA (24 h après le traitement) par rapport aux témoins. Ceci révèle que le spiromesifen induit un stress oxydatif qui conduit à la peroxydation des lipides. Le statut normal est restauré 3 jours après traitement, ce qui suggère l'activation d'un système de détoxification des peroxydes lipidiques. Des résultats comparables ont été notés dans une étude sur les larves de 4^{ème} stade de *C. longiareolata* et *C. pipiens* à 24, 48, 72 et 96 h avec une augmentation très significative du taux du MDA après traitement par le spiromesifen comparativement aux témoins (Bouabida, 2014).

Il a été rapporté que l'exposition à un xénobiotique peut induire des dommages oxydatifs dans différents tissus, entraînant une augmentation de la peroxydation lipidique des membranes (Shukla *et al.*, 2000 ; Gélet *et al.*, 2002). De plus, les résultats de plusieurs travaux renforcent l'implication du stress oxydatif et, en particulier, la peroxydation lipidique dans la toxicité des pesticides.

4.5. Impact sur la morphométrie de l'ovaire

Les données obtenues sur la morphométrie des ovaires révèlent une diminution des paramètres mesurés à savoir le poids frais des ovaires, le nombre d'ovocytes par paire d'ovaire, la longueur, la largeur et le volume de l'ovocyte basal, ceci avec une relation dose-réponse significative. Ceci confirme les effets indirects du spiromesifen sur certaines espèces ciblées grâce à son caractère fortement lipophile (Sharma *et al.*, 2007). Ceci concorde avec les résultats obtenus chez deux espèces de moustiques, *C. pipiens* et *C. longiareolata* après

traitement par le même produit; il cause une réduction du nombre d'ovocytes, de la largeur, la longueur et du volume de l'ovocyte basal chez les femelles et induit une diminution de la largeur et de la longueur des testicules à différents jours de la vie d'adultes (Bouabida, 2014). Ces perturbations du nombre d'ovocytes et de la morphométrie des ovaires ont été également rapportées suite à des traitements avec d'autres insecticides notamment des agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485 et RH-0345) sur les femelles de *C. pipiens* et *C. longiareolata*. (Tine-Djebbar, 2009).

4.6. Impact sur les protéines ovariennes

Le spiromesifen diminue significativement les taux de protéines ovariennes en fonction de la dose administrée aux pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster*. Des résultats similaires ont été observés chez *B. germanica*, une diminution des taux de protéines ovariennes a été obtenue après traitement avec l'acide borique, un insecticide inorganique (Kilani-Morakchi *et al.*, 2009) et avec l'halofenozide (agoniste des ecdystéroïdes) ou le methoprène (mimétique de l'hormone de mue) (Maïza *et al.*, 2004) ainsi qu'avec l'indoxacarbe (groupe des oxadiazines) (Maïza *et al.*, 2010). Le RH-0345 réduit les concentrations des protéines ovariennes (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001) chez *T. molitor*, mais aussi chez un poisson larvivoire, *Gambusia affinis* ou il affecte les concentrations en protéines, glucides et lipides dans les ovaires et dans l'hépatopancréas (Bouzioukh, 2000). Une réduction du taux des métabolites ovariens chez *T. molitor* a lieu après traitement avec le DFB (Soltani-Mazouni & Soltani, 1992) et le KK42, dérivé de l'imidazole, utilisé chez *T. molitor* in vivo (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001).

L'électrophorèse est une des meilleures techniques pour évaluer la variation de la qualité des métabolites des insectes. Bien que l'étude de protéines individuelles facilite l'investigation de la nature chimique et les fonctions physiologiques de chaque protéine, la mesure des protéines totales révèle le résultat net de la biosynthèse et l'utilisation des protéines (Mohammed & Hafez, 2000). Dans la présente étude l'évaluation de l'effet du spiromesifen sur la qualité des protéines ovariennes de *D. melanogaster* révèle que le nombre de fractions protéiques diminue selon la dose appliquée, puisqu'on note 11 fractions pour les témoins, 10 fractions pour les traités à la dose sublétales CL₁₀ et seulement 6 fractions pour les traités à la dose sublétales CL₂₅. L'étude portant sur l'évaluation du RH-2485 et du RH-5992

(mimétiques de l'hormone de mue) sur la quantité et la qualité des protéines dans les testicules d'adultes d'*Ephestia kuehniella* montre que la quantité des protéines testiculaires présente une légère augmentation non significative après traitement avec les deux molécules testées et le nombre de fractions protéiques est le même (13 bandes) chez les témoins et les deux séries traitées (Bouzeraa, 2014).

4.7. Impact sur le potentiel reproducteur

Depuis longtemps, les drosophiles adultes sont connues pour vivre de manière plus ou moins grégaire, s'agrégant en petits groupes sur les patches de nourritures, où les individus s'alimentent, se reproduisent et déposent les œufs (Jaenicke & James 1991; del Solar 1998; Lefranc *et al.*, 2001; Robinson & Ben Shahr, 2002 ; Wertheim *et al.*, 2006; Takahashi, 2006). Ainsi, la fonction reproductrice de la femelle d'insecte constitue un thème très étudié en raison de sa grande sensibilité aux variations physiologiques ou génétiques des individus mais aussi de son importance dans la dynamique des populations. La fécondité est certainement la plus caractéristique de l'action de ce facteur. Les mouches ont également développé un processus comportemental pour adapter la quantité de ponte au nombre et à la taille des ressources. En effet, La quantité d'œufs pondus par femelle diminue avec l'augmentation du nombre de femelles (Wertheim *et al.* 2006) ; de plus, elles adaptent la taille des nids à la surface des ressources disponibles (Godfray *et al.*, 1991; Heard & Remer, 1997).

Le potentiel reproducteur de *D. melanogaster* est affecté par l'effet différé du spiromesifen administré sur les pupes nouvellement exuviées. En effet, la fécondité des adultes qui survivent au traitement des pupes diminue significativement. De plus, le nombre de femelles qui émergent est plus élevé par rapport à celui des mâles. Le spiromesifen a fait l'objet de travaux antérieurs portant sur la fécondité et la fertilité chez l'acarien *T. urticae* avec plusieurs concentrations (180; 18; 1,8 et 0,8 mg/l) révélant une diminution de manière très significative pour la fécondité (61-85%), la fertilité (64-87%) jusqu'à devenir nulles pour les doses les plus élevées (Mar i *et al.*, 2010). Nauen *et al.* (2005) ont confirmé les mêmes résultats d'inhibition de la fertilité et de la fécondité chez *T. urticae*. Le spiroadiclofen (même famille que le spiromesifen) semble avoir les mêmes effets sur la fertilité et la fécondité sur la même espèce (Mar i , 2007 ; Van Pottelberge *et al.*, 2009). Quant à l'effet du spiromesifen sur *B. tabaci* biotype B, Kontsedalov *et al.* (2009) ont montré que la fertilité des femelles traitées avec 0,5 mg/l était presque nulle alors qu'avec 0,05 mg/l, elle atteignait 50 à 70 % de

celle des témoins ; et la microscopie électronique à balayage a révélé que les œufs pondus par les femelles traitées avaient un chorion anormalement perforée ainsi qu'une réduction significative du nombre d'ovarioles. De plus, l'application du spiromesifen et du buprofezin sur *B. tabaci* et *B. argentifolii*, provoque une réduction du nombre de population particulièrement au stade nymphal (Palumbo, 2009).

Par ailleurs, l'application par ingestion du diazinon, un insecticide phosphorique organique sur *D. melanogaster* a provoqué l'inhibition du développement de l'œuf au troisième stade larvaire dans les générations F1 et F2 (Karata *et al.*, 2009). Des effets similaires ont été observés par l'application du novaluron sur *B. argentifolii* (Colyd *et al.*, 2004), *Leptinotarsa decemlineata* (Alyokhin *et al.*, 2008, 2009), contre *Tribolium castaneum* (Trostyansky & Kostyukovsky, 2008) et *Cydia pomonella* (Gökçe *et al.*, 2009 ; Kim *et al.*, 2011). Récemment, d'autres expérimentations ont été réalisées avec des régulateurs de croissance, analogues de l'hormone juvénile chez *Mustica domestica*. En effet, le traitement par le Diofenolan a provoqué une réduction de la fécondité et de la fertilité (Pezzi & Leis, 2011). Les mêmes auteurs ont démontré après l'observation microscopique une dégénérescence des cellules folliculaires secondaires et tertiaires, ainsi qu'une diminution du contenu en ecdystéroïdes ovarien. De plus, dans ces conditions les femelles apparaissent avec un abdomen anormal de forme enfilée et un ovipositeur allongé, comparativement aux témoins.

4.8. Impact sur les hydrocarbures cuticulaires

Chez la drosophile, les phéromones sexuelles situées sur la cuticule (1 à 2 µg ayant une chaîne carbonée de 20 à 31 carbones) (Howard, 1993), ont un rôle très important dans le comportement de cour qui précède l'accouplement et la reproduction (Wyatt, 2003 ; Tal Soo & Dean, 2006). Ce sont souvent ces signaux chimiques qui guident l'insecte vers son lieu de ponte, ou vers les sources de nourriture, ce sont également des molécules en suspension dans l'air ambiant (molécules volatiles à propriétés odorantes) qui permettent à l'insecte de détecter le partenaire sexuel, de localiser ses rivaux, ses prédateurs ou encore d'identifier ses congénères (Masson & Brossut, 1981). En effet, les signaux chimiques tiennent une place importante dans la parade des drosophiles, car sans communication efficace, les individus ne peuvent pas s'accoupler.

Dès qu'ils se retrouvent à proximité, généralement sur une source de nourriture, les drosophiles réalisent toute une série de comportements stéréotypés annonçant la copulation (Greenspan & Ferveur, 2000). Le mâle, en premier lieu, s'oriente vers une femelle potentielle et lui tape sur la cuticule avec ses pattes ; si la femelle bouge, le mâle la suit. Tandis que la femelle se déplace, le mâle fait vibrer une de ses ailes. Puis, lorsque la femelle s'arrête, le mâle tourne en cercles autour d'elle, lui lèche son genitalia avec son proboscis et tente de copuler (Fig. 25). Bien que le mâle apparaisse comme étant le plus actif, en réalité, l'interaction entre mâle et femelle est lié à un échange de phéromones. La parade sexuelle de la femelle consiste en des comportements d'acceptation ou de rejet du mâle (Sturtevant, 1915 ; Connoly & Cook, 1973). Chez la femelle, une locomotion réduite, une augmentation de la fréquence de nettoyage de son abdomen, une extrusion partielle de son ovipositeur et l'émission d'une gouttelette par l'ovipositeur indiquent une réceptivité de cette dernière (Lasbleiz *et al.*, 2006). Au contraire, une femelle non réceptive va donner des coups de pattes au mâle, élever et descendre son abdomen, fuir ou extruder totalement son ovipositeur (Spieth, 1952 ; Lasbleiz *et al.*, 2006). La femelle est le partenaire sexuel qui investit le plus dans la reproduction. En effet, elle possède un faible nombre d'ovules coûteux à produire alors que le mâle possède un nombre élevé de spermatozoïdes. Trivers (1972) en a conclu que les femelles doivent être plus discriminatives que les mâles puisqu'elles doivent trouver dès le premier accouplement le partenaire qui engendrera des descendants ayant une bonne "fitness".

