

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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



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



Thèse présentée pour l'obtention du grade de Doctorat

Spécialité : Biologie Animale Environnementale

Option: REPRODUCTION & DEVELOPPEMENT

Intitulé

**Evaluation d'un insecticide, l'indoxacarbe sur la
reproduction d'un modèle à intérêt médical *Blattella
germanica* (Blattaria : Blattellidae)**

Présentée par: Amel DJEMAOUN Ep. BOUCHEKER

Devant un jury composé de

Président : Pr. N. SOLTANI

Université Badji- Mokhtar. Annaba

Directrice de thèse : Pr. D. HABES

Université Badji- Mokhtar. Annaba

Examinatrice : Pr. L. ALLAL-BENFEKIH

Université Blida

Examinatrice : Pr. S. KILANI-MORAKCHI

Université Badji- Mokhtar. Annaba

Examinatrice : Dr. F. TINE-DJEBAR

Université Tébessa

Année universitaire : 2017/2018

Remerciements

À l'issue de ces années de doctorat, je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à ceux ou celles qui d'une manière ou d'une autre, m'ont permis d'entreprendre, de réaliser et d'achever cette thèse.

Je tiens à adresser mes très sincères remerciements à tous les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail et à l'ensemble des personnes qui ont contribué à l'élaboration de cette thèse.

*Je tiens à adresser mes remerciements à **M^r N. Soltani**, Professeur à l'université d'Annaba, pour son accueil dans son laboratoire et permis de réaliser cette thèse dans d'excellentes conditions de travail, sa grande disponibilité, son aide tout au long de ce travail doctoral et pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Toute ma profonde reconnaissance et Mes plus vifs remerciements s'adressent au **M^{me} D. Habes**, Professeur au département de Biologie, ma directrice de thèse, pour la confiance qu'elle m'a accordée en acceptant d'encadrer ce travail, pour sa disponibilité, pour ses multiples encouragements, ainsi que pour ses précieux conseils.*

*Madame **L. Allal- Benfekih**, professeur de l'Université de Blida, pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse et de me faire l'honneur de juger ce travail, je lui adresse mes sincères remerciements ainsi que ma profonde gratitude.*

*Je tiens à exprimer mes sincères remerciements à **M^{me} f. Tine- Djebbar**, maitre de conférences à l'université de Tébessa pour avoir accepté de juger ce travail.*

*Je remercie plus particulièrement, **M^{me} S. Kilani- Morakchi**, professeur à l'université Badji Mokhtar de Annaba, pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant d'examiner ce travail et de siéger à ce jury de thèse. Je tiens à l'assurer de mon profond respect et de mes sincères remerciements. .*

*Je souhaiterais remercier également **M^{me} N. Soltani- Mazouni**, Professeur à l'université d'Annaba, pour son aide précieuse, ses conseils scientifiques sa gentillesse et sa patience.*

*Je tiens aussi à remercier chaleureusement **M^{me} Amel Hamdani** Docteur à l'université d'Annaba, pour son aide et ses conseils bien appréciables depuis mon master.*

*Je Remercie
Dieu
Le Tout
Puissant Pour
Tout.....*

Dédicace

Je dédie ce travail :

*** A la mémoire de ma chère et regrettée **maman alah yarhamha**, c'est pour toi que j'ai fait ce parcours et je regrette que tu ne sois pas parmi nous en ce moment tant attendu. Tu es dans mon cœur et mon esprit en toute circonstance.*

*** A mon **cher Papa**, je lui dédie avec fierté cette thèse qui reflète le fruit de l'éducation et de l'attention qu'il m'a tant réservé, je suis très reconnaissante et j'aurai tant aimé partager la joie de ma réussite avec lui, pour son soutien sans faille, et à tout ce qu'il a pu m'apporter pour franchir les obstacles les plus difficiles. Je tiens à lui exprimer ma plus vive gratitude pour son aide financière et morale tout au long de ces années d'études.*

*** J'adresse mille mercis à mon cher époux **Karim**, pour m'avoir soutenu et pour ses multiples conseils.*

*** Je dédie également ce travail à ma tendre fille **Nourcine** auxquels je suis redevable pour leur soutien inconditionnel.*

*** Ainsi qu'à mes soeurs, **Souheila, Sabrina** et mes frères **Riad et Anis** pour leur soutien moral et amour et soins au cours de ces années d'études.*

*** Je ne saurai jamais comment remercier mes amies, mes collègues et mes sœurs **Fatiha Bensalem- Djedi** (Docteur, Université d'Annaba) et **Lamia Bensouda-Talbi** (Doctorante, Université de Annaba) pour leurs précieux conseils et pour l'aide combien efficace qu'elles m'ont apportées. Je n'oublierai jamais leurs marques de sympathie, leurs disponibilités, leurs soutiens moraux, et leurs encouragements.*

*** Enfin, a toutes l'équipe du laboratoire de biologie animale applique pour leur soutiens, mes profonds remerciements à tous ceux ou celles qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.*

A tous mes amis et collègues

1. INTRODUCTION GENERALE	1
2. MATERIEL ET METHODE	6
2. 1. Taxonomie	6
2. 2. Présentation de l'insectes.....	7
2. 2. 1. Cycle biologique de <i>B. germanica</i>	8
2. 3. Elevage des Blattes.....	10
2. 4. Présentation de l'insecticide.....	11
2. 4. 1. Indoxacarbe.....	11
2. 4. 1. 1. Etude toxicologique	12
2. 4. 1. 2. Traitement des insectes et bio essai.....	14
2. 5. Dissection et Prélèvement des ovaires.....	14
2. 6. Morphométrie des ovaires.....	15
2. 7. Analyses biochimiques	15
2. 7. 1. Extraction et dosage des vitellines et vitellogénines	15
2. 7. 1. 1. La technique d'extraction	15
2. 7. 1. 2. Dosage des vitellines et vitellogénines.....	16
2. 7. 2. Extraction des métabolites	18
2. 7. 2. 1. Dosage des glucides	19
2. 7. 2. 2. Dosage des protéines	19
2. 7. 2. 3. Dosage des lipides.....	20
2. 8. Etude histologiques des ovaires.....	21
2. 9. Analyse statistique.....	23

Chapitre 1 : Etude toxicologique de l'indoxacarbe

1. 1. Introduction	25
1. 2. Résultats	27
1. 2. 1. Toxicité de l'indoxacarbe à l'égard des adultes nouvellement exuvée de <i>B. germanica</i> et détermination des DL30, DL50 et DL90	27
1. 2. 1. 1. Après 10 jours de traitement	27
1. 3. Discussion	31
1. 3. 1. Etude toxicologique de l'indoxacarbe.....	31
1. 4. Conclusion	33

Chapitre 2 : Ingestion de l'indoxacarbe sur la reproduction

2. 1. Introduction	34
2. 2. Résultats	
2. 2. 1. Effet de l'indoxacarbe sur la morphométrie des ovaires.....	38
2. 2. 1. 1. Effet sur le nombre d'ovocytes.....	38
2. 2.1. 2. Effet de l'indoxacarbe sur le poids frais (mg) de l'ovaire.....	40
2. 2. 1. 3. Effet de l'indoxacarbe sur la largeur (l) de l'ovocyte basal.	42
2. 2. 1. 4. Effet de l'indoxacarbe sur la longueur (L) de l'ovocyte basal.....	44
2. 2. 1. 5. Effet de l'indoxacarbe sur le volume de l'ovocyte basal (mm ³)	46
2. 2. 2. Effet de l'indoxacarbe sur les vitellines et vitellogenines	48
2. 2. 2. 1. Effet de l'indoxacarbe sur les vitellines.....	50
2. 2. 2. 2. Effet de l'indoxacarbe sur les vitellogenines.....	52
2. 2. 3. Effet de l'indoxacarbe sur la biochimie chez les deux sexes.....	54
2. 2. 3. 1. Effet sur le contenu protéique ovarien et testiculaire	55
2. 2. 3. 1. 1. Effet sur le contenu protéique ovarien :	55
2. 2. 3. 1. 2. Effet sur le contenu en protéines testiculaires.....	58
2. 2. 3. 2. Effet sur le contenu en glucides ovarien et testiculaire	62
2. 2. 3. 2. 1. Effet sur le contenu en glucides chez les adultes femelles de <i>B.germanica</i>	63
2. 2. 3. 2. 2. Effet sur le contenu en glucides chez les adultes males de <i>B.germanica</i> nouvellement exuviee.....	65
2. 2. 3. 3. Effet sur le contenu en lipides chez les deux sexes	69
2. 2. 3. 3. 1. Effet sur le contenu en lipides ovarien.....	70
2. 2. 3. 3. 2. Effet sur le contenu en lipides testiculaires.....	72
2. 2. 4. Etude histologique	76
2. 2. 4. 1. Effet de l'indoxacarbe sur l'épaisseur de l'épithélium folliculaire (µm) des ovocytes	78
 2. 3. DISCUSSION	
2. 3. 1. Effet de l'indoxacarbe sur la morphométrie des ovaires.....	81
2. 3. 2. Effet de l'indoxacarbe sur les vitellines.....	83
2. 3. 3. Effet de l'indoxacarbe sur les vitellogenines.....	85

2. 3. 4. Effet de l'indoxacarbe sur la biochimie chez les deux sexes.....	86
2. 3. 5. Etude histologique des ovaires sur la reproduction du <i>B. germanica</i>	90
2. 4. Conclusion	92
3. CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES	94
4. RESUMES	
Français	97
Anglais	98
Arabe	99
5. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	100
6. Annexes	
7. Production scientifique	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titres	Pages
1	Propriétés physico-chimiques de l'indoxacarbe (Brugger, 1997).	12
2	Dosage de vitellines: réalisation de la gamme d'étalonnage.	16
3	Dosage de glucides totaux: réalisation de la gamme d'étalonnage.	19
4	Dosage des protéines ovariennes: réalisation de la gamme d'étalonnage.	20
5	Dosage de lipides totaux: réalisation de la gamme d'étalonnage.	20
6	Principales étapes de coloration par hématoxyline-éosine selon Martel (2005).	22
7	Toxicité de l'indoxacarbe administré par ingestion aux adultes de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvies : Mortalité corrigée (%) en fonctions du temps (10 jours) et des doses(%). ($m \pm s$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 13 individus).	28
8	Transformation Angulaire de la mortalité corrigée en probit aux différentes doses (%) en fonctions du temps (10 jours).	29
9	Toxicité de l'indoxacarbe (%) après 10 jours de traitement par ingestion dès l'émergence des adultes de <i>B. germanica</i> : détermination de la DL_{30} , DL_{50} et la DL_{90} (%) et leur intervalle de confiance (IC à 95 %).	29
10	Analyse de la variance (Anova) à un seul critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%)	10

LISTE DES TABLEAUX

11	Effet in vivo de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) sur le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> : ($m \pm s$; $n = 4$)	39
12	Effet de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) administré par ingestion sur le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires par paire d'ovaires chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	40
13	Effet de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) administré par ingestion sur le poids frais (mg) des ovocytes par paire d'ovaires chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> : ($m \pm s$; $n = 4$)	41
14	Effet de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) sur poids frais (mg) des ovocytes par paire d'ovaires chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	42
15	Effet de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) administré par ingestion sur la largeur d'ovocyte basale (μm) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> : ($m \pm s$; $n = 4$)	43
16	Effet de l'indoxacarbe sur La largeur de l'ovocyte basal (μm) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de <i>B.germanica</i> en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	44
17	Effet de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) administré par ingestion sur la longueur de l'ovocyte basal (μm) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> ($m \pm s$; $n = 4$)	45
18	Effet de l'indoxacarbe sur la longueur de l'ovocyte basal (μm) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> : en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	46
19	Effet in vivo de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) administré par ingestion sur le volume (mm^3) de l'ovocyte basal chez les adultes de <i>B. germanica</i> .	47

LISTE DES TABLEAUX

20	Effet de l'indoxacarbe par ingestion sur le volume (mm ³) par paire d'ovaires chez les adultes de <i>B. germanica</i> : en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	48
21	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion le jour de l'exuviation adulte sur le contenu en vitelline et vitellogenine chez les femelles de <i>B. germanica</i> : densités optiques (D.O) obtenus à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (µg).	48
22	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀ = 0,127) administré par ingestion sur le contenu de vitelline (µg/mg de tissus) chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> : (m ± s; n = 3)	50
23	Classement des paramètres biochimiques « vitellines » mesurés chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> : test HSD de Tukey.	51
24	Effet de l'indoxacarbe sur le contenu de vitellines par paire d'ovaires chez les adultes de <i>B. germanica</i> en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	51
25	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀ = 0,127) administré par ingestion sur les vitellogénines au niveau du corps gras (µg/mg de tissus) chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> : (m ± s; n = 3).	53
26	Classement des paramètres biochimiques « vitellogenines » mesurés chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> : test HSD de Tukey.	54
27	Effet de l'indoxacarbe sur le contenu en vitellogénines au niveau du corps gras chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	54
28	Dosage des protéines ovariennes et testiculaires: densités optiques (D.O) obtenues à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (µg).	55