Les espèces du genre *Drosophila* possèdent des profils hydrocarbonés très différents que ce soit par le nombre de composés, la taille de la chaîne carbonée, le nombre de doubles liaisons, la quantité totale d'hydrocarbures et la présence ou non d'un dimorphisme sexuel (Ferveur, 2005). Chez les mâles, les HCs majoritaires sont des monoènes tels que le 7-tricosène (7-T) chez les souches d'habitats tempérés ou le 7-pentacosène (7-P) chez les souches tropicales et équatoriales. Le ratio 7-T/7-P montre une diminution progressive en descendant vers l'équateur (Rouault, 2000). Chez les femelles, suivant leur répartition géographique, les HCs majoritaires sont des diènes : soit le 7,11-heptacosadiène (7,11-HD) soit le 5,9-heptacosadiène (5,9-HD) (Jallon & Péchiné, 1989). Cependant, la variation des ratio 7-T/7-P et 7,11-HD/5,9-HD ne ségrégent pas systématiquement dans les mêmes lignées (Ferveur *et al.*, 1996).

Nos résultats confirment le dimorphisme sexuel des HCs chez *D. melanogaster* et révèlent que le spiromesifen cause une légère réduction mais de manière non significative de leurs quantités. Les travaux d'Amira *et al.* (2013) montrent l'effet d'un régulateur de croissance des insectes (halofenozide) sur les HCs chez les larves de *C. pipiens* avec les doses létales suivantes : $CL_{50} = 12,58$ et $CL_{90} = 28,58$ $\mu\text{g/l}$; les résultats montrent 7 pics majeurs de type *n*-alkane de C23-C29 avec des différences quantitatives entre âge. Les résultats sont confirmés par l'application de l'halofenozide et du spinosad sur *B. germanica* avec une réduction quantitative des hydrocarbures cuticulaires majeurs (Kilani-Morakchi *et al.*, 2009; Habbachi *et al.*, 2009).

La production des HCs est influencée par les conditions physiologiques, le profil hydrocarboné correspondant à la maturité sexuelle apparaît à 4 jours après l'émergence (Everaerts, 2010 ; Farine *et al.*, 2012). Qu'ils soient présents en forte ou en faible quantité, certains hydrocarbures ont été directement montrés comme jouant un rôle lors de la parade (Fig 25). Le 5-tricosène (5-T), composé mineur des femelles et détecté par le mâle pendant la phase d'orientation, augmenterait la latence avant l'initiation de la parade (Ferveur & Sureau, 1996). De même, le 7-P et le 9-P augmentent le nombre de tentatives d'accouplement (Ferveur & Sureau, 1996 ; Siwicki *et al.*, 2005). Les composés majoritaires des femelles comme le 7,11-HD ou le 7,11-ND stimulent la parade des mâles (Antony *et al.*, 1985 ; Sureau & Ferveur, 1999), mais surtout en condition de compétition. Il a été prouvé que les femelles pauvres en 7,11-HD induisaient moins de copulation que des femelles riches. Quant au 7,11-ND dont les effets sur les comportements sont plus faibles, il exerce un fort effet synergique sur le 7,11-HD. Ces HCs étant lourds et donc peu volatiles, la transmission de l'information nécessite un fort rapprochement spatial des deux géniteurs et s'effectue plutôt par gustation (Marcillac & Ferveur, 2004).

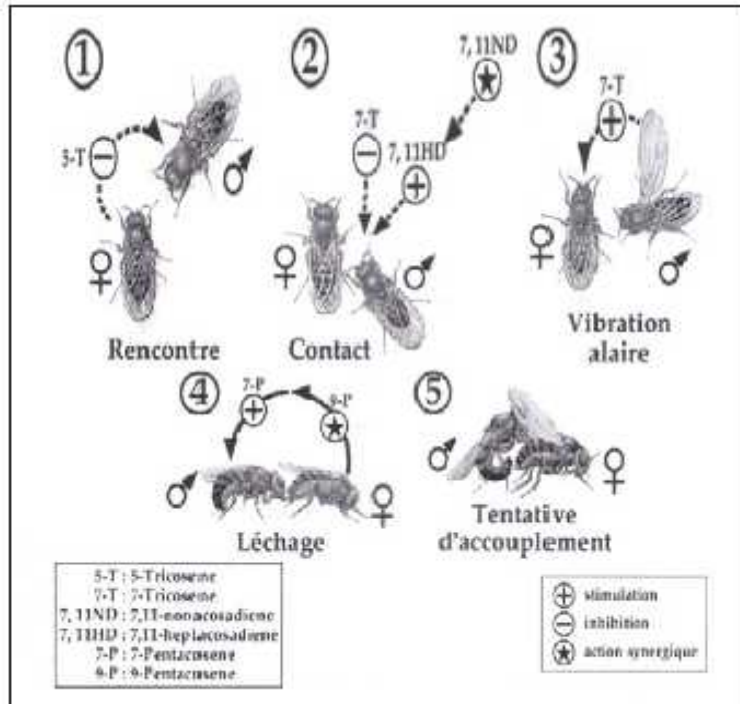


Figure 19. Séquences des comportements pendant la parade sexuelle d'un mâle de drosophile. La séquence comportementale est sous le contrôle des interactions chimiques entre les deux partenaires. La légende à gauche correspond aux hydrocarbures cuticulaires (phéromones sexuelles) produits par les partenaires et celle de droite à leurs effets sur le comportement au cours des différentes phases de la parade. Source: Everaerts C., CNRS UMR 5548 (Chabaud, 2008).

Les HCs présents sur la cuticule des mâles jouent aussi un rôle pendant la parade. En effet, Il a été montré que le 7-T produit par le mâle et transmis comme un signal spécifique à la femelle par l'aile du mâle ; il augmente également la réceptivité des femelles (Grillet *et al.*, 2006). De plus, le 7-T et le 7-P inhibent la parade intra-spécifique homosexuelle. Cependant, tous les mâles sont inhibés par le 7-T (Lacaille *et al.*, 2007) alors que seuls les mâles possédant du 7-P sont inhibés par le 7-P (Sureau & Ferveur, 1999).

La cis-vaccenyl acetate (cVA) est également impliquée dans les comportements reproducteurs, favorisant la copulation chez les femelles (Antony & Jallon 1982 ; Kurtovic *et al.*, 2007) et de manière étonnante, en agissant comme une phéromone aversive pour la copulation chez les mâles (Kurtovic *et al.*, 2007 ; Ejima *et al.*, 2007). Kurtovic *et al.*, (2007) ont montré que la perception de la cVA inhibe la parade sexuelle chez les mâles qui ont subit

des rejets de femelles déjà fécondées. Cet effet aversif de la cVA est transmis au cerveau par une voie spécifique et différente de l'effet agrégatif (Ejima *et al.*, 2007). De plus, les femelles transfèrent la cVA dans les sites d'oviposition durant le dépôt des œufs, ce qui permet aux autres femelles de détecter les sites préexistants et de déposer leurs œufs « en nid » dans ces mêmes sites (Bartelt *et al.*, 1985). Il a été montré que les HCs pouvaient jouer un rôle dans l'isolement reproducteur entre deux espèces. Par exemple, le n-heneicosane (n-C21) présent en plus grande quantité chez les mâles *D. santomea* inhiberait les femelles *D. yakuba* (Mas *et al.*, 2005). De même, l'isolement reproducteur entre *D. melanogaster*, *D. sechellia*, *D. simulans* et *D. mauritiana* serait dû à une différence de profil cuticulaire (Cobb & Jallon, 1990 ; Coyne *et al.*, 1994 ; Coyne & Oyama, 1995 ; Savarit *et al.*, 1999).

Les résultats acquis dans cette étude indiquent que le spiromesifen perturbe le métabolisme lipidique chez la drosophile, confirmant ainsi son mécanisme d'action primaire sur la synthèse des lipides. De ce fait, son action différée sur les HCs serait liée à une interférence probable avec la biosynthèse des HCs. Ainsi, la synthèse des HCs chez la drosophile a lieu en trois étapes. En premier lieu, la synthèse d'acides gras saturés de 14, 16 ou 18 carbones à partir de l'acétate par une enzyme, l'acide gras synthétase (FAS: *Fatty Acid Synthase*) ; ensuite, la désaturation de ces acides gras par des désaturases en créant une ou deux doubles liaisons ; et enfin l'élongation/décarboxylation de la chaîne carbonée suivie parfois par une nouvelle désaturation (Howard & Blomquist, 2005). Chez *D. melanogaster*, le palmitate est transformé, grâce à la FAS (*Fatty Acid Synthase*), en acide palmitique (C16: 0) qui donnera de l'acide palmitoléique (C16: 1) à l'aide de la désaturase 1 (desat 1). Cette enzyme place une double liaison ce qui produit des monoènes (Dallerac *et al.*, 2000). Chez la femelle, une autre désaturase (desat F) qui leur est spécifique et qui ajoute une double liaison transformant ainsi les monoènes en diènes (Chertemps *et al.*, 2006).

5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Les caractéristiques de la drosophile font de cet organisme un modèle expérimental simple et puissant pour l'étude de l'impact du spiromesifen ayant un nouveau mode d'action soit l'inhibition de la biosynthèse des lipides via l'acétyl-CoA carboxylase. Ainsi, les résultats des expériences relatives aux effets du spiromesifen sur la toxicité, la reproduction, le développement, la biochimie et le comportement de *D. melanogaster* permettent de tirer un certain nombre de conclusions.

Dans une première série d'essais insecticides, les paramètres de létalité ont été précisés ($CL_{50} = 72,82$ et $CL_{90} = 247,2$ $\mu\text{g/pupe}$). La molécule manifeste une activité insecticide à l'égard des pupes de *D. melanogaster* avec une relation dose-réponse significative. Par conséquent, l'effet du spiromesifen est relativement actif sur les pupes de drosophiles. Dans une seconde série d'expérimentations, les doses sublétales déterminées précédemment ($CL_{10} : 21,45$ et $CL_{25} : 39,53$ $\mu\text{g/pupe}$) ont été évaluées en application topique à l'exuviation nymphale de *D. melanogaster* sur plusieurs paramètres physiologiques et biochimiques. A cet effet, les résultats obtenus révèlent un léger effet du spiromesifen sur le poids des pupes enregistré avec la concentration sublétale la plus élevée et à 1 jour après traitement seulement. Par contre, ce composé ne perturbe pas la durée du développement des pupes.

Les analyses biochimiques révèlent que le spiromesifen réduit de manière significative la teneur en lipides corporels chez les pupes traitées à tous les âges au cours du développement nymphal et ceci avec une relation dose-réponse significative. L'effet est rapide puisqu'une réduction significative est obtenue chez les séries traitées 6 heures après application topique à l'exuviation nymphale. Il provoque également une réduction des teneurs en glucides et protéines corporels mais relativement moins marquée que celle des lipides. L'ensemble des résultats acquis montre que le spiromesifen affecte le métabolisme général de *D. melanogaster*, particulièrement celui des lipides confirmant ainsi son mécanisme d'action primaire sur la biosynthèse des lipides.

L'évaluation d'un biomarqueur de stress oxydatif, le MDA a été envisagée. Le traitement provoque une induction relativement rapide (24 h après le traitement) du taux de MDA chez les séries traitées comparativement aux témoins. Ceci révèle que le spiromesifen induit un stress oxydatif qui conduit à la peroxydation des lipides. Le statut normal est

restauré 3 jours après traitement, ce qui suggère l'activation d'un système de détoxification des peroxydes lipidiques.

Concernant l'aspect morphométrique, les données acquises indiquent une diminution des paramètres mesurés à savoir le poids frais des ovaires, le nombre d'ovocytes par paire d'ovaire, la longueur, la largeur et le volume de l'ovocyte basal, ceci avec une relation dose-réponse significative. Le traitement par le spiromesifen modifie le taux et la qualité des protéines ovariennes. En effet, il réduit significativement les taux de protéines ovariennes en fonction de la dose appliquée aux pupes nouvellement exuviées de *D. melanogaster*. De plus, réduit le nombre de fractions protéiques des séries traitées par rapport aux témoins. Ce composé agit sur le potentiel reproducteur de *D. melanogaster* en inhibant la fécondité des adultes qui survivent au traitement. De plus, le nombre de femelles est plus élevé par rapport aux mâles.

Enfin, le spiromesifen affecte quantitativement et qualitativement les HCs chez *D. melanogaster*. Nos résultats confirment le dimorphisme sexuel des HCs signalé chez *D. melanogaster*.

L'ensemble des résultats acquis confirme le mécanisme primaire du spiromesifen sur la synthèse des lipides chez la drosophile et montre son action différée sur la descendance. Il convient de compléter la présente contribution par une analyse des AGs et l'étude du comportement sexuel. Il serait intéressant aussi d'évaluer les risques écotoxicologiques de cette molécule sur des organismes non ciblés, Arthropodes (Abeilles, Crustacés) ou Vertébrés (*Gambusia affinis*, un poisson culiciphage).

Résumé

Cette étude vise tout d'abord à déterminer les paramètres toxicologiques du spiromesifen (Oberon® 240 SC), un nouvel insecticide/acaricide systémique considéré comme un inhibiteur de la biosynthèse des lipides et ensuite à évaluer ses effets sublétaux chez les pupes de *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera, Drosophilidae). Plusieurs aspects ont été abordés:

Le traitement a été réalisé par application topique sur des pupes nouvellement exuviées (1µl de matière active dilué dans un mélange acétone/eau 50/50) et plusieurs concentrations (25, 50, 75, 100, 125, 150 et 200 µg/µl) ont été testées. Les pupes témoins reçoivent 1µl de solvant seul (acétone/eau : 50/50). Dans une première série d'essais insecticides, les paramètres de létalité ont été déterminés: $CL_{50} = 72,82$ et $CL_{90} = 247,2$ µg/pupe. La molécule manifeste une activité insecticide à l'égard des pupes de *D. melanogaster* avec une relation dose-réponse significative. Ainsi, des taux de mortalité observée varient de 20% avec la dose la plus faible (25 µg/pupe) à plus de 88% pour la dose la plus élevée (200 µg/pupe). Dans une seconde série d'expérimentations, les doses sublétales déterminées précédemment ($CL_{10} : 21,45$ et $CL_{25} : 39,53$ µg/pupe) ont été évaluées sur plusieurs paramètres physiologiques et biochimiques.

Le spiromesifen n'affecte pas la durée du développement nymphal, mais provoque une légère baisse du poids des pupes. En outre, il réduit de manière significative et rapide la teneur en lipides corporels chez les pupes traitées à tous les âges et ceci avec une relation dose-réponse. Il provoque également une réduction des teneurs en glucides et protéines corporels mais relativement moins marquée que celle des lipides. Le traitement induit une augmentation rapide du taux de MDA par rapport aux témoins. De plus, il affecte r les protéines ovariennes en diminuant de manière significative les taux et le nombre de fractions protéiques comparativement aux témoins. En outre, on enregistre une action différée du produit sur le potentiel reproducteur de *D. melanogaster* avec une réduction de la fécondité des adultes qui survivent au traitement et avec une augmentation du nombre de femelles comparativement aux mâles. Enfin, le traitement perturbe les hydrocarbures cuticulaires avec une réduction de leur quantité selon la dose appliquée.

Mots clés : *Drosophila melanogaster*, Pesticides, Spiromesifen, Toxicité, Biochimie, Reproduction, Croissance, Développement, Electrophorèse, protéines ovariennes, Hydrocarbures cuticulaires.

Abstract

This study aims firstly to determine the parameters toxicological of spiromesifen (Oberon® 240 SC), a new systemic insecticide / acaricide considered to be an inhibitor of lipid biosynthesis, and then evaluate its sublethal effects in pupae of *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Diptera, Drosophilidae). Several aspects were addressed:

The treatment was performed by topical application of the newly ecdysed pupae (1µl of active substance diluted in acetone / water 50:50) and several concentrations (25, 50, 75, 100, 125, 150 and 200 µg/µl) were tested. Witnesses pupae are 1µl of only solvent (acetone / water: 50/50). In a first series of insecticide trials, case fatality parameters were determined: $LC_{50} = 72.82$ and $LC_{90} = 247.2$ µg/pupa. The molecule shows insecticidal activity against *D. melanogaster* pupae with a significant dose-response relationship. Thus, the observed mortality rate vary from 20% with the lowest dose (25 mg/pupa) to over 88% for the highest dose (200 µg /pupa). In a second series of experiments, sublethal doses previously determined (CL_{10} : 21.45 and CL_{25} : 39.53 µg/pupa) were evaluated on several physiological and biochemical parameters.

Spiromesifen had no significant affect on the duration of pupal development but showed a slight decrease in pupal body weight. In addition, it reduced significantly and quickly the body lipid content in pupae treated at any age and this with a dose-response relationship. It also caused a reduction in carbohydrate content and body protein but relatively less marked than fat. The treatment induced a rapid increase in MDA levels compared to controls. Furthermore, it affects the ovarian r protein significantly decreasing the rate and the number of protein fractions compared to controls. In addition, a deferred share product is recorded on the reproductive potential of *D. melanogaster* with reduced fertility of adults that survive treatment with an increase in the number of males compared to females. Finally, treatment disrupts cuticular hydrocarbons with a reduced quantity as the applied dose.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, Pesticides, Spiromesifen, toxicity, Biochemistry, Reproduction, Growth, Development, Electrophoresis, ovarian protein, cuticular hydrocarbons.

تهدف هذه الدراسة أولا لتحديد المعايير السمية (Oberon® 240 SC) spiromesifen ، وهو يعتبر مبيد
الجديد لتركييب الدسم حيث تقيم أثارها الشبه المميئة في شرانق (Me,)
الجناحين ، *Drosophila melanogaster* Meigen, 1830 (Drosophilidae) :

تم إجراء العلاج عن طريق التطبيق الموضعي لـ (1µl) مادة الفعالة مخففة في الأسيتون / المياه
(50:50) والعديد من تركيزات (25 50 75 100 125 150 200 µg/µl) تم اختبارها. شهود الشرانق تـ 1µl
من المذيبات فقط (الأسيتون / المياه : 50/50). في السلسلة الأولى من التجارب ، تم تحديد المعايير السمية :
LC90 = 247.2 / LC50=72.82 µg/µl . يظهر الجزيء النشاط للمبيد ضد الشرانق مع وجود علاقة كبيرة بين
88 % (25 µg/µl) 20 % . وهكذا تتراوح معدلات وفيات من %
(200 µg/µl). في السلسلة الثانية من التجارب استخدمت جرعات شبه مميئة تحديدها (µg/pupe)
(CL10 : 21,45 µg/pupe et CL25 : 39,53).

Spiromesifen لا يؤثر نمو اليرقات و لكن يسبب انخفاضا طفيفا في الوزن. وبالإضافة إلى ذلك، فإنه يقلل
بشكل كبير وبسرعة محتوى الدهون في الشرانق المعالجة في أي عمر، وهذا مع وجود علاقة . كما أنه
يسبب انخفاضا في محتوى الكربوهيدرات والبروتين الجسم ولكن أقل وضوحا نسبيا من الدهون. العلاج يؤدي الى زيادة
سريعة في مستويات MDA . وعلاوة على ذلك، فإنه يؤثر على البروتين المبيض حيث هناك تناقص
روتين مقارنة مع الضوابط. وبالإضافة إلى ذلك، يتم تسجيل المنتج حصة المؤجلة على الإمكانيات
الإيجابية مع انخفاض الخصوبة من البالغين التي تعيش العلاج مع زيادة في عدد . وأخيرا العلاج
يعطل les hydrocarbures cuticulaires مع انخفاض الكمية بتد .

الكلمات المفتاحية : *Drosophila melanogaster* مبيدات ، Spiromesifen ، سمية ، الكيمياء الحيوية، التكاثر،
Electrophorèse النمو، التنمية، البروتين المبيض، Hydrocarbures cuticulaires .