LISTE DES TABLEAUX

29	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en protéines testiculaire aux adultes de <i>B. germanica</i> (m± s; n = 8).	57
30	Effet de l'indoxacarbe sur le contenu en protéines chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	58
31	Classement des paramètres biochimiques « Protéines » mesurés chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> : test HSD de Tukey.	58
32	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en protéines chez les adultes de <i>B. germanica</i> (m ± s; n = 8).	60
33	Classement des paramètres biochimiques « Protéines » mesurés chez les adultes mâles de <i>B. germanica</i> : test HSD de Tukey.	60
34	Effet de l'indoxacarbe (DL ₃₀) sur le contenu en protéines chez les adultes de <i>B. germanica</i> en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	61
35	Classement des paramètres biochimiques « Protéines » mesurés chez les adultes males de <i>B. germanica</i> : test HSD de Tukey.	61
36	Dosage des glucides ovariens et testiculaires : densités optiques obtenues à 620 nm en fonction de la quantité de glucose (µg).	62
37	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en glucides chez les mâles des adultes de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvie (m ± s; n = 8).	64
38	Classement des paramètres biochimiques « Glucides » mesurés chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> : test HSD de Tukey.	65
38	Effet de l'indoxacarbe sur le contenu en glucides chez les adultes mâles de <i>B. germanica</i> en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	65

LISTE DES TABLEAUX

39	Classement des paramètres biochimiques « Glucides » mesurés chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> : test HSD de Tukey.	65
40	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu glucidique chez les males des adultes de <i>B. germanica</i> . nouvellement exuviee :(m ± s ; n = 8).	67
41	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (sur le contenu en lipides chez les mâles adultes de <i>B. germanica</i> en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	67
42	Classement des adultes <i>B. germanica</i> selon les paramètres biochimiques « Glucides » mesurés chez les adultes males: test HSD de Tukey.	68
43	La densité optique (D.O) obtenues à 530 nm en fonction de la quantité de lipides (µg).	69
44	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en lipides chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvie (m ± s ; n = 8).	71
45	Effet de l'indoxacarbe par ingestion sur le contenu lipidique ovarien chez les adultes de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvie en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.	72
46	Classement des paramètres biochimiques (Lipides) mesurés chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvie : test HSD de Tukey	72
47	Effets <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en lipides chez les adultes mâles de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvie (m ± s ; n = 8).	74
48	Effet de l'indoxacarbe sur le contenu en lipides chez les deux sexes adultes de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvie en fonction de l'âge:	75

LISTE DES TABLEAUX

	Analyse de la variance a trois critères de classification	
49	Classement des paramètres biochimiques (Lipides) mesurés chez les adultes males de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvie : test HSD de Tukey	75
51	Longueur (μm) des ovocytes pendant le cycle de développement (n = 3).	75
52	Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion à l'émergence des adultes femelles de <i>B. germanica</i> sur la longueur des ovocytes : analyse de la variance à un seul critère de classification. (m \pm s ; n = 3).	75
53	Classement de la longueur des ovocytes par traitement (μm) au niveau des ovaires de <i>B. germanica</i> par le test tukey	76
54	Largeur (μm) des ovocytes pendant le cycle de développement (n = 3).	76
55	Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion à l'émergence des adultes femelles de <i>B. germanica</i> sur la largeur des ovocytes : analyse de la variance à un seul critère de classification. (m \pm s ; n = 3).	77
56	Classement de la largeur des ovocytes par traitement (μm) au niveau des ovaires de <i>B. germanica</i> par le test tukey	77
57	Epaisseur de l'épithélium folliculaire (μm) des ovocytes pendant le cycle de développement (n = 3).	78
58	Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion à l'émergence des adultes femelles de <i>B. germanica</i> sur l'épaisseur de l'épithélium folliculaire: analyse de la variance à un seul critère de classification. (m \pm s ; n = 3).	79
59	Classement de l'épaisseur de l'épithélium folliculaire (μm) au niveau des ovaires de <i>B. germanica</i> par le test tukey	79

LISTE DES FIGURES

Figure	Titres	Pages
1	Plaques sous-génitales des femelles et des mâles de <i>B. germanica</i> (face ventrale de l'abdomen).	7
2	Cycle biologique de <i>Blattella germanica</i>	8
3	Morphologie des différents stades de <i>Blattella germanica</i> (X 6,8) (d'après Hutchinson, 1999) (1: Oothèque, 2 à 6: Stades Larvaires, 7 : Femelle adulte, 8: Mâle Adulte).	9
4	Les pièges utilisés pour la capture des blattes en milieu urbain.	10
5	Elevage en laboratoire de <i>B. germanica</i> .	10
6	La structure chimique de l'indoxacarb (C ₂₂ H ₁₇ Cl F ₃ N ₃ O ₇).	11
7	Ingestion de l'indoxacarbe au adulte nouvellement exuvié de <i>B. germanica</i>	13
8	Dissection, prélèvement des ovaires de <i>B. germanica</i>	14
9	Extraction de vitellines (adaptée aux Centipèdes par Descamps, 1996 à partir de Fabre <i>et al.</i> , 1990).	17
10	Principales étapes d'extraction des métabolites: protéines, glucides, lipides (Shibko <i>et al.</i> , 1966).	18
11	Toxicité de l'indoxacarbe (%) par ingestion dès l'émergence à l'égard des adultes de <i>B. germanica</i> après 10jours de traitement: classement des doses (m ± s; les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes).	28

LISTE DES FIGURES

12	Courbe dose –réponse exprimant le pourcentage de mortalité en fonction du logarithme de la dose de l'indoxacarbe chez les adultes nouvellement exuvies de <i>B. germanica</i> après 10 jours de traitement.	30
13	Effets <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀ = 0,172%) administré par ingestion sur le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> (m ± s ; n = 4).	39
14	Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion (DL ₃₀ = 0,127%) sur le poids frais (mg) des ovocytes par paire d'ovaires chez le adultes femelles de <i>B. germanica</i> (m ± s ; n = 4)	41
15	Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion (DL ₃₀ = 0,127%) sur la largeur d'ovocyte basal par paire d'ovaires chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> (m ± s ; n = 4)	43
16	Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion (DL ₃₀ = 0,127%) sur La longueur de l'ovocyte basal (µm) par paire d'ovaires chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> (m ± s ; n = 4)	45
17	Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion (DL ₃₀ = 0,127%) sur le volume d'ovocyte basal (mm ³) par paire d'ovaires chez les adultes femelles de <i>B. germanica</i> (m ± s ; n = 4)	48
18	Courbe de référence (droite étalon) exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (µg).	49
19	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en vitelline ovarien chez les femelles des adultes de <i>B. germanica</i> (m ± s; n = 3).	51
20	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur vitellogénines au niveau du corps gras (µg/mg de tissus) chez les femelles des adultes de <i>B. germanica</i> (m ± s; n = 3).	53
21	Courbe de référence (droite étalon) exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (µg) (R ² : coefficient de détermination).	55

LISTE DES FIGURES

22	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en protéines chez les femelle adultes de <i>B. germanica</i> (m ± s; n = 8).	57
23	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en protéines chez les adultes mâles de <i>B. germanica</i> (m ± s; n = 8).	60
24	Courbe de référence (droite étalon) exprimant l'absorbance à 620 nm en fonction de la quantité du glucose (µg).	62
25	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en glucides chez les femelles adultes de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvies (m ± s ; n = 8).	64
26	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en glucides chez les adultes mâles de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvies (m ± s ; n = 8).	67
27	courbe de référence (droite étalon) exprimant l'absorbance à 530 nm en fonction de la quantité d'huile de table (µg).	69
28	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le lipidiques ovarien chez les adultes de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvies (m ± s ; n = 8).	71
29	Effet <i>in vivo</i> de l'indoxacarbe (DL ₃₀) administré par ingestion sur le contenu en lipides chez les adultes mâles de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvie (m ± s ; n = 8).	74
30	Coupes histologiques des ovaires des adultes âgés de 4 jours: ovocyte témoin (A), ovocyte traité (B) (N noyau, EF: epithelium folliculaires).	77
31	Coupes histologiques des ovaires des adultes âgés de 6 jours: ovocyte témoin (A), ovocyte traité (B) (CF: cellules folliculaires avec noyau(Nf), Ep : épithélium folliculaire, Cyt f : cytoplasme folliculaire, Gv : gloubules vitellines).	77

LISTE DES FIGURES

32	Effet de l'indoxacarbe sur l'épaisseur de l'épithélium folliculaire (μm) des ovocytes de <i>B. germanica</i> nouvellement exuvies ($m \pm s$; $n = 3$).	78
-----------	---	-----------

Introduction générale

Les insectes constituent indiscutablement le taxon animal le plus diversifié avec 5 à 10 millions d'espèces estimées (Odegaard, 2000; Niven *et al.*, 2008). Huit cent mille espèces environ, ont été seulement étudiées, jusqu'à présent (Wigglesworth, 1972). Les insectes sont très étudiés en raison de leur impact sur la santé humaine, animale et sur les cultures et l'habitat. Ils sont caractérisés par leur abondance, leur diversité et leur étendue géographique. Parmi ces insectes, les Dictyoptères, telles les blattes, descendants des Aptérygotes, sous-classe primitive dépourvue d'ailes, ont fait leur apparition à l'époque silurienne (Koehler et patterson, 1987; Elie, 1998), âge de chaleur torride et d'humidité étouffante. Parmi les 4000 espèces de blattes connues, surtout tropicales, seulement trente sont considérées nuisibles (Wen *et al.*, 2001) et représentent de véritables « pest », les ravages causés sur la production agricole et la santé humaine et animale sont considérables (Nicholson, 2007).

Les blattes domestiques, les plus communes sont *Periplaneta americana* (Cornwell, 1968), *Blatta orientalis* (Cornwell, 1968), *Supella longipalpa* (Gordon, 1968) et *Blattella germanica* (Guillarium *et al.*, 1969). Ces espèces sont abondantes dans les milieux chauds et humides, colonisent les maisons et les commerces lie à la nourriture (Grandcolas, 1998). Leur régime omnivore leur permet, en outre une accommodation en aliments variés (produits laitiers, viandes) (Gordon, 1996). Par ailleurs, les blattes sont caractérisées par un potentiel reproducteur important, une photophobie et une résistance aux conditions difficiles (faim, soif, submersion) (Grandcolas, 1998).

La mauvaise répulsion des blattes domestiques vient en grande partie du fait qu'elles transmettent une odeur désagréable aux produits alimentaires dont elles se nourrissent (Rivault *et al.*, 1995 ; grandcolas, 1998) et peuvent potentiellement transmettre de nombreuses maladies infectieuses comme l'hépatite, le choléra et la tuberculose (Gordon, 1996; Tokuda *et al.*, 2008) et véhiculent différents agents pathogènes (virus, bactéries et champignons) (Espinosa *et al.*, 2002). Elles participent à un ensemble des facteurs allergisants qui déclenchent des crises d'asthme (Mindykowski *et al.*, 2010; Peden et Reed, 2010; Oseroff *et al.*, 2012; Nejati *et al.*, 2012).

Parmi ces dernières, *B. germanica* est une espèce prédominante (Miller *et al.*, 2003), à un régime omnivore et s'accommode à tous types d'aliments (Gordon, 1996).

La reproduction est un facteur de pullulation des insectes, leur croissance et leur développement se font grâce aux processus de mues régulés par deux principales hormones: les ecdystéroïdes et les hormones juvéniles (HJ) qui sont impliquées sur le développement ovarien (Swevers et Latrou, 1999; Belles & Piulachs, 2015), l'embryogenèse et le développement post embryonnaire (Kozlova et Thummel, 2000) mais aussi la reproduction (Baltaev & Shangaraeva, 2000); et les hormones juvéniles (HJ) qui déterminent la nature de la mue (Riddiford, 1994, 1996; Gilbert *et al.*, 1997, 2002).

Les glandes prothoraciques source majeure d'ecdystéroïdes synthétisent et sécrètent deux types de hormones: l'ecdysone (E) et la 20-hydroxecdysone (20E) (Warren, 1988; Koolman, 1990) au niveau des tissus périphériques tel que le corps gras et les tubes de Malpighi (Gade *et al.*, 1997). Après la dernière mue larvaire ou pendant le stade adulte, la glande dégénère chez beaucoup d'espèces (Srivastova, 1970; Glitho *et al.*, 1979; Aribi, 1997). La production des ecdystéroïdes est assurée par d'autres sources alternatives comme l'épithélium folliculaire ovarien (Brown *et al.*, 2009; Tu *et al.*, 2002), les testicules (Loeb *et al.*, 1982; 1984), les sternites, les oenocytes (Aribi, 1997; Delbeque *et al.*, 1990; Spindler *et al.*, 1991; Kelly *et al.*, 1992; Asahina *et al.*, 1994) et l'épiderme (Soltani *et al.*, 1997).

L'hormone juvénile (HJ) est un sesquiterpène qui contrôle d'important processus physiologiques (Koolman, 1990; Rees, 1995; Gäde, 1997) incluant la reproduction (Nijhout, 1994; McNeils *et al.*, 1996), la vitellogénèse (Bellés *et al.*, 2000; Martin *et al.*, 1995), la diapause (Oberlander *et al.*, 1995; Tatar *et al.*, 2001), le polymorphisme et la production des phéromones (Strambi *et al.*, 1997). La synthèse de l'HJ s'effectue au niveau des corps allates (Riddiford 1994; Yin, 1994; Ho *et al.*, 1995; Kou et Tu 1998; Kou et chen, 2000).

Pour contrôler ces populations d'insectes nuisibles, l'homme n'a cessé de déployer des efforts considérables dans la recherche de nouvelles méthodes de lutte: physique, biologique ou encore chimique. L'utilisation des pièges à glue est un moyen de lutte physique (Appel, 2000; Kim *et al.*, 1995; Lyon, 1997). La lutte biologique consiste à détruire les insectes nuisibles par l'utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels (Lacey et Orr, 1994) et enfin, des méthodes de lutte chimiques utilisant différents types d'insecticides souvent très toxiques pour l'homme, possédant chacun des caractéristiques physiques et chimiques propres car le taux de toxicité, la dégradation, la biotransformation ou l'accumulation varient d'un insecticide à un autre (Strong *et al.*, 2000). Les pesticides appelés conventionnels se classent en fonction de leur structure chimique ou de leur origine sont les organochlorés, les

organophosphorés, les pyréthrinoides et les carbamates (Schal et Hamilton, 1990; Strong et *al.*, 2000). Les organochlorés et les pyréthrinoides sont des modulateurs des canaux sodium et dépresseurs des systèmes nerveux endocrinien et immunitaire (Fulton et Key, 2001); les organophosphorés et les carbamates, inhibiteurs de l'acétylcholinestérase (AChE), agissent sur les liens synaptiques du système nerveux, sont peu persistants mais pas très sélectifs (Fulton et Key, 2001).

L'application prolongée et répétée de ces insecticides conventionnels, leur non spécificité ainsi que leur forte rémanence ont provoquée, non seulement, des altérations de l'environnement (Wang *et al.*, 2004; Sawczyn *et al.*, 2012) mais aussi des perturbations au niveau de plusieurs systèmes physiologiques (croissance, reproduction et métabolisme) chez les organismes non visés (Gagné *et al.*, 1999), en effet diverses classes comme les Insectes, Crustacés, Poissons et Mammifères sont touchées. Similairement chez l'homme les effets toxiques indésirables se traduisent par des phénomènes cancérigènes (El sayed et Donelson, 1997 ; Ishaaya et Horowitz, 1998). L'utilisation non raisonnée de ces molécules a conduit également à l'apparition de phénomènes de résistance (Valles *et al.*, 2000 ; Fulton et Key, 2001 ; Yu *et al.*, 2003 ; wang *et al.*, 2004; Kristensen *et al.*, 2005; Ahmed *et al.*, 2007; Swanton *et al.*, 2011). Cette résistance se traduit par des modifications physiologiques, biochimiques et comportementales (Cochran, 1990; 1991 ; Sharf *et al.*, 1997 ; Saito et Hama, 2000; Nasirian *et al.*, 2010; Chain & Lee, 2010; Zhang *et al.*, 2014).

La recherche a développé des insecticides chimiques moins toxiques et plus spécifiques, basés sur des données physiologiques de l'insecte comme les phéromones (Hauptman *et al.*, 1986) ou les régulateurs de croissance dénommés Insect Growth Régulator (IGRs); ces molécules agissent sur des processus physiologiques et biochimiques spécifiques chez les organismes visés (Dhadialla *et al.*, 2005) soit par le biais des deux principales hormones du développement (hormone juvénile et ecdystéroïdes) ou encore par le biais de la synthèse de la chitine, composé majeur de la cuticule (Gäde *et al.*, 1997; Tsuzuki *et al.*, 2001; Malausa *et al.*, 2006 ; Takahashi *et al.*, 2002). En fonction du mode d'action, ces molécules spécifiques et non polluantes (Dhadialla *et al.*, 2005) sont réparties en trois groupes: qui sont les agonistes et antagonistes de l'hormone juvénile (Gäde *et al.*, 1997 ; Aribi *et al.*, 2006), les inhibiteurs de la synthèse de la chitine (Wattiez et Beys, 1999; Soltani *et al.*, 1999) et les agonistes et antagonistes de l'hormone de mue (Aribi *et al.*, 1999; Smagghe *et al.*, 1999 ; 2000; Soltani *et al.*, 2002; Taibi *et al.*, 2003; Kilani-Morakchi *et al.*, 2009). Par ailleurs, les insecticides inorganiques qui sont connu depuis fort longtemps comme non polluants retrouvent aussi un

regain d'intérêt comme l'acide borique, l'azadiractine (Rust *et al.*, 1995; Habes *et al.*, 2006; 2013; Kilani-Morakchi *et al.*, 2009; 2014). le développement de la biotechnologie ont donné naissance aux insecticides d'origine naturelle comme les néonicotinoïdes, l'azadiractine et le spinosad. Par ailleurs, l'industrie pharmaceutique et agroalimentaire a pu mettre au point des molécules synthétiques mais non polluantes comme l'indoxacarbe.

L'indoxacarbe est le premier membre de la nouvelle famille des oxadiazines, est un insecticide synthétique non-systémique, possèdent une activité à large spectre (Allen *et al.*, 1999; Moncada *et al.*, 1991). Cet insecticide a une activité contre les lépidoptères, ainsi que certains homoptères et coléoptères nuisibles (Harder *et al.*, 1996; Wing *et al.*, 2000). L'indoxacarbe bloque les canaux de sodium dans les cellules nerveuses des insectes provoquant l'arrêt de la nourriture des larves des lépidoptères menant à la paralysie puis la mort (Wing *et al.*, 2000; Mc Cann *et al.*, 2001; Lahm *et al.*, 2001). En outre, on révèle une toxicité sélective contre les insectes nuisibles tels que: *Heliothissp*, *Helicoverpasp*, *Spodoptera*, *Plutellasp*, *Trichoplusiasp* (lépidoptères); *Lygussp*, *Empoascasp* (hémiptères) (Wing *et al.*, 2000) et aussi le doryphore *L. decemlineata* (Harder *et al.*, 1997; Hammes *et al.*, 1998), cet nouvel insecticide non polluant est très efficace a un faible effet secondaire sur les insectes non ciblés (Harder *et al.*, 1996, Michand *et al.*, 2003; Dinter et Wiles, 2000; Gondhalekar *et al.*, 2011; Mahmoudvand *et al.*, 2011). Plusieurs travaux antérieurs ont montré que l'indoxacarbe est très actifs contre les insectes résistants aux carbamates, organophosphorés et pyréthrinoides (McCann *et al.*, 2001; Chai et Lee, 2010). Il présente l'originalité d'être bioactive par le système enzymatique des insectes. Cette réaction correspond à la substitution du groupe ester de méthyle par un hydrogène (Wing et coll, 1998; 2000).

Dans le cadre de la présente étude l'indoxacarbe molécule à risque réduit dans un programme lié au développement durable, a été testé par ingestion à l'égard des adultes de *B. germanica*, espèce très répandue a un fort potentiel reproducteur et développe une résistance très importante aux conditions extrêmes et constitue un intérêt médical représente un modèle biologique de choix. Les effets de cet insecticide ont été évalué sur:

1/ La toxicité de l'indoxacarbe chez les adultes du *B. germanica* nouvellement exuvie et détermination des doses sublétales (DL₃₀), cette partie fait l'objet du premier chapitre.

Le deuxième chapitre traitera la reproduction en examinant l'impact de l'indoxacarbe (DL₃₀) sur plusieurs aspects:

- 1/ La biométrie des ovaires chez les adultes femelles de *B. germanica*.
- 2/ Constituants biochimiques des gonades (Protéines, Glucides, Lipides) chez les deux sexes des adultes de *B. germanica*.
- 3/ Effet de l'indoxacarbe sur les vitellines et les vitellogénines chez les adultes femelles du *B. germanica*.
- 4/ Etude histologique des ovaires des adultes femelles du *B. germanica* (Épaisseur de l'épithélium folliculaire).

2. Matériel et Méthodes

2. 1. Taxonomie

Les appellations « grelous, bakhouches », blattes, cafards et cancrelats de l'ordre des Dictyoptères et de la famille des Blattellidae (Guillaumin *et al.*, 1969), est une espèce grégaire, cosmopolite et de petite taille (10 à 15mm de longueur). Leur origine remonte à 400 millions d'années et les formes fossiles sont assez comparables aux espèces actuelles (Koehlen & Patterson, 1987).

La position systématique est la suivante:

- **Embranchement:** Arthropoda
- **Sous- embranchement:** Mandibulata
- **Classe:** Insecta
- **Sous- classe:**Pterygota
- **Section:** Polyneopetra
- **Super- ordre:** Orthoteroidae
- **Ordre:** Dictyoptera
- **Sous- ordre:** Blattaria
- **Super- famille:** Blaberoidae
- **Famille:** Blattellidae
- **Sous- famille:**Blattellinae
- **Genre:***Blattella* [Codel, 1963).
- **Espèce:** *germanica* (Linnaeus, 1767).

2. 2. Présentation de l'insecte :

B. germanica (Linnaeus, 1767) de l'ordre des Dictyoptères et de famille des Blattellidae (Guillaumin et al., 1969), est une espèce domestique prédominante (Miler & Kochle, 2003), cosmopolite (Gordon, 1996), nocturne, ovipare à développement hétérométabole (Guillaumin et al., 1969). Le corps des adultes est mou aplati dorso-ventrale mesurant 11 à 12 mm de longueur avec une tête qui porte de longues et fines antennes (Gordon, 1996), un thorax et un abdomen bien visible. Les pièces buccales sont du type broyeur « classique », en position hypognathe (orienté vers le bas). Les pattes sont longues et épineuses et munies de coxae larges et aplaties, bien adaptées à la course (vitesse de 130 cm par seconde). *B. germanica* peut facilement grimper sur des surfaces verticales rugueuses ou polies (Wigglesworth, 1972); (Bell et al., 2007). Sa couleur varie de brun pâle à noire; le pronotum porte deux bandes longitudinales de couleur noire. Les Adultes femelles de cette espèce sont de couleur plus sombre et possèdent un corps trapu et robuste avec un abdomen arrondi complètement recouvert par les ailes, alors que les mâles présentent un corps mince, un abdomen effilé et un pygidium non recouvert par les ailes laissant visible le segment terminal de l'abdomen (Rust et al., 1995). Les larves ressemblent aux adultes à l'exception des ailes absentes. Les blattes copulent en opposition. L'appareil copulateur mâle est asymétrique et très compliqué (Fig. 1)

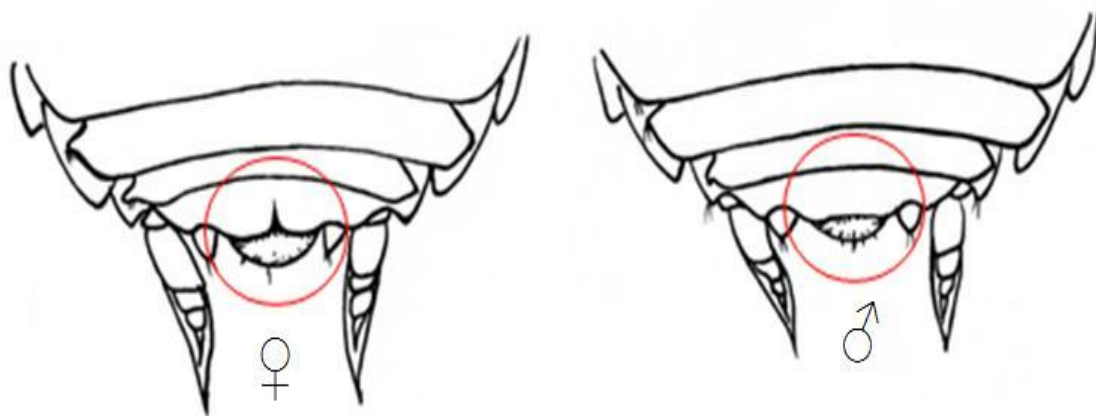


Figure 1. Plaques sous-génitales des femelles et des mâles de *B. germanica* (face ventrale de l'abdomen). (Faune de france56)

2. 2. 1. Cycle biologique de *B. germanica*

La femelle, dont la longévité est de 158 jours (Cornwell, 1968), produit généralement entre 6 à 8 oothèques, chaque oothèque de 8 mm de long contient 36 à 48 œufs, sont déposées près d'une source de nourriture peu avant l'éclosion (Tanaka, 1976 ; Gordon, 1996). Le temps d'incubation des œufs dépend des conditions extérieures. Dans les conditions de température les plus favorables (30°C environ) la durée de l'évolution embryonnaire est d'environ 17 jours pour donner des larves mous, de couleur blanchâtre après tannage de la cuticule en quelques heures, prennent une couleur brunâtre (Fig. 2 et 3). Les Larves du dernier stade subissent alors une mue imaginale donnant l'adulte en une centaine de jours (Cornwell, 1968; Wattiez et Beys, 1999). La durée du développement du dernier stade larvaire est de 41 jours chez la femelle et de 40 jours chez le mâle.