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

A

Abbott, W. B. (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**: 265 -267.

Abdel-Aal, A.E. (2006). Effect of chlorofluazuron, nuclear polyhydrosis virus (SLNP) and *Bacillus thuringiensis* on some biological and enzyme activity of cotton leaf worm *Spodopetra Littoralis* (Boisd). *Bull. Ent. Soc. Egypt. Econ. Ser.*, **32**: 171-158.

Adams, M.D., Celniker, S.E., Holt, R.A., Evans, C.A. & Gocayne, J.D. (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science.*, **287(5461)**: 2185-2195.

Allais, J.P., Berferard, J., Etienne, J. & Polonovski, J. (1964). Nature et évolution des lipides au cours de l'embryogenèse de *Locusta migratoroides* L.J. *Insect Physiol.*, **10** : 753-772.

Altieri, M.A. (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems and Environment.*, **74**: 19-31.

Altieri, M.A. & Nicholls, C.I. (2004). Biodiversity and pest management in agroecosystems 2nd edn. New York: Food Products Press.

Alyokhin, A., Sewell, G. & Choban, R. (2008). Reduced viability of colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, eggs exposed to novaluron. *Pest Manag. Sci.*, **64**: 94-99.

Alyokhin, A., Guillemette, R. & Choban, R. (2009). Stimulatory and suppressive effects of novaluron on the Colorado potato beetle reproduction. *J. Econ. Entomol.*, **102**: 2078-2083.

Amira, K., Boudjelida, H. & Farine, J.P. (2013). Effect of an insect growth regulator (halofenozide) on the cuticular hydrocarbons of *Culex pipiens* larvae. *African Entomology.*, **21(2)**: 343-348.

Andrighetti, M.T.M., Cerone, F., Rigueti, M., Galvani, K.C. & Macoris, M.L.G. (2008). Effect of pyriproxyfen in *Aedes aegypti* populations with different levels of susceptibility to the organophosphate temephos. *Dengue Bull.*, **32**: 186-198.

Antony, C. & Jallon, J.M. (1981). Evolution of behaviorally active hydrocarbons of *Drosophila melanogaster* in the course of sexual maturation. *Comptes Rendus De L'Académie Des Sciences Serie Iii-Sciences de la Vie-Life Sciences.*, **292** : 239-242.

Antony, C. & Jallon, J.M. (1982). Cuticular aphrodisiacs from *Drosophila* and other Diptera. *Bulletin De La Societe Zoologique De France-Evolution Et Zoologie.*, **107**: 639-644.

Antony, C., Davis, T. L., Carlson, D. A., Pechine, J. M. & Jallon, J. M. (1985). Compared behavioral-responses of male *Drosophila melanogaster* (Canton-S) to natural and synthetic aphrodisiacs. *Journal of Chemical Ecology.*, **11**: 1617-1629.

Aribi, N., Smaghe, G., Lakbar, S., Soltani-Mazouni, N. & Soltani, N. (2006). Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, on development of the mealworm, *Tenebrio molitor*, *Pesticides biochemistry and physiology.*, **84**: 55-62.

ARLA, Agence de Réglementation de la Lutte Antiparasitaire. (2007). Rapport d'évaluation Spiromesifen. www.pmra-arla.gc.ca.

Arora, M.S., Salokhe, S.G. & Mukherjee, S.N. (2012). Effect of sub-letahl concentration of lefenuron on growth development and reproductive performance of *Tribolium Castaneum* (Herbest) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Inter. J. Appl. Biol; Pharm.Technol.*, **3 (1)**: 76-84.

Avondet, J.L., Blair, R.B., Berg, D.J. & Ebbert, M.A. (2003). *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) response to changes in ecological parameters across an urban gradient. *Environ. Entomol.* **32(2)**: 347-358.

B

Babczinski, P. & Arthur, E.L. (2005). Environmental fate of spiromesifen (Oberon). *Planzenschutz-Nachrichten Bayer* **58**: 371-390.

Bakr, R.F., Abdel Fattah, H.M. & Mohamed, E.K. (2007). Effect of chitin synthesis inhibitor, lufenuron on the development, haemolymph and antennal sensilla of *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). *African J. Biol. Sc.*, **3 (2)**: 35-43.

Bartelt, R.J., Schaner, A.M. & Jackson, L.L. (1985). *Cis*-Vaccenyl Acetate as an aggregation pheromone in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Chemical Ecology.*, **11**: 1747-1756.

Bianchi, F.J., Booij, C.J. & Tscharntke, T. (2006). Sustainable pest regulation in agricultural landscapes: a review on landscape composition, biodiversity and natural pest control. *Proceedings. Biological sciences/ The Royal Society.*, **273**: 1715-1727.

Bielza, P., Contreras, J., Quinto, V., Izquierdo, J., Mansanet, V. & Elbert, A. (2005). Effects of Oberon 240 SC on bumblebees pollinating greenhouse tomatoese. *Pflanzenschutz Nachrichten Bayer.*, **58**: 469-484.

Bielza, P., Fernandez, E., Gravalos, C. & Izquierdo, J. (2009). Testing for non-target effects of spiromesifen on *Eretmocerus mundus* and *Orius laevigatus* under greenhouse conditions. *BioControl.*, **54**: 229-236.

Bjorling-Poulsen, M., Andersen, H.R., & Grandjean, P. (2008). Potential developmental neurotoxicity of pesticides used in Europe. *Environ Health.*, **7**: 50.

Blomquist, G. J., Nelson, D. R. & De Renobales, M. (1987). Chemistry, biochemistry, and physiology of insect cuticular lipids. *Arch Insect Biochem Physiol.*, **6**.

Bonde, J.P., Toft, G., Rylander, L., Rignell-Hydbom, A., Giwercman, A., Spano, M., Manicardi, G.C., Bizzaro, D., Ludwicki, J.K., Zvezday, V., Bonfeld-Jorgensen, E.C., Pedersen, H.S., Jonsson, B.A., & Thulstrup, A.M. (2008). Fertility and markers of male reproductive function in Inuit and European populations spanning large contrasts in blood levels of persistent organochlorines. *Environ Health Perspect.*, **116**: 269-277.

Bouabida, H. (2014). Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiromesifen sur la reproduction de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* : aspects écologique et biochimique. Doctorat en Biologie Animale. Université d'Annaba. Algérie.

Bouaziz, A., Boudjelida, H. & Soltani, N. (2011). Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Ann. Biol. Res.*, **2 (3)**: 134-143.

Bouzeraa, H. & Soltani-Mazouni, N. (2012). Effets du méthoxyfénozide et dutébufénozide sur le développement et quelques paramètres de la reproduction d'*Ephestia kuehniella* après traitement des mâles et des femelles. *Bull. Soc. zool. Fr.*, **137(1-4)** : 157-167.

Bouzioukh, F. (2000). Effets secondaires de quelques insecticides nouveaux sur la croissance, le métabolisme et la reproduction chez un poisson larvifère *Gambusia affinis*: aspects morphologique, histologique et biochimique. Thèse de magister en physiologie animale. Option, Applications agronomiques et médicales. Université d'Annaba. Algérie.

Boyer, S. (2006). Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides: Conséquences Environnementales. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Laboratoire d'Ecologie Alpine. 78 p.

Brabhaker., N., Castle., S.J., Buckelew. & Toscano., N.C. (2008). Baseline Susceptibility of Bemisia tabaci B Biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) Populations from California and Arizona to Spiromesifen. *J. Econ. Entomol.*, 101(1): 174-181.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding. *Analytic. Biochem.*, **72**: 248- 254.

Bretschneider, T., Benet-Buchhol, J., Fisher, R. & Nauen, R. (2003). Spirodiclofen and spiromesifen - novel acaricidal and insecticidal tetrionic acid derivatives with a new mode of action. *Chimia.*, **57**: 697-701.

Brévault, L., Couston, A., Bertrand, M., Thézé, S., Nibouche, M. & Vaissayre. (2009). Sequential pegboard to support small farmers in cotton pest control decision making in Cameroon. *Crop protection.*, **28**: 968-973.

Briegel, H. (1990). Metabolic relationship between female body size reserves and fecundity of *Aedes aegypti*. *J. Insect. Physiol.*, **36**: 165-172.

Brossut, R. (1981). Phéromones. La communication chimique chez les animaux. Ed. Belin.

Bruneton, J. (2011). Pharmacognosie - Phytochimie, plantes médicinales, 4^e éd., revue et augmentée, Paris, Tec & Doc - Éditions médicales internationales ISBN: 978-2-7430-1188-8. 1288 p.

Buck, J. B. (1953). Physical properties and chemical composition of insect blood. *Insect. Physiol.* (ED, by Roeder K.D.). John Wiley. New York., 147-190.

C

Carton, B., Smagghe, G. & Tirry, L. (2003). Toxicity of two ecdysone agonists, halofenozide and methoxyfenozide, against the multicoloured Asian lady beetle *Harmonica axyridis* (Col : Coccinellidae). *J. Applied. Entomol.*, **127**: 240 p.

Chabaud, M.A. (2008). Développement de conditionnements associatifs et expression individuelle et collective de memoires appétitives et aversives chez la drosophile. Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'Université PARIS XIII. 292p.

Chen, S., Lee, A.Y., Bowens, N.M., Huber, R. & Kravitz, E.A. (2002). Fighting fruit flies: a model system for the study of aggression. *PNAS.*, **99**: 5664-5668.

Chino, H., Katas, H., Dawner, R.C. & Hard, T.K. (1981). Diacylglycerol, carrying lipoprotein of haemolymph of the American cockroach: purification, characterization and function. *J. Lipid Res.*, **22**: 7-15.

Clyd, R.A., Keith, S.R. & Galle, C.L. (2004). Effect of the insect growth regulator novaluron (Pedestal) on silverleaf whitefly reproduction. *Hort. Technol.*, **14**: 551-554.

Cobb, M. & Jallon, J. M. (1990). Pheromones, mate recognition and courtship stimulation in the *Drosophila melanogaster* species subgroup. *Animal Behaviour.*, **39**: 1058-1067.

Colborn, T. (2006). A case for revisiting the safety of pesticides: a closer look at neurodevelopment. *Environ. Health. Perspect.*, **114**: 10-17.

Connolly, K. & Cook, R. (1973). Rejection responses by female *Drosophila melanogaster* - Their ontogeny, causality and effects upon behavior of courting male. *Behaviour.*, **44**:142-166.