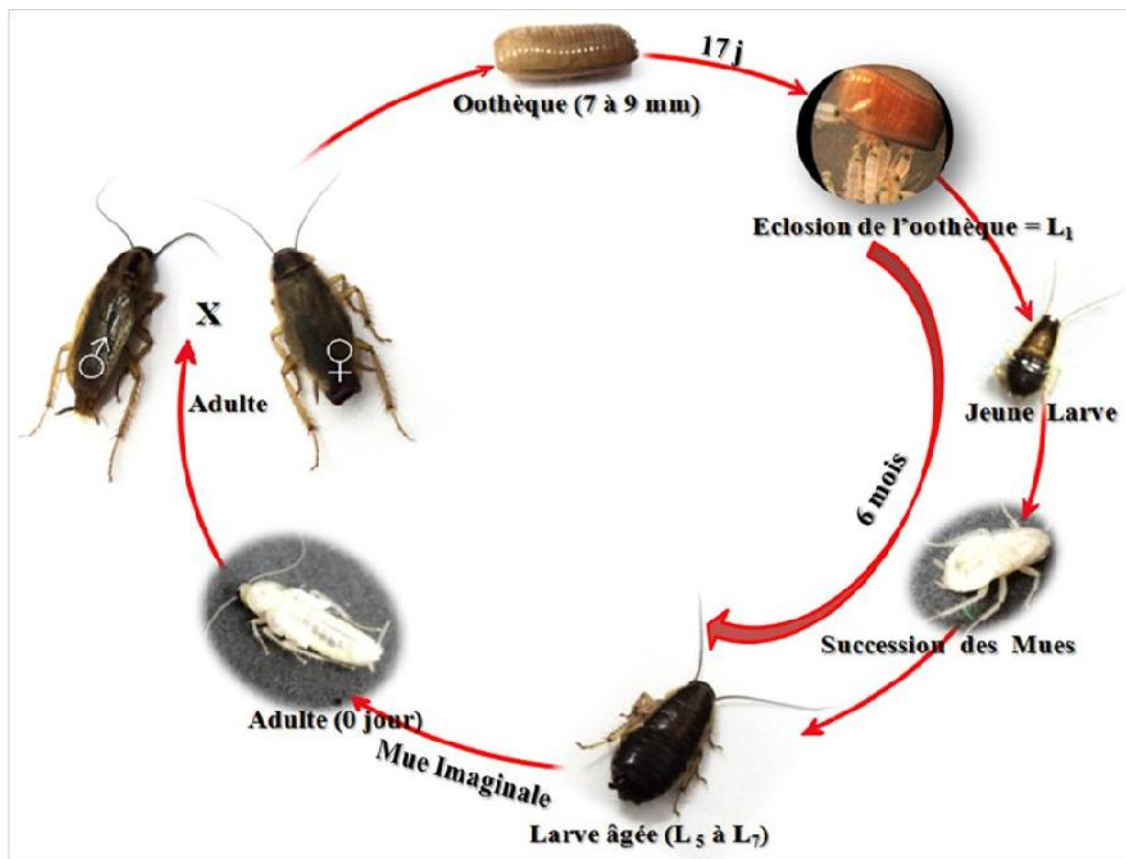


Figure2: Cycle biologique de *Blattella germanica* à T= 30°C (Cornwell, 1968).

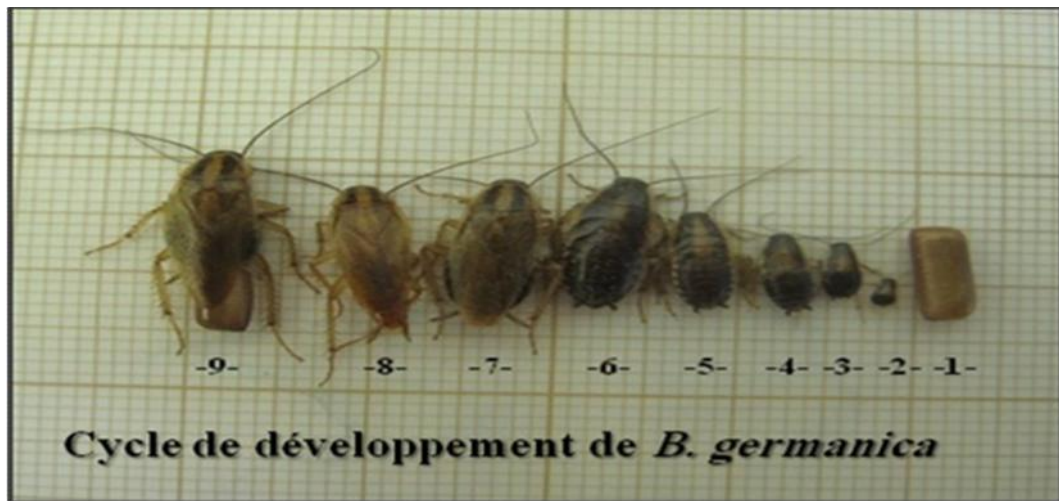


Figure 3: Morphologie des différents stades de *Blattella germanica* (X 6,8) (d'après Hutchinson, 1999) (1: Oothèque, 2 à 6: Stades Larvaires, 7: Femelle adulte, 8: Mâle Adulte).

Le stade œuf : Il commence à la fertilisation des œufs et se termine à l'éclosion. Les œufs sont réunis dans une capsule de consistance cornée appelée oothèque qui se forme et arrive à faire saillie à l'extérieur pendant la ponte (Tanaka, 1976). De forme et de taille variable, l'oothèque possède sur la face dorsale une crête denticulée au niveau de laquelle se fera l'éclosion. Les œufs sont disposés verticalement de chaque côté d'une cloison médiane qui divise l'oothèque dans le sens de la longueur (Tanaka, 1976) (Fig.3 (1)).

Le stade larvaire : la femelle dépose l'oothèque, peu avant l'éclosion et des larves vermiformes en sortent. Les principaux changements du développement larvaire s'effectuent au niveau de la taille et la pigmentation; les larves de dernier stade ressemblent aux adultes mais sont aptères (Rust *et al.*, 1995 ; Elie, 1998) (Fig. 3(1-6)).

Le stade adulte: commence à la mue imaginale (adulte 0 jour). L'adulte possède alors 2 paires d'ailes, des antennes longues et filiformes, des pattes robustes et épineuses permettant une course rapide et des pièces buccales broyeuses (Wigglesworth, 1972). Les adultes mâles possèdent un corps mince, à abdomen effilé et un pygidium non recouvert par les ailes; les femelles de couleur plus sombre présentent un corps trapu et robuste avec un abdomen arrondi recouvert par les ailes (Rust *et al.*, 1995) (Fig. 3 (7-9)).

2.3. Elevage des Blattes :

Des prélèvements ont été réalisés à l'hôpital Ibn Rochd au niveau de la résidence universitaire 2000 Chaiba (Annaba), ainsi que dans différentes maisons et dans certains fast-foods et boulangeries. La capture des blattes a été réalisée manuellement, elle a été faite en plaçant des pièges dans les coins là où les blattes sont généralement les plus abondantes. Les pièges sont, soit des bouteilles en plastique dans lesquelles on met des attractifs alimentaires (pommes, des biscuits ou des morceaux de pain), soit des cartons pliés sous lesquels les blattes s'abritent (Fig. 4). Les pièges sont récoltés une fois par semaine.



Figure 4: Les pièges utilisés pour la capture des blattes en milieu urbain (photo Personnelle).

L'élevage au laboratoire s'effectue dans des boîtes en plastique aérées contenant des emballages alvéolés d'œufs qui servent d'abris. Les Blattes sont nourries de biscuits pour chien, dont la composition est la suivante : protéines brutes 22% ; matière grasses brutes 10% ; vitamines A/6000UI et E = 60mg ; cuivre 20ppm ; fer 145ppm ; manganèse 50ppm ; Zink 120ppm ; conservateur: E 202 et antioxydants: E310, E320. Elles sont abreuvées du coton imbibé d'eau. L'élevage est maintenu à une température de 25 à 28°C, une hygrométrie de 70 à 80% et une photopériode de 12 heures de lumière (Fig. 5).

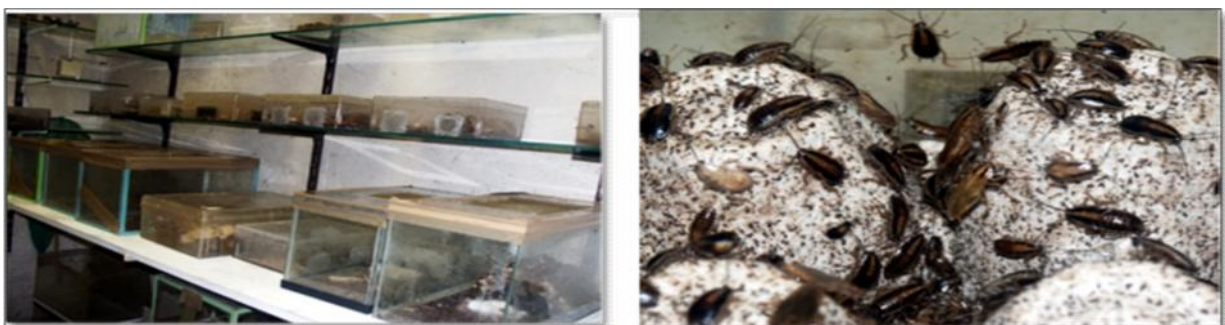


Figure 5 : Elevage en laboratoire de *B. germanica* (photo personnelle).

2. 4. Présentation de l'insecticide:

2. 4. 1. Indoxacarbe :

Indoxacarbe, nouvel insecticide a été découverte en Californie, en 2001, c'est une substance active (Steward) appartient à la famille des oxadiazines et possède une structure chimique originale. La formule moléculaire est $C_{22}H_{17}ClF_3N_3O_7$ (Fig. 6). La formulation Commerciale (DuPont, Wilmington, USA) utilisée est à 30% WG de matière active (WG: granules dispersibles dans l'eau) (Tableau.1).

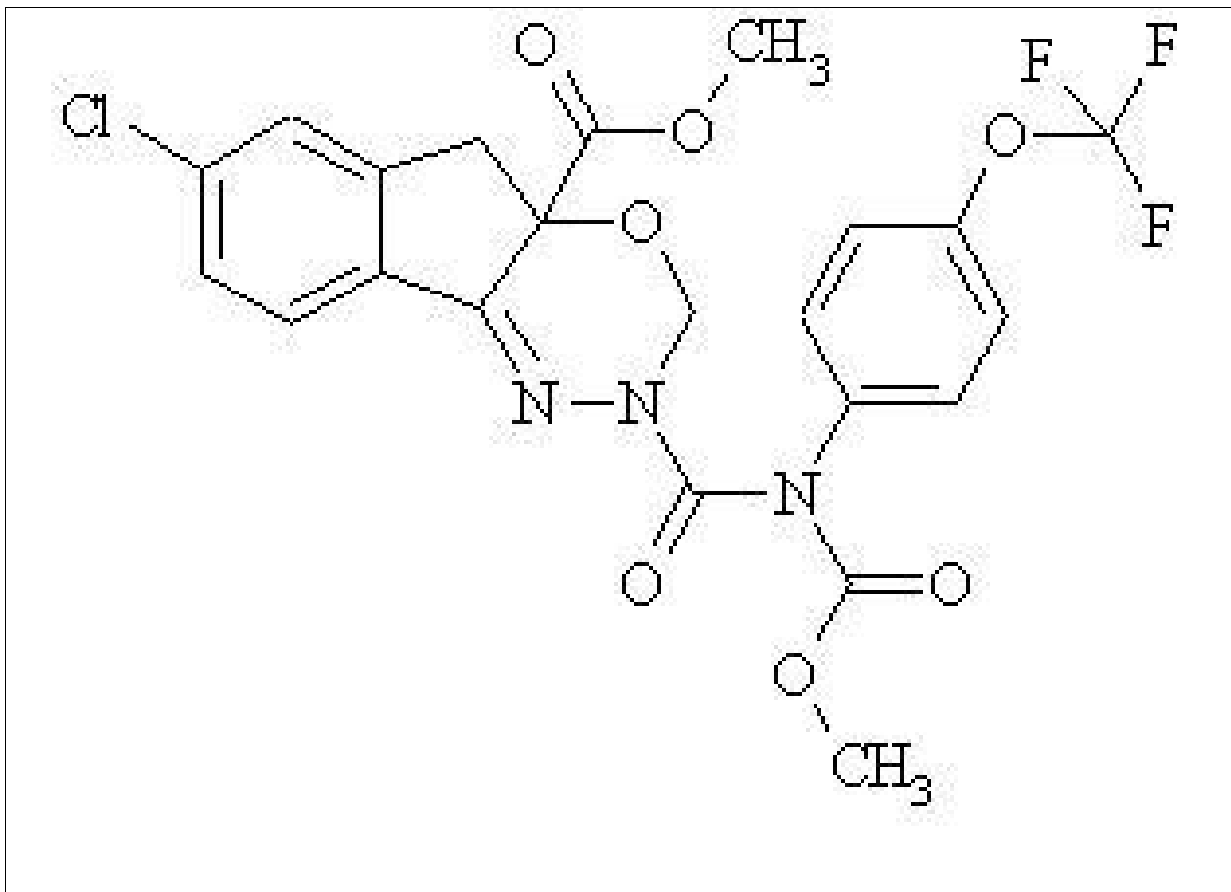


Figure 6. Structure chimique de l'indoxacarbe.

Tableau 1: Propriétés physico-chimiques de l'indoxacarbe (Brugger, 1997).

Propriétés	Indoxacarbe
Formule chimique	Methyl (S) -7- chloro - 2,5- dihydro -2 - [(methoxycarbonyl) -[4-trifluoromethoxyphenyl) amino] carbonyl] – indeno [1,2-e] [1, 3, 4] oxadiazine- 4a (3H) – carboxylate
Formule moléculaire	C ₂₂ H ₁₇ ClF ₃ N ₃ O ₇
Poids moléculaire	527,83 g mol ⁻¹
Point de fusion	88,1 °C
Aspect	poudre grisâtre
Solubilité dans l'eau	0,2 mg/L à 25° C ; pH 7.0
Solubilité dans les solvants organiques	acetateethyl : 160 g/l acetone : >250 g/l
Pression de vapeur	< 1,0 X 10 ⁻⁷ mmHg (25°)
Classement toxicologique	L'indoxacarbe est Toxique et nocif en cas d'ingestion

2. 4. 1. 1. Etude toxicologique :

L'objectif de cette étude consiste à déterminer la dose sublétales (DL₃₀) de l'indoxacarbe à l'égard des adultes nouvellement exuvies de *B. germanica*.

L'indoxacarbe, administré par ingestion sous forme d'un mélange (biscuit / insecticide) à des doses croissantes {0,125% ; 0,25% ; 0,5% ; 0,75% ; 1% et 2 % (poids /poids)}. L'essai pour chaque dose est conduit en utilisant 3 répétitions qui comportent chacune 13 adultes nouvellement exuvies, une série témoin est conduite en parallèle et les individus reçoivent uniquement le biscuit de chien.

Mortalité observée

Le pourcentage de mortalité observée chez les séries témoins et les séries traitées est déterminé selon la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée} = \frac{\text{Nombre des blattes mort après traitement}}{\text{Nombre totale de Blattes traités}} \times 100$$

Mortalité corrigée

Le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle.

$$\text{Mortalité corrigée} = \frac{\text{Mortalité observée chez les traités} - \text{mortalité observée chez les témoins}}{100 - \text{mortalité observée chez les témoins}} \times 100$$

Le pourcentage de mortalité corrigée des individus subissent une transformation angulaire selon Bliss (1938), cités par Fisher et Yates (1957). La détermination de la dose sub létale a été déterminée par un logiciel graph pad prisme 5. Les DL_{30} , DL_{50} et DL_{90} avec leur limites de confiances 95s% (95% LC) et le Hillslope font l'objet d'une analyse de la variance à un seul critère de classification qui permet le classement des doses par le test HSD de tukey, afin d'évaluer l'effet de l'indoxacarbe.

2. 4. 1. 2. Traitement des insectes et bio essai

L'indoxacarbe a été administré par ingestion à une dose subléthale DL_{30} (0,127%) sous forme d'un mélange (biscuit/ indoxacarbe) aux adultes de *B. germanica* nouvellement exuvie (0 jours). Les témoins reçoivent uniquement biscuit. (Fig.7).



Figure 7: Ingestion de l'indoxacarbe au adulte nouvellement exuvie de *B. g* (photo personnelle).

2. 5. Dissection et Prélèvement des ovaires

Les femelles adultes des séries témoins et traités sont échantillonnées à différents âges (0, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 jours) au cours de premier cycle gonadotrophique

Les adultes sont disséqués sous une loupe binoculaire (Zeiss), fixés ventralement sur une boîte de paraffine, les pattes et les ailes sont sectionnées et le tégument de l'abdomen est incisé avec des micros ciseaux afin de récupérer les ovaires au cours de la maturité sexuelle après l'exuviation adulte (Fig. 8). Les ovaires prélevés ont été pesés à l'aide d'une balance de précision (Model GD-503-NTEP, Sartorius, Goettingen Germany). Puis déposés dans une solution tampon et conservés au froid (-20°C) jusqu'au dosage.

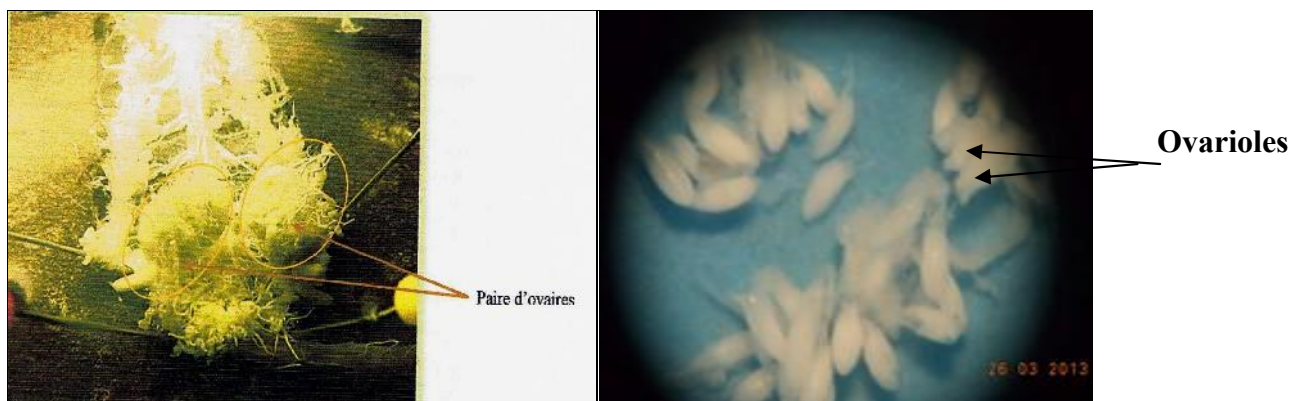


Figure 8 : Dissection, prélèvement des ovaires de *B. germanica* (photos personnelle).

2. 6. Morphométrie des ovaires

Après le prélèvement des ovaires des séries témoins et traitées, différents paramètres morphométriques ont été considérés comme, le nombre d'ovocytes par paire d'ovaire mais aussi la longueur (L), la largeur (l) et le volume de l'ovocyte basal. Les différentes mesures ont été déterminées à l'aide d'un micromètre oculaire préalablement étalonné.

Le volume (V) exprimé en mm³ est obtenu grâce à la formule de Lambreas *et al.* (1991):

$$\text{Volume} = 4\pi / 3 (\text{Longueur}/2) (\text{largeur}/2)^2$$

2. 7. Analyses biochimiques chez les deux sexes :

2. 7. 1. Extraction et dosage des vitellines et vitellogénines

Les adultes femelles de *B. germanica* des séries témoins et traitées sont disséquées à différents âges (0, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 jours) au cours de premier cycle gonadotrophique sous une loupe binoculaire. Le prélèvement biologique (ovaires et corps gras) préalablement pesé, est ensuite déposé dans un tampon (Tris- Hcl- Nacl) permettant l'extraction des vitellines et vitellogénines. La conservation se fait à -20C° jusqu'au dosage.

2. 7. 1. 1. Technique d'extraction

L'extraction des vitellines et vitellogénines s'effectue selon la méthode de Descamps, 1996 in Fabre *et al.*, 1990 (Fig. 9). Après homogénéisation et centrifugation on obtient 3 couches distincts, une couche surnageant qui représente les lipides, un culot contenant des glycoprotéines et une couche intermédiaire renfermant les vitellines et les vitellogénines. Les échantillons sont extraits dans une solution mère de tris-Hcl, qui consiste à diluer 3,02 g de tris (0,5 M) dans 300 ml d'eau distillée, puis ajuster cette solution à un pH de 7,4 avec de l'Hcl concentré et la compléter à 500 ml d'eau distillée.

Pour réaliser le tampon final: diluer 2,9 g de Nacl (0,5 M) dans 10 ml de la solution mère de Tris-Hcl compléter à 100 ml d'eau distillée.

2. 7. 1. 2. Dosage des vitellines et vitellogénines

Le dosage des vitellines utilise le bleu brillant de coomassie (BBC) comme un réactif. La solution de BBC se prépare comme suit: dissoudre 50 mg de BBC dans 25 ml d'éthanol 95°. Après une agitation de 2 heures, on ajoute 50 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 500 ml avec de l'eau distillée.

Le dosage est réalisé comme suit:

Prendre 100 µl de la couche intermédiaire obtenue après centrifugation, y additionner 4 ml de BBC, bien agiter puis passer à la lecture des densités optiques au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme. Les résultats sont exprimés en µg/mg d'ovaire. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) titrant 1 mg/ ml (Tableau. 2)

Tableau 2: Dosage de vitellines: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Quantité de la 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

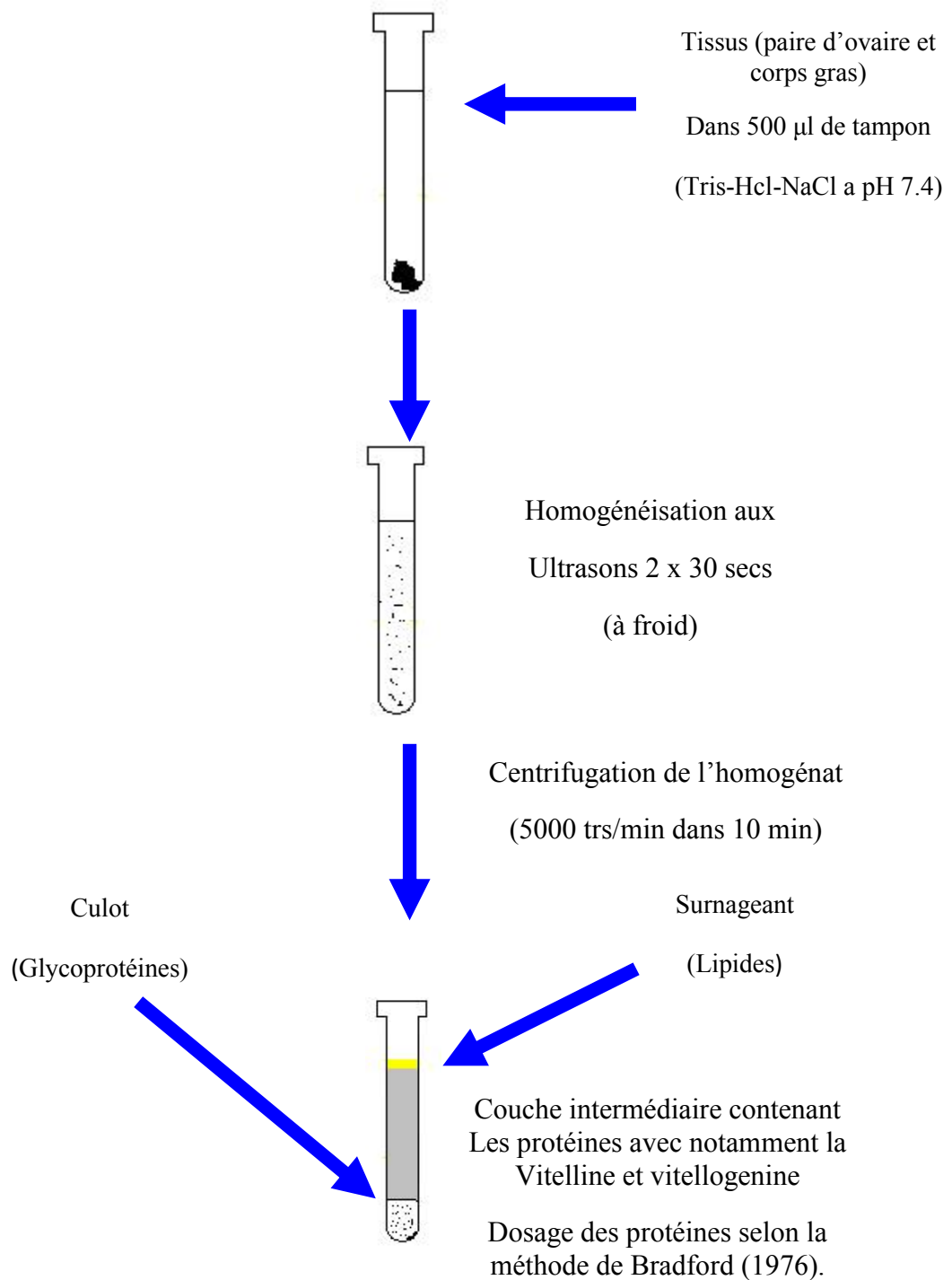


Figure 9. Extraction de vitellines (adaptée aux Centipèdes par Descamps, 1996 à partir de Fabre *et al.*, 1990).