Costa, L.G., Aschner, M., Vitalone, A., Syversen, T., & Soldin, O.P. (2004). Developmental neuropathology of environmental agents. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*, **44**: 87-110.

Costa-Schmidt, L. E., Carico, J. E. & de Araujo, A. M. (2008). Nuptial gifts and sexual behavior in two species of spider (Araneae, Trechaleidae, Paratrechalea). *Naturwissenschaften.*, **95**: 731-739.

Coyne, J. A., Crittenden, A. P. & Mah, K. (1994). Genetics of a pheromonal difference contributing to reproductive isolation in *Drosophila*. *Science.*, **265**: 1461-1464.

Coyne, J. A. & Oyama, R. (1995). Localization of pheromonal sexual dimorphism in *Drosophila melanogaster* and its effect on sexual isolation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.*, **92**: 9505-9509.

D

Daby, D. (2006). Coastal pollution and potential biomonitors of metals in Mauritius. *Water. Air. Soil Pollut.*, **174**: 63-91.

Dapporto, L., Lambardi, D. & Turillazzi, S. (2008). Not only cuticular lipids: first evidence of differences between foundresses and their daughters in polar substances in the paper wasp *Polistes dominulus*. *J. Insect Physiol.*, **54** (1): 89-95.

De Groot Inge. (2004). Protection des céréales et des légumineuses stockées. Agrodok 18. deuxième édition.

Dekeyser, M.A. (2005). Acaricide mode of action. *Pest Manag. Sci.*, **61**: 103-110.

De Kort, C.A.D. & Koopmanshap, A.B., (1991). A juvenile hormone analogue at the protein pattern of the hemolymph in last-instar larvae of *Locusta migratoria* *J. Insect Physiol.* **37**: 87-93.

Del Solar Osses, E. (1998). Aggregation tendency in small groups of *Drosophila melanogaster*. *Genet. Mol. Biol.*, **21**: 25-30.

Den Hond, E. & Schoeters, G. (2006). Endocrine disrupters and human puberty. *Int J Androl.*, **29**: 264-271.

Denys, C. & Tsscharntke, T. (2002). Plant-insect communities and predator-prey ratios in field margin strips, adjacent crop fields and fallows. *Oecologia.*, **130**: 315-324.

Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology.*, **52**: 81-106.

DeZazzo, J. & Tully, T. (1995). Dissection of memory formation: from behavioral pharmacology to molecular genetics. *Trends Neurosci.*, **18**: 212-218.

Dhadialla, T.S., Retnakaran, A. & Smagghe, G. (2005). Insect growth- and development disturbing insecticides. In: *Comprehensive Insect Molecular Science* (Gilbert, L.I., Kostas, I. & Gill, S., eds.). Pergamon Press. **6**: 55-116. (ISBN 0-44-451526-7).

Dhadialla, T.S., Retnakaran, A. & Smagghe, G. (2010). Insect growth- and developmental disturbing insecticides. In: *L.I. Gilbert, and S.S Gill (eds). Insect Control. Elsevier, New York*, 121-184.

Didelot, G. (2006). La mémoire à long terme chez la drosophile: un cadre d'étude des retards mentaux non syndromiques. Thèse, Université Paris XI. 228 p.

Djghader, N. E. H., Boudjelida, H., Bouaziz, A. & Soltani. N. (2013). Biological effects of a benzoylphenylurea derivative (Novaluron) on larvae of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Advances in Applied Science Research.*, **4**(4): 449-456.

Djehader, N.E.H., Aïssaoui, L., Amira, K. & Boudjelida, H. (2014). Impact of a Chitin Synthesis Inhibitor, Novaluron, on the Development and the Reproductive Performance of Mosquito *Culex pipiens*. *World Applied Sciences Journal.*, **29** (7): 954-960.

Dong, K., Valles, S.M., Schart, M.E., Zeichner, B. & Bennett, G.W. (1998). Knockdown resistance (Kdr) mutation in pyrethroid-resistant German cockroaches. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **60**: 195-200.

Downer, R.G.H. (1985). Lipid metabolism. In: Kerkut GA, Gilbert L (Eds.), *Comprehensive insect biochemistry, physiology and pharmacology*. Pergamon Press, Oxford., **10**: 77-113.

Draper, H.H. & Hadley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation *Meth. Enzymol.*, **186**: 241-431.

Duchateau, G. & Florkin, M. (1959). Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem.*, **67**: 306-314.

Duffy, J.B. (2002). GAL4 system in *Drosophila*: a fly geneticist's Swiss army knife. *Genesis* **34**:1-15.

E

Ebbs, M. L. & Amrein, H. (2007). Taste and pheromone perception in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology*, **454**, 735-747.

Ejima, A. & Griffith, L. C. (2008). Courtship initiation is stimulated by acoustic signals in *Drosophila melanogaster*. *PLoS ONE*, **3**, e3246, 1-9.

Ekström, G. & Ekbom, B. (2011). Pest Control in Agro-ecosystems: An Ecological Approach. *Critical Reviews in Plant Sciences.*, **30**: 74-94.

Elbert, A., Brück, E., Melgarejo, J., Schnorbach, H.J. Sone, S. (2005). Field development of Oberon for whitefly and mite control in vegetables, cotton, corn, strawberries, ornamentals and tea. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* **58**: 441-468.

Eriksson, P., Ahlbom, J. & Fredriksson, A. (1992). Exposure to DDT during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain muscarinic receptors and behaviour in adult mice. *Brain Res.*, **582**: 277-281.

Everaerts, C., Farine, J.P., Cobb, M. & Ferveur, J.F. (2010) *Drosophila* Cuticular Hydrocarbons Revisited: Mating Status Alters Cuticular Profiles. *PLoS ONE.*, **5**(3): e9607.

F

Farine, J.P., Ferveur, J.F. & Everaerts, C. (2012). Volatile *Drosophila* Cuticular Pheromones Are Affected by Social but Not Sexual Experience. *PLoS ONE.*, **7**(7): e40396.

Farinõs, G.P., Smaghe, G., Tirry, L. & Casta era, P. (1999). Action and pharmacokinetics of a novel insect growth regulator, halofenozide, in adult beetles of *Abeonimus mariaefranciscae* and *Leptinotarsa decemlineata*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **41**: 201-213.

Ferveur, J. F. & Sureau, G. (1996). Simultaneous influence on male courtship of stimulatory and inhibitory pheromones produced by live sex-mosaic *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **263**, 967-973.

Ferveur, J. F., Cobb, M., Boukella, H. & Jallon, J. M. (1996). World-wide variation in *Drosophila melanogaster* sex pheromone: Behavioural effects, genetic bases and potential evolutionary consequences. *Genetica*, **97**, 73-80.

Ferveur, J. F., Savarit, F., Okane, C. J., Sureau, G., Greenspan, R. J. & Jallon, J. M. (1997). Genetic feminization of pheromones and its behavioral consequences in *Drosophila* males. *Science*, **276**, 1555-1558.

Ferveur, J. F. (2005). Cuticular hydrocarbons: Their evolution and roles in *Drosophila* pheromonal communication. *Behavior Genetics*, **35**, 279-295.

Finney, D.J. (1971). Probit Analysis, *Cambridge Univ. Press, UK*. 333p.

Fisher, R.A. & Yates. (1957). Statical tables for biological, agricultural and medicalresearch. 5 ème édition, Olivier et Boyd. London, pp. 64 – 66.

G

Gagné, F., Pardos, M. & Blaise, C. (1999). Estrogenic effects of orgnic environmental extracts with the trout hepatocyte vitellogenin assay. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, **62**: 723-730.

Gagné, F., André, C. & Blaise, C. (2008). The Dual Nature of Metallothioneins in the Metabolism of Heavy Metals and Reactive Oxygen Species in Aquatic Organisms: Implications of Use as a Biomarker of Heavy-Metal Effects in Field Investigations. *Biochemistry Insights.*, **1**: 23–33.

Gehring, W.J. (1999). La drosophile aux yeux rouges: Gènes et développement. N° édition : 7381-0696-X. p291.

Géret, F., Serafim, A., Barreira, L. & Bebianno., M.J. (2002). Response of antioxidant systems to copper in the gills of the clam *Ruditapes decussates*. *Mar. Environ. Res.*, **54**: 413-417.

Ghanim, M. & Kontsedalov, S. (2009). Susceptibility to insecticides in the Q biotype of *Bemisia tabaci* is correlated with bacterial symbiont densities. *Society of Chemical Industry. Pest Manag Sci.*, **65 (9)**: 939 - 42.

Gilbert, S.F. (1996). Biologie du développement. 4ème édition, De Boeck, ISBN2-8041-2263-8, p 892.

Godfray, H.C.J., Partridge, L. & Harvey, P.H. (1991) Clutch size. *A. Rev. Ecol. Syst.* **22**: 409-429.

Gökçe, A., Kim, S.H., Wise, J.C. & Whalon, M.E. (2009). Reduced egg viability in codling moth *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) following adult exposure to novaluron. *Pest Manag. Sci.*, **65**: 229- 234.

Goldsworthy, A.C., Mordue, W. & Guthkelch, J. (1972). Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18**: 306-314.

Grafton-Cardwell, E.E., Godfrey, L.D., Chaney, W.E. & Bentley, W.J. (2005). Various novel insecticides are less toxic to humans, more specific to key pests. *Calif. Agric.*, **59**: 29-34.

Grandjean, P. & Landrigan, P.J. (2006). Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet.*, **368**: 2167-2178.

Greenspan, R. J. & Ferveur, J. F. (2000). Courtship in *Drosophila*. *Annual Review of Genetics*, **34** : 205-232.

Griffiths, A.J.F., Miller, J.H., Suzuki, D.T., Sanlaville, C., Lewontin, R.C. & Gelbart W.M. (2002). Introduction à l'analyse génétique. 3e édition *De Boeck Université*. ISBN 27-445009-76, p38.

Grillet, M., Dartevelle, L. & Ferveur, J. F. (2006). A *Drosophila* male pheromone affects female sexual receptivity. *Proceedings of the Royal Society B-Biological Sciences*, **273**, 315-323.

Gueye, M.T., Seck D., Wathelet J-P. & Lognay G. (2011). Lutte contre les ravageurs des stocks de céréales et de légumineuses au Sénégal et en Afrique occidentale : synthèse bibliographique. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **15(1)**: 183-194.

Guthrie, F., Devine, G., Denholm, I., Nauen, R. (2003). Biological evaluation of spiromesifen against *Bemisia tabaci* and an assessment of resistance risks. In: Proceedings of the BCPC Conference, vol 2, pp 795-800.

H

Ha, T.S. & Smith, D.P. (2006). A pheromone receptor mediates 11-*cis*-vaccenyl acetate-induced responses in *Drosophila*. *J Neurosci.*, **26**: 8727-33.

Habbachi, W., Bensafi, H., Adjami, Y., Farine, J.P. & Everaerts, C., (2009). Spinosad affects chemical communication in the German Cockroach, *Blattella germanica* (L). *Journal of Chemical Ecology*, **35**: 1423-1426.

Hamaidia, K. & Soltani, N. (2014). Laboratory evaluation of a biorationa insecticide, Kinoprene, against *Culex pipiens* larvae: effects on growth and development. *Annual Research and Review in Biology.*, **4(14)**: 2263-2273.

Heard, S.b. & Rmer, L.C. (1997). Clutch-size behavior and coexistence in ephemeral-patch competition models. *Am. Nat.*, **150**: 744-770.

Hodge S, Mitchell P & Arthur W (1999) Factors affecting the occurrence of facilitative effects in interspecific interactions: an experiment using two species of *Drosophila* and *Aspergillus niger*. *Oikos* **87(1)**: 166-174.

Hoffmann, A. A. & Parsons, P. A. (1991). *Evolutionary genetics and environmental stress*, (284 p.). Oxford University Press.

Horowitz, A.R. & Ishaaya I. (2004). Biorational insecticides – mechanisms, selectivity and importance in pest management programs. *Insect Pest Management*, Springer, Berlin, 1-28.

Howard, K., Jaglarz, M., Zhang, N., Shah, J. & Warrior, R. (1993). Migration of *Drosophila* germ cells: analysis using enhancer trap lines. *Dev Suppl*, 213-8.

Howard, R. W. & Blomquist, G. J. (1982). Chemical ecology and biochemistry of insect hydrocarbons. *Ann Rev Entomol*, 149-172.

Hui, J.H.L., Benena, W.G., Tobe, S.S. (2013). Future perspectives for research on the biosynthesis of juvenile hormone and related sesquiterpenoids in Arthropod endocrinology and ecotoxicology. In: J. Devilliers (Ed.), Juvenile hormone and juvenoids. *Moldeling biological effects and environmental fate. CRC Press Taylor & Francis Group, New York.* 15-30.

I

Isabel, G., Pascual, A. & Preat, T. (2004). Exclusive consolidated memory phases in *Drosophila*. *Science.*, **304**:1024-1027.

Ishaaya I. & Horowitz A.R. (2007). In focus: IPM using novel insecticides and other approaches. *Pest. Manag. Sci.*, **63**:729.

J

Jacob, F. & Mond, J. (1961). Genetic regulator mechanism in the synthesis of proteins. *J. Biol. Med.*, **3**: 318-321.

Jaenicke, J. & James, A.C. (1991) Aggregation and the coexistence of mycophagous *Drosophila*. *J. Anim. Ecol.* **60**: 913-928.

Jallon, J. M. & Hotta, Y. (1979). Genetic and behavioral studies of female sex appeal in *Drosophila*. *Behavior Genetics*, **9**: 257-275.

Jallon, J. M. & Pechine, J. M. (1989). A novel chemical race of *Drosophila melanogaster* in Africa. *Comptes rendus de l'académie ses Sciences Serie Ii*, **309**, 1551-1556.

Joly, D. (2006). La drosophile : Un insecte au service de la science. *Insectes.*, **128 (1)**:25-29.

Jones, W. D., Cayirlioglu, P., Kadow, I. G. & Vosshall, L. B. (2007). Two chemosensory receptors together mediate carbon dioxide detection in *Drosophila*. *Nature*, **445**, 86-90.

K

Kaiser, J. (2001). Bioindicators and Biomarkers of Environmental Pollution and Risk Assessment (Enfield: Sciences publishers inc.).

Karata , A., Bahceci, Z., & Ba pinar, E. (2009). The effect of diazinon on egg fertility and development in *Drosophila melanogaster*. *Turk J Biol.* 35(2011): 95-101.

Kawooya, J.K. & Law, J.H. (1988). Uptake of the major hemolymph lipoprotein and its transformation in the insect egg. *J. Biol. Chem.*, **263**: 8740–8747.

Keller, A. (2007). *Drosophila melanogaster*'s history as a human commensal. *Curr. Biol.* **17**: R77-R81.

Keeley, L.L. (1985). Physiology and biochimistry of fat body. In: Kerkut GA, Gilbert L (Eds.), *Comprehensive Insect Biochemistry, Physiology and Pharmacology*. Pergamon Press, Oxford, **3**: 211-248.

Kilani-Morakchi, S., Aribi, N., Farine, J.P., Smagghe, G., & Soltani, N. (2009). Halofenozide affects sexual behavior, cuticular hydrocarbons and reproduction in the female German cockroach *Blattella germanica* (Dictyoptera, Blattellidae). *Belg. J. Zool.*, 139(2):147–155.

Kilani-Morakchi S., Badi A., Aribi N., Farine JP. & Soltani N. (2014). Toxicity of tebufenozide, an ecdysteroid agonist, to *Bltella germanica* (Blattodea : Blattellidae). *African Entomology.*, **22(2)**: 337-342.

Kim, K.S., Chung, B.J. & Kim, H.K. (2000). DBI-3204: A new benzoylphenyl urea insecticide with particular activity against whitefly. Proceedings of the British Crop Protection Council Conference. *Pests and Diseases.*, **(1)**: 41-46.

Kim, S.H.S, Wise J.C., Gökçe A. & Whalon M.E. (2011). Novaluron Causes Reduced Egg Hatch After Treating Adult Codling Moths, *Cydia pomonella*: Support for Transovarial Transfer. *J. Insect Sci.*, **11 (126)**: 1-19.

Kontsedalov, S., Einat, Z.F., Chiel, E., Gottlieb, Y., Moshe, I. & Ghanim M. (2008a). The presence of *Rickettsia* is associated with increased susceptibility of *Bemisia tabaci* (Homoptera: Aleyrodidae) to insecticides. Society of Chemical Industry. *Pest. Manag. Sci.*, **64** (8): 789 - 792.

Kontsedalov, S., Gottlieb, Y., Ishaaya, I., Nauen, R., Horowitz, R. & Ghanim. M. (2008b). Toxicity of spiromesifen to the developmental stages of *Bemisia tabaci* biotype B. *Pest Manag Sci.*, **65** (1): 5 - 13.

Kontsedalov, S., Gottlieb, Y., Ishaaya, I., Nauen, R., Horowitz, R. & Ghanim, M. (2009). Toxicity of spiromesifen to the developmental stages of *Bemisia tabaci* biotype B. *Pest. Manag. Sci.*, **65**; 5-13.

Kostyukovsky, M., Chen, B., Atsm, S. & Shaaya, E. (2000). Biological activity of two juvenoids and two ecdysteroids against three stored product insects. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, **30**: 891-897.

Kristensen, T.N., Sorensen, P., Kruhoffer, M., Pedersen, K.S., Loeschcke, V. (2005). Genome-wide analysis on inbreeding effects on gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Genetics.*, **171**(1): 157-167.

Kurtovic, A., Widmer, A. & Dickson, B. J. (2007). A single class of olfactory neurons mediates behavioural responses to a *Drosophila* sex pheromone. *Nature*, **446**, 542-546.

L

Lacaille, F., Hiroi, M., Twele, R., Inoshita, T., Umemoto, D., Maniere, G., Marion-Poll, F., Ozaki, M., Francke, W., Cobb, M., Everaerts, C., Tanimura, T. & Ferveur, J. F. (2007). An inhibitory sex pheromone tastes bitter for *Drosophila* males. *PLoS ONE*, **2**, e661.

Laemmli, V.K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of head of bacteriophage T4. *Nature*. 227- 680.

Lambreas, C. I., Galante, F. & Mena, I. (1991). Ovarian condition as an indicator of the phenology of *Bubas bubas* (Coleoptera: Scarabeidae). *Ann. Entomol. Sco. Am.*, **84**(2): 190-194.

Lamy, M. (1964a). Etude par électrophorèse en gel d'amidon des protéines de l'hémolymphe du *Bombix mori* normal ou privé de ses gonades, *C. R. Acad. Sciences Fr.*, **259**: 1905 - 1908.

Lamy, M. (1964b). Electrophorèse des protéines de l'hémolymphe de la piéride du chou (*Pieris brassicae*) au cours de son cycle biologique et de sa diapause nymphale, *P. V. Soc. Sc. Phys. et Nat. Bordeaux.*, 241 – 246.

Lamy, M. (1969). Etude électrophorétique des protéines de l'hémolymphe chez les lépidoptères. Thèse Doc. *Nat. Fac. Sc. Bordeaux*. 151 p.

Lasbleiz, C., Ferveur, J. F. & Everaerts, C. (2006). Courtship behaviour of *Drosophila melanogaster* revisited. *Animal Behaviour*, **72**, 1001-1012.

Lefranc, A., Jeune, B., Thomas-Orillard, M. & Danchin, E. (2001). Non-independence of individuals in a population of *Drosophila melanogaster*: effects of spatial distribution and dispersal. *C. R. Acad. Sci. III* **324**(3): 219-227.

Leibovitz, B.E., Siegel, B.V. (1980). Aspects of free radical reactions in biological systems: aging. *J. Geront.* **35**: 45–56.

Lemoine, A. (1980). Les protéines cuticulaire de *Tenebrio molitor* et quelques méthodes de quantification et d'identification. Rapport DEA et Entomologie. Université de Dijon.

Liu, T.X. (2004). Toxicity and efficacy of spiromesifen, a tetrionic acid insecticide, against sweetpotato whitefly (Homoptera: Aleyrodidae) on melons and collards. *Crop Protection*, **23**: 505-513.

Lorec, A. (2013). un outil idéal pour décrypter les mécanismes d'attaques bactériennes et nos propres défenses. Les défis du CEA. Le magazine de la recherche et de ses applications N°180 : 15-21.

Luo, C., Jones, C.M., Devine, G., Zhang, F., Denholm, I. & Gorman, K. (2010) Insecticide resistance in *Bemisia tabaci* biotype Q (Hemiptera: Aleyrodidae) from China. *Crop Prot.* **29**: 429–434.