2. 7. 2. Extraction des métabolites

L'extraction des métabolites des gonades a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.*, 1966 (Fig. 10).

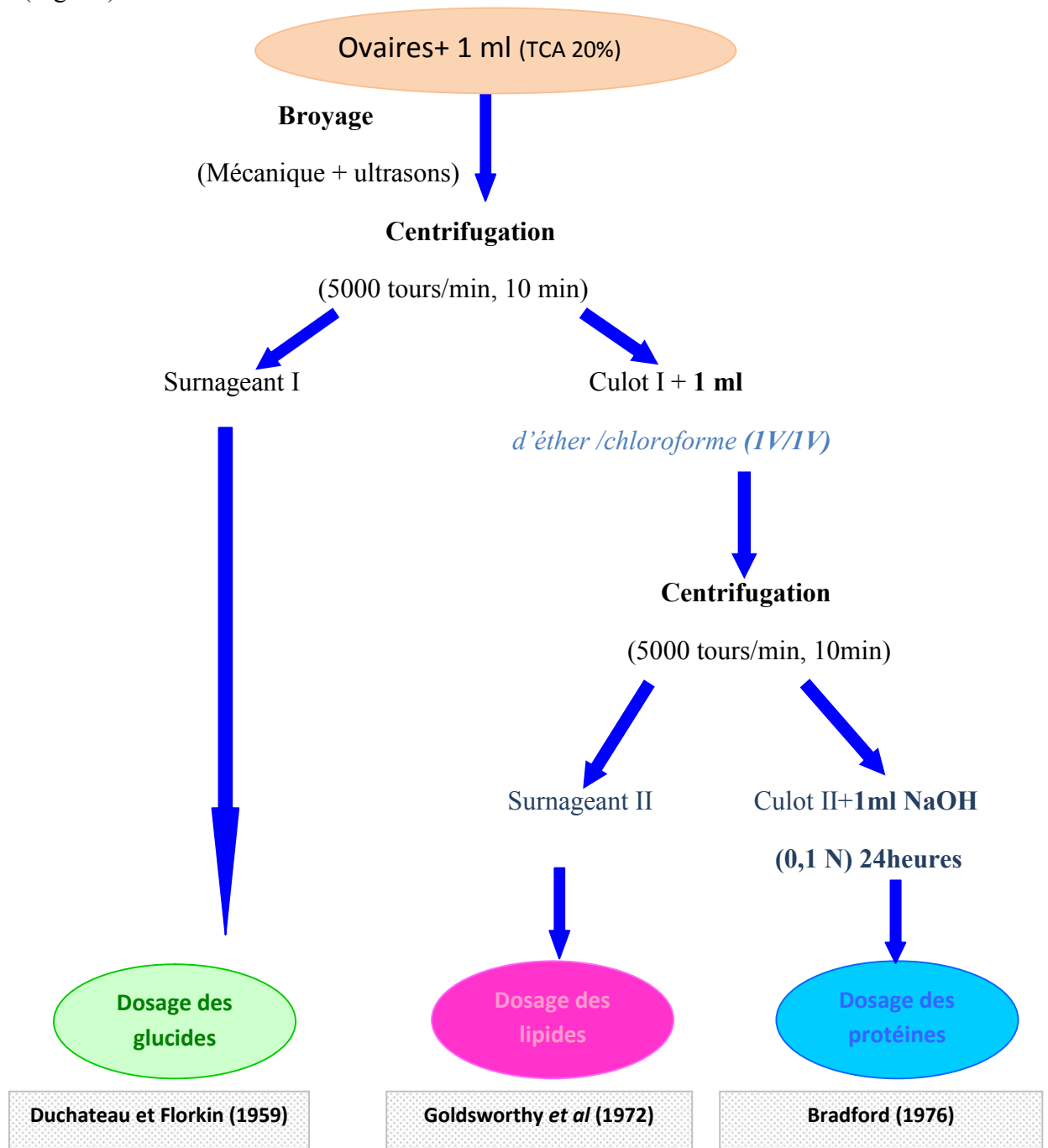


Figure 10: Principales étapes d'extraction des métabolites: protéines, glucides, lipides selon Shibko *et al.*, 1966).

2. 7. 2. 1. Dosage des glucides

Le dosage de glucides totaux a été effectué selon Duchâteau et Florquin (1959). Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (150 mg d'anthrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose (1g/l) comme standard (Tableau. 3).

Tableau 3: Dosage de glucides totaux: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Quantité de la solution mère de Glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Quantité d'eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

La méthode consiste à additionner à une fraction aliquote de 100 µl de surnageant, 4 ml de réactif d'anthrone et après chauffage du mélange dans un bain marie (80°C pendant 10 min) une coloration verte se développe, dont l'intensité mesurée à une longueur d'onde de 620 nm est proportionnelle à la concentration des glucides présente dans l'échantillon.

2. 7. 2. 2. Dosage des protéines

La quantification des protéines s'effectue selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de coomassie G 250 (BBC) comme réactif et l'albumine de sérum de bœuf (B.S.A) comme standard (Merk). La gamme d'étalonnage (Tableau. 4) a été réalisée à partir d'une solution mère de B.S.A (1 mg/ml). Le bleu brillant de coomassie G 250 (conservation environ 21 jours à 4°C) se prépare comme suit :

- 100 mg de BBC + 50 ml d'éthanol] Agitation pendant deux heures
- 100 ml d'acide orthophosphorique sont alors ajoutés et le tout est complété à 1000 ml avec de l'eau distillée.

Le dosage des protéines ovariennes a été effectué dans une fraction aliquote (100 µl). Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme.

Tableau 4: Dosage des protéines ovariennes: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
B.S.A. (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

2. 7. 2. 3. Dosage de lipides

La concentration de lipides totaux a été estimée selon Glodsworthy *et al.*, 1972 utilisant le réactif sulfophosphov anillinique (0,38 g de vanilline, 55 ml d'eau distillée et 195 ml d'acide ortho phosphorique à 85 %). La solution mère des lipides est préparée en utilisant l'huile de table (Cevital) selon la procédure suivante: 25 mg d'huile de table pesés dans un tube eppendorf; cette quantité est ensuite reprise dans 10 ml du mélange (éther / chloroforme) (V/V) (Tableau. 5).

Tableau 5: Dosage de lipides totaux: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Quantité de la solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant Ether/Chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif de vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

Après évaporation des prises aliquotes de 100 µl de surnagent II dans un bain à sec à 40°C, on additionne 1 ml d'acide sulfurique concentré (96%), les tubes fermés sont agités et chauffés dans un bain à sec à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, on prélève 200 µl de chaque tube auxquels on ajoute 2,5 ml de réactif sulfo phosphovanillinique et on

agite. Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose. La densité optique est lue dans un spectrophotomètre (Jenway 6300) à une longueur d'onde de 530 nm.

La quantification des différents constituants biochimiques (vitellines, vitellogénine, protéines, glucides et lipides) a été déterminée à partir de l'équation de la droite de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de la solution mère exprimée en μg .

2. 8. Etude histologique des ovaires

Le protocole histologique est réalisé selon Martoja et Martoja (1967)

- **Fixation:** les ovaires de *B. germanica* nouvellement exuvies 0, 2, 4 et 6 jours est placé dans une cassette d'histologie, et conservé dans un fixateur d'histologie le liquide de Bouin alcoolique durant 48 heures. (Voir formule ci-dessous).
- **Pré inclusion:** Les échantillons ont ensuite été déshydratés dans deux bains successifs d'éthanol et trois bains de butanol, pour finalement être imprégné dans la paraffine, quatre bains de 24h ont été effectués.
- **Inclusion:** Les tissus imprégnés de paraffine doivent ensuite être inclus dans un bloc de paraffine, que l'on moulera autour des tissus sur le banc d'inclusion. Le socle du moule est constitué par la cassette d'histologie annotée afin de conserver la référence de l'individu. Une fois solidifié, le bloc de paraffine est débité en prisme autour du fragment de tissus.
- **Réalisation des coupes:** Les blocs de paraffine contenant les tissus sont coupés à l'aide d'un microtome. Ils sont d'abord dégrossis jusqu'à ce que la coupe passe par la totalité de la section de masse viscérale, puis coupés à 3 μm d'épaisseur, les coupes sont déposées sur une lame de microscope. Les coupes sont ensuite étalées à l'aide d'une plaque chauffante à 30°C et séchées à l'étuve de 60°C pendant 1heure
- **Coloration:** Afin d'obtenir une coloration contrastée des tissus reproducteurs, on utilise une coloration hématoxyline-éosine Martel (2005). Les tissus sont déparaffinés par des bains successifs de xylène, puis hydratés dans l'alcool avant d'être plongés dans les colorants, et rincés par des bains d'alcool, puis xylène (voir Tableau. 5).

Tableau 6: Principale étapes de coloration par hématoxyline-éosine selon Martel (2005).

Etapes de coloration (Hématoxyline et éosine)	
Xylène	5 minutes
Xylène	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Rincer à l'eau du robinet	3 minutes
Colorer avec l'hématéine de Harris	15 minutes
Laver les coupes à l'eau du robinet	3 minutes
Bleuir dans l'eau ammoniacale	2 secondes
Laver à l'eau du robinet	15 minutes
Colorer dans une solution d'éosine	15 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Ethanol 100°	5 minutes
Acétone /xylène (v/v)	5 minutes
Xylène	5 minutes
Montage des lames avec baume de canada	

Les observations des préparations histologiques sont faites sous microscope optique LEICA ICC50HD avec un grossissement selon la taille des cellules (G). Le microscope est muni d'une caméra vidéo.

2. 9. Analyse statistique

- Les données sont représentées par la moyenne arithmétique plus au moins l'écart type ($m \pm s$) établie sur un effectif ou un nombre de répétitions précisées dans les tableaux et les figures. Les analyses statistiques ont été réalisées grâce à un logiciel MINITAB (Version 16) disponible au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée.
- Les tests de toxicité ont été effectués à l'aide de logiciel graph pad prisme version 5 pour windows XP. Les résultats obtenus subissent une transformation angulaire. Les DL_{30} , DL_{50} et DL_{90} avec leur limites de confiances 95s% (95% LC) et le Hillslope sont déterminés.

- **Test d'égalité de la variance**

Ce test permet de vérifier l'homogénéité des variances par les tests de Bartlett et Levene; dans le cas de non égalité des variances, une normalisation des données est alors effectuée (Dagnelie, 2009). Les variances sont considérées comme significatives lorsque la significativité présente une probabilité inférieure ou égale à 95% ($p < 0,05$).

- **Analyse univariée**

L'analyse univariée permet d'une part, de comparer deux à deux entre les deux sexes par le test t de Student, en étudiant la morphométrie (nombre d'ovocytes, poids, longueur, largeur, volume) et la réponse des différents paramètres biochimiques (Protéines, Vitellines, Vitellogenines, Glucides, Lipides) et d'autre part d'évaluer les effets: âges, traitement pour chaque sexe. La comparaison consiste à comparer entre les âges et le traitement d'un même sexe pour tous les résultats obtenus par application du modèle linéaire généralisé (GLM) additionné au test HSD (hon est significative différence) de Tukey permettant ainsi de classer les âges selon leur réponse aux différents paramètres étudiés (Hsu, 1996). La comparaison entre les âges et les sexes dans les mêmes séries, deux à deux à l'aide de test t de Student.

1. INTRODUCTION

La toxicité est la mesure de la capacité d'une substance chimique, organique à provoquer des effets néfastes chez l'être vivant. Il existe deux types de toxicité pour toute substance : la toxicité aiguë qui correspond à l'absorption d'une dose massive en une seule prise sur une période maximale de 24h, la toxicité chronique qui correspond à l'absorption de faibles doses à long terme. La toxicité est mesurée par la dose létale DL_{50} qui correspond à la dose susceptible de tuer 50% des animaux. La détermination de la dose sublétales DL_{30} qui correspond à la dose susceptible de tuer 30% des animaux.