M

Maiza, A., Kilani, S., Fraine, J.P., Aribi, N. & Soltani, N. (2004). Reproductive effects in German cockroach by ecdysteroid agonist RH- 0345, juvenile hormone analogue methoprene and carbamate benfuracarb. *Commun. Agric. Appl. Biol. Sci.* **69** (3): 257–266.

Maiza, A., Smaghe, G. & Aribi, N. (2010). Effects of an oxadiazine, indoxacarb on biochemical composition of ovaries of german cockroaches. *62nd International Symposium on Crop Protection*, Belgium, 18.

Malher, H. & Gordes, E. (1968). Biological chemister, *Harper and Row*.

Mar i , D., (2007). Sublethal effects of spirodiclofen on life history and life-table parameters of twospotted spider mite (*Tetranychus urticae*). *Experimental and Applied Acarology*, **42**: 121-129.

Mar i , D., Ogurli , I., Mutavdži , S. & Peri , P. (2009). The Effect of Spiromesifen on the Reproductive Potential of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). *Pestic. Phytomed.*(Belgrade), **24**(3): 203-209.

Mar i , D., Ogurli , I., Mutavdži , S. & Pantelija, P. (2010). The effects of spiromesifen on life history traits and population growth of two- spotted spider mite (Acari: Tetranychidae). *Exp. Appl. Acarol.*, **50**: 255-267.

Marcillac, F. & Ferveur, J.F. (2004). A set of female pheromones affects reproduction before, during and after mating in *Drosophila*. *Journal of Experimental Biology.*, **207**: 3927-3933.

Marcillac, F., Houot, B. & Ferveur, J.F. (2005). Revisited Roles of *Drosophila* Female Pheromones. *Chem. Senses.*, **30** (1): 273–274

Marcillac, F., Grosjean, Y. & Ferveur, J. F. (2005b). A single mutation alters production and discrimination of *Drosophila* sex pheromones. *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences.*, **272**: 303-309.

Markert, B.A., Breure, A.M. & Zechmeister, H.G., (2003). Definitions, strategies and principles for bioindication/biomonitoring of the environment. Bioindicators and biomonitors: principles, concepts and applications, B.A. Markert, A.M. Breure, H.G. Zechmeister, editors. (Oxford: Elsevier Science Limited), pp. 3-39.

Marty, R. (1968). Recherches écologique et biochimique sur les orthoptères des pyrénées. Thèse Doc. *ESSC. Nat. Fac. Sc. Toulouse.* N° 326.

Masson, C. & Brossut, R., (1981). La communication chimique chez les insectes. La Recherche, n° 121, pp. 406-416.

Mathew, M.Sc., Thanuja A. & Phil, M. (2008). Studies on the accessory sex glands of *Spodoptera Mauritia* Boisd. (Lepidoptera: Noctuidae). Thesis submitted to the University of Calicut in partial fulfilment of the requirements for the Degree of Doctor of Philosophy in Zoology. University of Calicut Kerala, INDIA.

Matson, P.A., Parton, W.J., Power, A.G. & Swift, M.J. (1997). Agricultural Intensification and Ecosystem Properties. *Science.*, **277**: 504-509.

McKenzie, J.A. (1974). The distribution of vineyard populations of *Drosophila melanogaster* during vintage and non-vintage periods. *Oecologia.*, **15**: 1-16.

McKenzie, J. A. & Mc Kechnie, S. W. (1979). A comparative study of resource utilization in natural populations of *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Oecologia.*, **40**: 299-309.

Mohamed, M.I., & Hafez, S.E. (2000). Biochemical studies on the Protein content of fat body and hemolymph of fourth larval instar of *Musca domestica* L: adult hemolymph and gonads, both emerging from reciprocal crosses after treatment with an organophosphorus pesticide. *J. Union. Arab. Biol.*, Cairo, **13(A)**: 33-51.

Monconduit, H. & Mauchamp, B. (1998). Effects of ultra-low doses of fenoxycarb on juvenile hormone regulated physiological parameters in the silkworm, *Bombyx mori*, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **37**: 178–189.

N

Nauen, R., Bretschneider, T., Bruck, E., Elbert, A., Reckmann, U., Wqchendorff, U., Tiemann, R. (2002). BSN 2060- a novel compound for whitefly and spider mite control, Proc. BCPC-Conf.: Pest and Diseases, November 18-21, 2002, Brighton, UK, pp. 39-44.

Nauen, R., Bretschneider, T., Elbert, A., Fischer, R. & Tieman, R. (2003).- Spirodiclofen and spiromesifen. *Pestic. Outlook.*, **14**: 243-246.

Nauen, R., Schnorbach, H.J. & Elbert, A. (2005). The biological profile of spiromesifen (Oberon) –a new tetronic acid insecticide/acaricide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* **58**: 417–440.

Nauen, R. & Konanz, S. (2005). Spiromesifen as a new chemical option for resistance management in whiteflies and spider mites. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer.*, **58**:485–502.

Nicolaus, B., Romijn, C. & Bowers L. (2005). Ecotoxicological profile of the insecticide Oberon. *Pflanzenschutz- Nachrichten Bayer.* **58**: 353–370.

Norman, K.N.T. (2000). The persistence of methyl bromide residues in rice, dried fruits, seeds and nuts following laboratory fumigation. *Pest. Manag. Sci.*, **56**: 154-158.

O

Oerke, E.C. (2006). Crop losses to pests, *J. Agric. Sci.* **144**: 31-43.

P

Palumbo, J. C. (2009). Spray Timing of Spiromesifen and Buprofezin for Managing *Bemisia* Whiteflies in Cantaloupes . *Plant. Health. Progress.*, **88**: 1393-1400

Paoletti, G & Pimentel, D. (2000). Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control, **12(3)**: 279-303.

Pimentel, D. (2008). Preface Special Issue: Conservation biological control. *Biological Control.*, **45**: 171.

Planes, L., Catalán, J., Tena, A., Porcuna, J.L., Jacas, J.A., Izquierdo, J. & Urbaneja, A. (2013). Lethal and sublethal effects of spirotetramat on the mealybug destroyer, *Cryptolaemus montrouzieri*. *J. Pest Sci.*, **86**: 321-327.

Possidente, D.R. & Murphey, R.K. (1989). Genetic control of sexually dimorphic axon morphology in *Drosophila* sensory neurons. *Dev Biol.*, **132 (2)**: 448-57.

Prabhaker, N., Castle, S.J., Buckelew, L. & Toscano, N.C. (2008). Baseline susceptibility of *Bemisia tabaci* B biotype (Hemiptera: Aleyrodidae) populations from California and Arizona to spiromesifen. *J Econ. Department of Entomology, University of California.*, **101(1)**:174 - 81.

R

Ramade, F. (2005). *Eléments d'écologie- Ecologie appliqué*. ISBN 978-2100068-388.

Regnault-Roger, C. (2002). De nouveaux phyto-insecticides pour le troisième millénaire, 18-39, in « Biopesticides d'origine végétale » ,Tec et Doc Lavoisier, Paris.

Reiter, L.T., Potocki, L., Chien, S., Gribskov, M. & Bier, E. (2001) A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*. *Genome Res.* **11**: 1114-1125.

Robinson, G.E. & Ben shahar, Y. (2002). Social behavior and comparative genomics: new genes or new regulation ? *Genes, Brain and beha.*, **1**: 197-203.

Roditakis, E., Grispou, M., Morou, E., Kristoffersen, J.B., Roditakis, N., Nauen, R., Vontas, J. & Tsagkarakou, A. (2009) Current status of insecticide resistance in Q biotype *Bemisia tabaci* populations from Crete. *Pest Manag Sci.*, **65**: 313-322

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

S

Schoeters, G. & Hoogenboom, R. (2006). Contamination of free-range chicken eggs with dioxins and dioxin-like polychlorinated biphenyls. *Mol Nutr Food Res.*, **50**: 908-914.

Schuster, D.J., Mann, R.S., Toapanta, M., Cordero, R., Thompson, S., Cyman, S., Shurtleff, A. & Morris, R.F. (2010). Monitoring neonicotinoid resistance in biotype B of *Bemisia tabaci* in Florida. *Pest Manag Sci.*, **66**:186–195

Shaoyong, K., Tingting, S., Zhigang, Z., Ya-Ni, Z., Ying L., Kaimei, W. & Ziwen, Y. (2010). Spirodiclofen Analogues as Potential Lipid Biosynthesis Inhibitors: A Convenient Synthesis, Biological Evaluation, and Structure-Activity Relationship. *Bull. Korean. Chem. Soc.*, Vol. 31, No. 8.

Sharma, K.K., Rao C.S., Dubey, J.K., Patyal, S.K., Parihar, N.S., Battu, R.S., Sharma, V., Gupta, P., Kumar, A., Kalpana, J.M., Singh, B., Sharma, I.D., Nath, A. & Gour, T.B. (2007). Persistence and dissipation kinetics of spiromesifen in chili and cotton. *Environ. Monit. Assess.*, **132**: 25 - 31.

Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyeck, C., New Hall, & Feidman, L. (1966). A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, **19**: 415-528.

Shorrocks, B. (1982). The breeding sites of temperate woodlands *Drosophila*. In M. Ashburner, H. L. Carson, & J. N. J. Thompson (Eds.), *The genetics and biology of drosophila*, Vol. 3b (pp.385-428). New York: Academic Press.

Shukla, G.S., Chiu, J. & Hart, B.A. (2000). Cadmium induced elevations in the gene expression of the regulatory subunit of γ -glutamylcysteine synthetase in rat lung and alveolar epithelial cells. *Toxicol.*, **151**, 45-54.

Siwicki, K.K., Riccio, P., Ladewski, L., Marcillac, F., Dartevelle, L., Cross, S. A. & Ferveur, J.F. (2005). The role of cuticular pheromones in courtship conditioning of *Drosophila* males. *Learning & Memory*, **12**, 636-645.

Slack, J. (2004). Biologie du développement. 1ère édition, De Boeck, p 481.

Smaghe, G. & Degheele, D. (1992a). Effect of nonsteroidal ecdysteroid agonist RH-5849 on reproduction of *Spodoptera littoralis* (Boisd) (Lepidoptera: Noctuidae). *Parasitica*, **48**: 23-29.

Smaghe, G., & Degheele, D. (1997). Comparative toxicity and tolerance for the ecdysteroid mimic tebufenozide in a laboratory and field strain of cotton leafworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* **90**, 278–282.

Smith, D. P. (2007). Odor and pheromone detection in *Drosophila melanogaster*. *Pflugers Archiv-European Journal of Physiology.*, **454**: 749-758.