Les insectes sont responsables de 90% des infestations dans les milieux environnementaux et agricoles (Elie, 1998). Les insectes nuisibles peuvent être vecteurs d'agents pathogènes (McKay *et al.*, 2013; Menasria *et al.*, 2014; White *et al.*, 2014; Govindarajan & Rajeswary, 2015) et constituent une menace pour les animaux et l'homme. Actuellement, la lutte chimique reste le moyen le plus largement adopté dans le monde pour maintenir ces insectes nuisibles à un seuil raisonnable (Cantrell *et al.*, 2012; Casida & Durkin, 2013). Parmi ces insectes les dictyoptères, telles les blattes, Parmi les 4000 espèces de blattes connues, surtout tropicales, seulement trente sont considérées nuisibles (Wen *et al.*, 2001). Pour contrôler ces insectes, de nombreux insecticides ciblant le système nerveux ont été commercialisés depuis le début des années 50 (Casida, 2009), donc l'homme déploie des efforts considérables et recherche des nouvelles méthodes de lutte biologique, physique et chimique afin de limiter leur prolifération car le taux de toxicité, la dégradation, la biotransformation ou l'accumulation varient d'un insecticide à un autre (Strong *et al.*, 2000). De nombreuses études toxicologiques ont été effectuées au niveau du Laboratoire de Biologie Animale Appliquée afin d'évaluer les effets des différents insecticides sur *Blattella germanica* par contact et par ingestion : les travaux de Maiza *et al.*, 2013 par application topique de l'indoxacarbe et le spinosad ; Tine *et al.*, 2013 par application topique de l'azadiractine ; ceux de Kilani-Morakchi *et al.*, 2009 et de Badi *et al.*, 2014 par l'application topique de halofenozide et tebufenozide. ; de Habes *et al.*, 2013 par ingestion de l'acide borique et enfin ceux de Messiade *et al.*, 2016 par injection de deux molécules l'imidaclopride et l'acide borique.

L'utilisation de ces insecticides a donné de bons résultats durant de nombreuses années, mais ils ont largement contribué à la perturbation de l'environnement par des effets toxiques indésirables pour l'homme et sur les espèces non visées (Ishaaya et Horowitz, 1998; Gagné *et*

al., 1999) ainsi que le coût élevé de l'utilisation de ces insecticides. D'autre part, l'usage intense de ces insecticides a conduit au développement de résistance à grande échelle chez *B. germanica* (Ahmad *et al.*, 2007). Cette résistance chez les insectes est un phénomène qui se développe de façon inquiétante et se traduit par des modifications physiologiques, biochimiques et comportementales (Morse et Brawner, 1986; Cochran, 1990, 1991; Sharf *et al.*, 1997; Nasirian *et al.*, 2010; Chain & Lee, 2010; Zhang *et al.*, 2013).

Il est nécessaire d'utiliser des insecticides plus sélectifs avec de nouveaux modes d'action et un bon profil éco toxicologique préservant l'environnement comme les pesticides naturels (Wing *et al.*, 2000).

L'indoxacarbe, insecticide issue d'une nouvelle famille chimique présente une parfaite sélectivité (Wing *et al.*, 2000), un profil écotoxicologique favorable et une bio-activation à l'intérieur de l'insecte permettant son utilisation dans les programmes de lutte intégrée, l'indoxacarbe a un mode d'action spécifique c'est un inhibiteur des canaux sodium (Wing *et al.*, 1998 ; Lahm *et al.*, 2001) ces canaux ioniques sont impliqués dans la genèse de l'activité électrique (Zhao *et al.*, 2000), les canaux sodique sont des glycoprotéines, situées sur la membrane plasmique des cellules du système nerveux central , Le blocage du transfert des ions inhibe les cellules nerveuses chez les insectes traités, les insectes s'arrêtent rapidement de s'alimenter, ils sont paralysés puis entrent en léthargie avant de mourir (Wing *et al.*, 2005).

Dans le but de mieux comprendre le mécanisme d'action de l'indoxacarbe, une étude est réalisée afin de tester cet insecticide par ingestion chez les adultes de *B. germanica*; et d'évaluer sa toxicité par une estimation de la dose sublétales (DL_{30}) et des doses létales (DL_{50} et DL_{90}).

1. 2. RESULTATS

1. 2. 1. Toxicité de l'indoxacarbe à l'égard des adultes nouvellement exuvie de *B. germanica* et détermination des DL₃₀, DL₅₀ et DL₉₀

1. 2. 1. 1. Après 10jours de traitement :

L'administration de l'indoxacarbe par ingestion aux adultes de *B. germanica* nouvellement exuvies à différentes doses (0,125; 0,25; 0,5; 0,75; 1 et 2 %), provoque des symptômes macroscopiques d'intoxication via l'inhibition de l'activité locomotrice suivie par une paralysie puis la mort des Blattes.

Chez les séries témoins le taux de mortalité observé est nul.

Chez les séries traitées une augmentation de mortalité observé jusqu'à 100 ± 0 % pour la dose la plus élevée (2%). Les mortalités corrigées par la formule d'Abbott (1925) subissent une transformation angulaire (Tableau 8) montre l'effet réel des différentes doses, elles varient de $33,33 \pm 5,77$ % pour la faible dose à 100 ± 0 % pour la dose la plus élevée 2% (Tableau. 7).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification révèle une différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les différentes doses utilisées (Tableau. 10). Le classement des doses par le test de Tukey révèle l'existence de 5 groupes: groupe A renferme les doses (0,125; 0,25%) et les groupes [B, C, D, E] englobe les différentes doses [0,5; 0,75; 1; 2 %] (Fig. 11).

La courbe dose- réponse exprimant les pourcentages de mortalité corrigée en fonction du logarithme de la dose appliquée (Fig.12) a permis l'estimation des valeurs de la DL₅₀ et de la DL₃₀ ainsi que leurs intervalles de confiance et le Hill Slope (Tableau. 9).

Tableau 7: Toxicité de l'indoxacarbe administré par ingestion aux adultes de *B. germanica* nouvellement exuvies: Mortalité corrigée (%) en fonction du temps (10 jours) et des doses(%). ($m \pm s$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 13 individus).

Doses %	0,125	0,25	0,5	0,75	1	2
R1	30	40	50	70	80	100
R2	40	50	70	70	80	100
R3	30	50	80	80	90	100
m \pm s	33,33\pm5,77	46,66\pm5,77	66,66\pm15,27	73,33\pm5,77	83,33\pm5,77	100 \pm 0

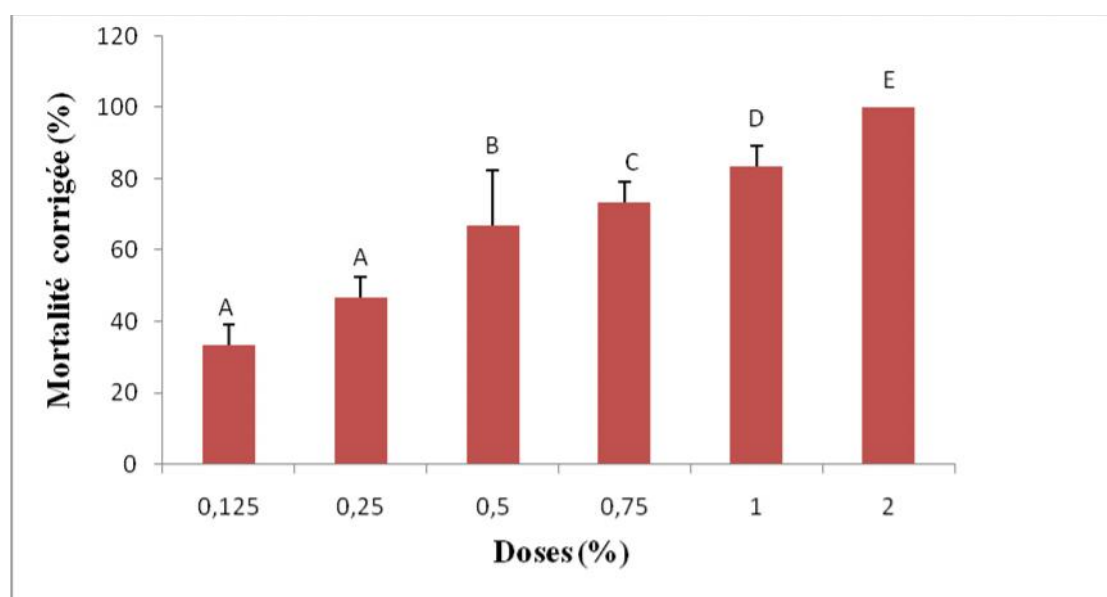


Figure 11. Toxicité de l'indoxacarbe (%) par ingestion dès l'émergence à l'égard des adultes de *B. germanica* après 10 jours de traitement: classement des doses ($m \pm s$; les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes).

Etude toxicologique de l'indoxacarbe

Tableau 8: Transformation Angulaire de la mortalité corrigée aux différentes doses (%) en fonctions du temps (10 jours).

Doses/temps	0,125	0,25	0,5	0,75	1	2
10 jours	33, 21	39, 23	45	56, 79	63, 43	84, 26
	39, 23	45	56, 79	56, 79	63, 43	84, 26
	33, 21	45	63, 43	63, 43	71, 57	84, 26
m ± s	35,21 ± 3,47	43,07 ± 3,33	55,07 ± 3,33	59 ± 3,83	66,14 ± 4,69	84,23 ± 0

Tableau 9: Toxicité de l'indoxacarbe (%) après 10 jours de traitement par ingestion dès l'émergence des adultes de *B. germanica*: détermination de la DL₃₀, DL₅₀ et la DL₉₀ (%) et leur intervalle de confiance (IC à 95 %).

Temps (jours)	Hill Slope	DL ₂₅	DL ₃₀	DL ₅₀	DL ₉₀	R ²
10	1,15	0,10 (0,06-0,13)	0,12 (0,07-0,20)	0,26 (0,19 – 0,35)	1,72 (0,92 – 3,21)	0,96

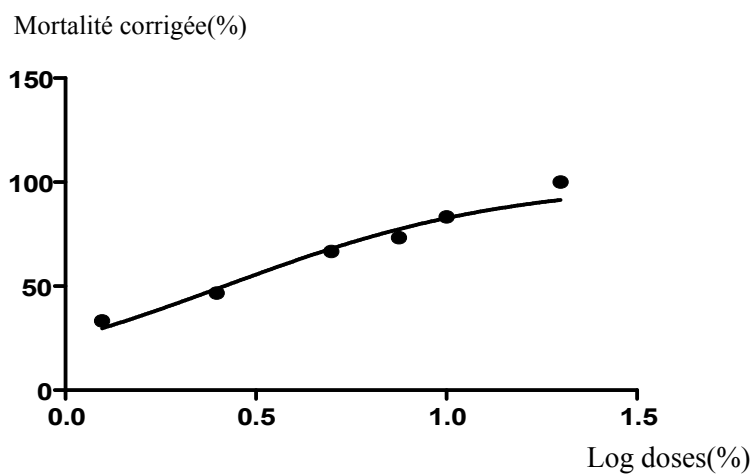


Figure 12: Courbe dose –réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme de la dose de l'indoxacarbe chez les adultes nouvellement exuvies de *B. germanica* après 10 jours de traitement $R^2=0,96$.

$$Y=100/1+10^{(\log EC50-X)*Hill Slope}$$

Tableau 10: Analyse de la variance (Anova) à un seul critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).

Source	DDL	SCE	CM	F _{obs}	P
Dose	5	8827,8	1765,6	28,89	<0,001***
Erreur	12	733,3	61,1	-	-
Total	17	9561,1	-	-	-

*** différence hautement significative (P < 0,001), SCE : somme des carrés des écarts ; ddl : degré de liberté ; CM : carré moyen ; F: F observé ; p : niveau de signification.

1.3. Discussion

1.3.1. Etude Toxicologique de l'indoxacarbe

Du point de vue écologique, l'utilisation des insecticides chimiques contre les insectes nuisibles des milieux agricoles et forestiers sont toxiques et de faible sélectivité mais souvent inefficaces contre plusieurs insectes nuisibles résistants (Metcalf, 1980).

Indoxacarbe présente une toxicité sélective contre les lépidoptères, coléoptères et les homoptères (Wing *et al.*, 2000; Cann *et al.*, 2001) et il présente une faible toxicité chez les mammifères, bloquant les canaux sodium nécessaire pour créer le potentiel électrique responsable de l'influx nerveux dans les deux neurones des insectes et des mammifères (Wing *et al.*, 1998; Lapied *et al.*, 2001; Sugiyama *et al.*, 2001; Zhao *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2011) et de certains récepteurs nicotiniques (Zhao *et al.*, 1999 ; Narahashi, 2002).

Dans notre étude l'administration de l'indoxacarbe par ingestion à la dose subletale DL_{30} le jour d'exuviation des adultes de *B. germanica* entraîne des symptômes classiques macroscopiques de neurotoxicité des insectes tels qu'un manque de coordination, une prostration, des tremblements, menant à la paralysie et perturbation de l'insecte puis la mort. Ces mêmes symptômes ont été observés chez *B. germanica* traitée par différents insecticides tels que l'acide borique (Habes *et al.*, 2006, 2013), l'Halofenozide et Tébufénozide (Kilani-Morakchi *et al.*, 2009, 2014); l'azadirachtine (Tine *et al.*, 2011); le spinosad et l'indoxacarbe (Maiza *et al.*, 2013). ces symptômes sont également observés chez les larves des lépidoptères nocturne après application topique et ingestion de l'indoxacarbe (Wing *et al.*, 1998; 2000; Nehare *et al.*, 2010; Wang *et al.*, 2014). Smagghe *et al* (1996) ont constaté que l'application de tébufénozide par injection chez les nymphes de *Blattella orientalis* manifeste une neurotoxicité se traduisant par des troubles de l'activité locomotrice.