Snedeker, S.M. (2001). Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ. Health Perspect.*, **109 Suppl 1**: 35-47.

Soderlund, D.M. (1997). Molecular mechanisms of insecticide resistance. *In situ V* (Ed). Molecular mechanisms of resistance to agrochemicals, Chemistry of plant protection. Springer, Berlin Heidelberg New York., **13**: 21-56.

Soltani-Mazouni, N. & Soltani, N. (1992). Effets du diflubenzurom sur les métabolites hémolymphatiques et ovariens chez *Tenebrio molitor* au cours de la maturation sexuelle. *Mém. Soc. R. Belg. Ent.*, **35**: 743-747.

Soltani-Mazouni, N., Taibi F., Berghiche H., Smaghe G & Soltani N., (2001). RH-0345 restored partly the effects induced by KK-42 on reproductive event in Mealworms. *Med-Fac. Landbouww.Univ.Gent.*, **66/2a**: 437-444.

Soltani-Mazouni, N., Hami, M. & Gramdi, H. (2012). Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Inv. Rep. Dev.*, **56 (2)**: 157-163.

Soltani, N., Aribi, N., Berghiche, H., Lakbar, S. & Smaghe G. (2002). Activity of RH-0345 on ecdysteroid production and cuticle secretion in *Tenebrio molitor* pupae *in vivo* and *in vitro*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, **72**:83–90.

Soltani, N., Rehim, N., Drardja, H. & Bendali, F. (1999). Activité du triflumuron à l'égard de *Culex pipiens* et impacts sur deux espèces larvivores non visées. *Entomol. Fr. (NS)*, **35** : 59-64.

Spith, H. T. (1952). Mating behavior within the Genus *Drosophila* (Diptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, **99**, 401-474.

Stark, J.D. & Banks, J.E. (2003). Population level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annual Review of Entomology*, **48**: 505-519.

Stemberger, & Gilbert, T. (1985). Body Size, Food concentration and population growth in planktonic rotifers. *Ecology*, **66 (4)**: 1151 – 1159.

Stemberger, & Gilbert, T. (1987). Rotifer threshold food concentration and the size efficiency hypothesis. *Ecology*, **68 (1)**: 181 – 187.

Stohs, S.J., Bagchi, D., Hasoun, E. & Bagchi, M. (2000). Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol*, **19**: 201-213.

Storey, K.B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Braz. J. Med. Biol. Res*, **29**: 1715-1733.

Strong, L.C., McTavish, H., Sadowsky, M.J. & Wackett, L.P. (2000). Field-scale remediation of atrazine-contaminated soil using recombinant *Escherichia coli* expressing atrazine chlorohydrolase. *Environ Microbiol.*, **2(1)**: 91-8.

Sturtevant, A. H. (1915). Experiments on sex recognition and the problem of sexual selection in *Drosophila*. *Anim Behav.*, **5**:351-366.

Sureau, G. & Ferveur, J. F. (1999). Go-adaptation of pheromone production and behavioural responses in *Drosophila melanogaster* males. *Genetical Research*, **74**, 129-137

Swaroop, S., Gilroy, A. B. & Uemura, K. (1966). Statistical methods in malaria eradication. Geneva: World Health Organisation.

T

Takahashi, K.H. (2006) Spatial aggregation and association in different resource-patch distributions: experimental analysis with *Drosophila*. *J. Anim. Ecol.*, **75(1)**: 266-273.

Tavernier, R. & Lizeaux, C., (2002). Sciences Vie Terre Term S – Spec. Maisonneuve & Larose. ISBN 20-472958-58, 117p.

Testa, N.D., Ghosh, S.M. & Shingleton, A.S. (2013). Sex-specific weight loss mediates sexual size dimorphism in *Drosophila melanogaster*. *PloS ONE.*, **8** (2): 1-5.

Timothy, C. & Marss. (2012). Mammalian toxicology of insecticides. *12*: 221-222.

Tine-Djebbar, F. (2009). Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide, méthoxyfenozide) à l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* : toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université Badji Mokhtar de Annaba. 168 p.

Tine-Djebbar, F., Bouabida, H. & Soltani, N. (2011). Caractérisation morphométrique et biochimique de certaines espèces de moustiques inventoriées dans la région de Tébessa. *Bulletin de la société zoologique de France.*, **136** (1-4) : 177- 185.

Toma L, Menegon M, Romi R, De Matthaëis E, Montanaria M, Severini C. (2011) Status of insecticide resistance in *Culex pipiens* field populations from north-eastern areas of Italy before the withdrawal of OP compounds. *Pest Manag Sci.*, **67**: 100-106.

Tracqui, P. & Demongeot, J. (2003). Eléments de biologie à l'usage d'autres disciplines de la structure aux fonctions, *EDP sciences Edition*, 94-95.

Trivers, R.L. (1972). Mother-offspring conflict. *American Zoologist*, **12**, 648-648.

Trostanetsky, A., Kostyukovsky, M. (2008). Transovarial activity of the chitin synthesis inhibitor on egg hatch and subsequent development of larvae of *Tribolium castaneum*. *Phytoparasitica*. **36** (1): 38-41.

Troy, S., Anderson, W.A. & Spielman, A. (1975). Lipid content of maturing ovaries of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Comp. Biochem. Physiol.*, **50** (B): 457-461.

Tucuch-Haas, J.I., Rodríguez-Maciel, J.C., Lagunes-Tejeda, A., Silva-Aguayo, G., Aguilar-Medel, S., Robles-Bermudez, A & Gonzalez-Camacho, J.M. (2010). Toxicity of spiromesifen to the developmental stages of *Bactericera cockerelli* (Sulc) (Hemiptera: Triozidae). *Neotrop Entomol*, **39**(3): 436-40.

V

Valles, S.M., Koehler, P.G. & Brenner, R.J. (2000). Comparative insecticide susceptibility and detoxification enzymes activities among pestiferous Blattodea. *Comp. Biochem. Physiol.*, **124**: 227-232.

Van der Vaart, H., Potma, D.S., Timens, W. & Ten Hacken, N.H. (2004). Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress: a review. *Thorax*, **29**: 713-721.

Van Hensden, H.C. & Law, J.H. (1989). An insect transport particule promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *J. Biochem.*, **246**: 17287-17292.

Van Pottelberge, S., Khajehali, J., Van Leeuwen, T. & Tirry, L. (2009). Effects of spirodiclofen on reproduction in a susceptible and resistant strain of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae). *Exp Appl Acarol*, **47**: 301-309.

Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E. & Koehler, A. (2007). The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutantinduced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol.*, **146 C**: 281- 300.

W

Wang, Z., Singhvi, A., Kong, P. & Scott, K. (2004). Taste representations in the *Drosophila* brain. *Cell.*, **117(7)**: 981-91.

Weber, E. (2005). Behaviour of spiromesifen (Oberon) in plants and animals. *Planzenschutz-Nachrichten Bayer.*, **58**: 391-416.

Wertheim, B., Marchais, J. & Vet LEM. (2002) Allee effect in larval resource exploitation in *Drosophila*: an interaction among density of adults, larvae and micro-organisms. *Ecol. Entomol.* **27**: 608–617.

Wertheim, B., van Baalen, E.J.A., Dicke, M.V. & LEM. (2005). Pheromone-mediated aggregation in nonsocial arthropods: an evolutionary ecological perspective. *Annu. Rev. Entomol.* **50**: 321-346.

Wertheim, B., Allemand, R.V., LEM., & Dicke, M. (2006) Effects of aggregation pheromone on individual behaviour and food web interactions: a field study on *Drosophila*. *Ecol. Entomol.* **31(3)**: 216-226.

Wiens, A.W. & Gilbert, T. (1968). Regulation of carbohydrate mobilization utilization in *Leucophaea maderae*. *J. Insect. Physiol.*, **13**: 779-794.

Wyatt, T.D. (2003). Pheromones and Animal Behaviour: Communication by Smell and Taste. Cambridge University Press, Cambridge.

Y

Yang, M.L., Zhang, J.Z., Zhu, K.Y., Xuan, T., Liu, X.J., Guo, Y.P. & Ma, E.B. (2009). Mechanisms of organophosphate resistance in a field population of oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (meyen). *Arch. Insect Bioch. Physiol.*, **71(1)**: 3-15.

Yu, S.J., Nguten, S.N. & Abd- Elghar, G.E. (2003). Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Pest. Biochem. Physiol.*, **77**: 1-11.

Z

Zaim, M., & Guillet, P. (2002). Alternative insecticides : an urgent need, *Trends Parasitol.* **18** (4): 161-3.

Zielinski, S. & Pörtner, H.O. (2000). Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods: a function of metabolic rate or age. *Comp. Biochem. Physiol.*, **125**: 147-160.

ANNEXE : Production scientifique

- **Publication (1) :**

1. BENSAFI-GHERAIBIA H., MENAIL A.H. & SOLTANI N., 2013. Activité d'un inhibiteur de la synthèse des lipides (spiromesifen) chez *Drosophila melanogaster*: taux et peroxydation lipidiques et effet sur la descendance. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 2012, 138 (1-4): 189-199. www.snv.jussieu.fr/zoologie ISSN : 0037-962X.

- **Communications internationales (3):**

1. BENSAFI-GHERAIBIA H, MENAIL AH. & SOLTANI N., 2012. Activité d'un inhibiteur de la synthèse des lipides (spiromesifen) chez *Drosophila melanogaster* : Taux et peroxydation lipidiques et descendance. 3^{ème} congrès Franco-Maghrébin de Zoologie et d'Ichtyologie, Marrakech 6-10 Novembre 2012 (Communication affichée).
2. BENSAFI-GHERAIBIA H., KISSOUM N., TAZIR A., SOLTANI-MAZOUNI N. & SOLTANI N., 2013. Effet sublétaux du spiromesifen sur les protéines ovariennes et la reproduction chez un modèle de laboratoire *Drosophila melanogaster*. *Séminaire International. Protection Phytosanitaire: Situation et Perspectives* Batna, le 17-19 novembre 2013 (Communication orale).
3. BENSAFI-GHERAIBIA H, MENAIL AH. & SOLTANI N., 2013. Effets létaux et sublétaux du spiromesifen, un inhibiteur de la synthèse des lipides sur la composition biochimique de *Drosophila melanogaster*. 24^{ème} Forum des Sciences Biologiques et de Biotechnologie, 25-28 mars 2013, Sousse, Tunisie (Communication orale).