L'indoxacarbe administré par ingestion aux adultes de *B. germanica* nouvellement exuvie montre une faible activité insecticide. Les doses DL_{30} , DL_{50} et DL_{90} calculées à 10 jours sont respectivement de 0,127%, 0,262% et 1,720% avec un slope de 1,151 respectivement.

La DL_{50} de l'indoxacarbe par application topique chez *B. germanica* est de 51 ng/blatte correspondant à une CL_{50} de 17 ppm et la DL_{50} par ingestion est de 0,262% ($DL_{50} = 2620$ ppm). Donc cet insecticide est plus toxique par application topique que par ingestion chez *B. germanica*.

Chez *B. germanica*, l'indoxacarbe est plus efficace et plus toxique que l'acide borique a la $DL_{50} = 77,6 \mu\text{g/insectes}$ (Habes *et al.*, 2013), le spinosad à une $DL_{50} = 0,42 \mu\text{g/insectes}$ et le

tébufénozide à une DL₅₀ de 30,20 µg/insectes [Maiza *et al.*, 2010, 2013; Morakchi *et al.*, 2014], l'azadirachtine administré par application topique chez les adultes de *B.orientalis* a une DL₅₀ de 1349, 32ng/insecte à 10 jours (Tine *et al.*, 2011), ceci en accord aussi avec les travaux de Toshio *et al* (2004) montrant que l'indoxacarbe administré par ingestion est très toxique pour les larves des lépidoptères. Le fipronil présente également par application topique une toxicité plus importante que celle du tébufénozide à l'égard des adultes de *B. germanica* avec une DL₅₀ de 0,0022 ug/insecte (Kaakeh *et al.*, 1997), Toute fois une résistance aux fipronil a été rapportée chez la blatte germanique (Holbrook *et al.*, 2003; Gondhalekar & Scharf, 2016). D'après les résultats de Galvan *et al.*, 2005 suggérant que l'indoxacarbe peut diminuer les populations sur le terrain *Harmonia . axyridis* en provoquant la mortalité des larves et des adultes par toutes les voies d'exposition donc l'indoxacarbe est plus toxique que d'autres insecticides. Il faut noter, cependant, que l'indoxacarbe est un modulateur des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine au niveau des neurones des mammifères (Zhao *et al.*, 1999; Narahashi, 2001), son activité biologique est essentiellement due à l'inhibition des canaux Na⁺ d'une manière similaire à celle des Pyrazolines. Chai et Lee (2010) ont montré que *B. germanica* résistante aux organophosphorés, carbamates, pyréthriinoïdes et le fipronil reste susceptible à l'indoxacarbe. N'Guessan *et al* (2007) ont aussi noté une activité larvicide et adulticide de l'indoxacarbe contre *Anopheles gambiae*, résistant aux pyréthriinoïdes. Plusieurs travaux montrent l'efficacité de l'indoxacarbe dans le contrôle de différentes espèces comme chez les Hémiptères *Lygus lineolaris* et *Geocoris punctipes* par l'application topique a une DL₅₀ de 35 ng/insecte (Tillman *et al.*, 2001) ou encore contre les Lépidoptères (Stark et Banks, 2003) comme *Ostrinia nubilalis* à la DL₅₀ de 12,7 ppm (Alves *et al.*, 2008) et *Plutella xylostella* à une CL₅₀ de 4,8 ppm (Eziah *et al.*, 2008 ; Mahmoudvand *et al.*, 2011), La toxicité de l' indoxacarbe a aussi été évaluée sur les Coléoptères (Wing *et al.*, 2000) comme *Harmonia axyridis* (Galvan *et al.*, 2005).

L'indoxacarbe présente une bonne sélectivité, et recommandé dans un programme de lutte intégrée et dans les programmes d'anti-résistance.

1. 4. Conclusion

L'effet de l'indoxacarbe, a été évalué chez les adultes *B. germanica* par ingestion à différentes doses (0, 125 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 ; 1 et 2%) le jour de l'exuviation. La dose sublétales et les doses létales ont été déterminées à partir de la régression non linéaire grâce à un logiciel graph pad prisme. La DL_{30} est de 0,127% ; la DL_{50} est de 0,260 % et la DL_{90} est de 1,720%. Des symptômes macroscopiques ont été observés qui se traduisent par une désorientation puis d'une paralysie des pattes et un abdomen enflé puis l'insecte meurt. L'indoxacarbe révèle donc une relation dose réponse, il est plus toxique par application topique que par application orale.

Ingestion de l'indoxacarbe sur la Reproduction

2. 1. INTRODUCTION

Les capacités de reproduction des insectes, souvent impressionnantes, leur ont permis de devenir le groupe zoologique le plus abondant et le plus varié du règne animal. La connaissance des mécanismes qui contrôlent la reproduction ou le développement de ces animaux présente donc à la fois un intérêt économique des plus importants (Thornhill & Alcock, 1983) et la complexité des mécanismes physiologiques qui leurs sont associées à l'image de ces adaptations. Bien que le système nerveux de l'insecte soit à l'origine de l'orchestration des activités reproductrices, le système endocrinien n'en joue pas moins un rôle clé.

B. germanica se caractérise par un important pouvoir de fécondité (Grandcolas, 1998), est une Blatte ovipare (Roth, 1970) dont l'ovaire est de type panoistique et où toutes les cellules germinales issues des mitoses goniales peuvent évoluer en ovules. Leur système reproducteur chez les femelles est représenté par deux ovaires qui se trouvent dans le corps adipeux de chaque côté de l'abdomen et chacun est composé de huit ovarioles. Située à la jonction des oviductes, se trouve une petite spermathèque brune qui emmagasine le sperme reçu de l'accouplement. Les testicules sont formés de nombreux petits follicules et d'un long canal déférent ; glandes accessoires nombreux et disposées en deux groupes. Lorsque les œufs passent ce point, ils sont fertilisés. En effet un seul accouplement pourrait suffire à fertiliser tous les œufs produits durant la vie imaginaire (Woodroff, 1938). Ces ovarioles sont caractérisés par l'existence de deux zones fonctionnelles, le germarium apical et le vitellarium (Cassier *et al.*, 1997). Le germarium est le siège de la multiplication des ovogonies qui donneront les ovocytes sans aucune formation de cellules nourricières. Le vitellarium permet aux ovocytes d'accumuler des réserves (vitellus) et d'acquérir des enveloppes protectrices, sécrétées par le follicule, appelées enveloppe vitelline et chorion (Raikhel & Dhadialla, 1992).

La phase d'accroissement correspondant à l'accumulation de matériaux plastiques et énergétiques variés: lipides (triglycérides, lipoprotéines), glucides (glycogène), protéines et sels minéraux correspond à la vitellogénèse (Cassier *et al.*, 1997). Toute modification dans la concentration en protéines au cours de la vitellogénèse peut conduire à une altération de la reproduction (Robker *et al.*, 2009). Dans ce processus, la protéine essentielle est la vitellogénine, une protéine précurseur du vitellus dans les ovocytes (Attardo *et al.*, 2005); elle est synthétisée dans les corps gras qui est un lieu de stockage des métabolites (protéines, glucides et lipides) mais aussi de synthèse de la majorité des protéines hémolympatiques

Ingestion de l'indoxacarbe sur la Reproduction

(Roma *et al.*, 2010) et secrétée dans l'hémolymphe puis captée par les ovocytes en voie de développement (Gilbert *et al.*, 2000). Les glucides possèdent un rôle essentiel dans la détermination, le développement et la maturation ovocytaire (Sutton-Mc Dowal *et al.*, 2010) source d'énergie, sont étroitement liés aux événements physiologiques comme la mue et la reproduction (Wiens & Gilbert, 1967). Enfin, les lipides, principale source d'énergie chez les insectes, sont synthétisés et stockés dans le corps gras (Beenakers *et al.*, 1985) puis transportés vers les organes utilisateurs, notamment les ovaires via l'hémolymphe pour être utilisés lors de la vitellogénèse (Wigglesworth, 1972).

En effet, de nombreuses études réalisées sur divers ordres d'insectes ont démontré l'implication de l'hormone juvénile (Hj), de l'ecdysone (les deux hormones régissant la métamorphose chez les insectes) ainsi que certaines neurohormones dans le contrôle de la physiologie reproductive (Cassier *et al.*, 1997; Davies *et al.*, 2006). Par ailleurs, Hj a aussi un rôle très important chez l'insecte adulte, où elle régule la reproduction, en particulier, la vitellogénèse (Riddiford, 2011). Les ecdystéroïdes ovariens synthétisés par les cellules folliculaires, contrôlent la maturation et le fonctionnement des organes reproducteurs (Petryk *et al.*, 2003; Delanoue *et al.*, 2010). La biosynthèse des ecdystéroïdes est assurée par les glandes prothoraciques au cours des stades post-embryonnaires sous l'effet d'une neurohormone prothoracicotrope (PPTH) ou ecdysiotropine (Gade & Hoffmann, 2005; Niwa *et al.*, 2010; Rewitz *et al.*, 2013). La 20E joue un rôle essentiel dans la vitellogénèse, l'expression des gènes de la vitellogénine dans le corps gras (Gilbert *et al.*, 2002; Yamanaka *et al.*, 2013), la ré-initiation méiotique et l'activation de la choriogénèse (Li *et al.*, 2000). Elle contrôle également l'embryogénèse et le développement post-embryonnaire (Mirth & Shingleton, 2012). L'action hormonale reste sous la dépendance des neurosécrétions (Colombani *et al.*, 2012). L'activité ovarienne est régulée par des facteurs intrinsèques, neurohormones et hormones (Ou *et al.*, 2011), mais aussi extrinsèques environnementaux (Garelli *et al.*, 2012; Rideout *et al.*, 2012) comme l'accouplement, la prise de nourriture, les phéromones et la température, qui déterminent l'activation des voies endocrines et neuroendocrines conduisant à la reproduction.

Dans ce chapitre, les effets de l'indoxacarbe administré par ingestion aux adultes de *B. germanica* nouvellement exuvie seront évalués sur le processus de reproduction en examinant la morphométrie (nombre d'ovocytes et taille de l'ovocyte basal) et la biochimie des ovaires (contenu en protéines, glucides et lipides ovariens) directement en relation avec le processus

Ingestion de l'indoxacarbe sur la Reproduction

de vitellogénèse (les vitellines et les vitellogenines) et une étude histologique des ovaires (Epaisseur de l'épithélium folliculaire).

2. 2. RESULTATS

2. 2. 1. Effet de l'indoxacarbe sur la morphométrie des ovaires

L'indoxacarbe a été utilisé *in vivo*, par ingestion à une dose sub létale ($DL_{30} = 0,127\%$), le jour de l'exuviation des adultes femelles de *B. germanica*. L'effet de cet insecticide a été évalué à différents âges (0, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 jours) sur le nombre d'ovocytes, le poids frais de l'ovaire, la longueur (L), la largeur (l) et le volume de l'ovocyte basal.

2. 2. 1. 1. Effet sur le nombre d'ovocytes

Le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires chez les séries témoins augmente d'une manière très significative à 2 jours ($p \leq 0,002$), puis diminue d'une manière très hautement significative à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$).

L'indoxacarbe induit une augmentation significative à 4 jours ($p \leq 0,003$) et une réduction très hautement significative à 5 et 6 jours ($p < 0,000$).

La comparaison entre les séries témoins et traitées, révèle une augmentation significative à 1jour ($p \leq 0,04$), une diminution très significative à 2 et 3jours ($p \leq 0,01$) et très hautement significative à 4, 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$) (Tableau. 11, Fig. 13).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre des effets traitement, âge et une interaction traitement-âge, très hautement significative sur le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires au cours de la maturité sexuelle (Tableau. 12).

Tableau 11: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀ = 0,127%) administré par ingestion sur le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B. germanica*: (m ± s ; n = 4). [Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules)].

Age (jours)	Témoins	DL ₃₀
0	24,25 ± 2,87 a A	24,25 ± 2,87 a A
1	23,75 ± 1,25 a A	25,00 ± 0,81 b A
2	27,75 ± 0,95 a B	25,75 ± 0,50 b A
3	32,75 ± 4,27 a B	25,75 ± 0,95 b A
4	33,00 ± 0,81 a B	28,00 ± 0,01 b B
5	29,00 ± 0,81 a C	24,00 ± 0,81 b C
6	24,25 ± 0,50 a D	21,25 ± 0,50 b D

Les lettres en minuscules comparent les moyennes d'un même âge entre les séries ; * Différence significative (p<0,05) ; ** Différence très significative (p<0,01) ; *** Différence hautement significative (p<0,001).

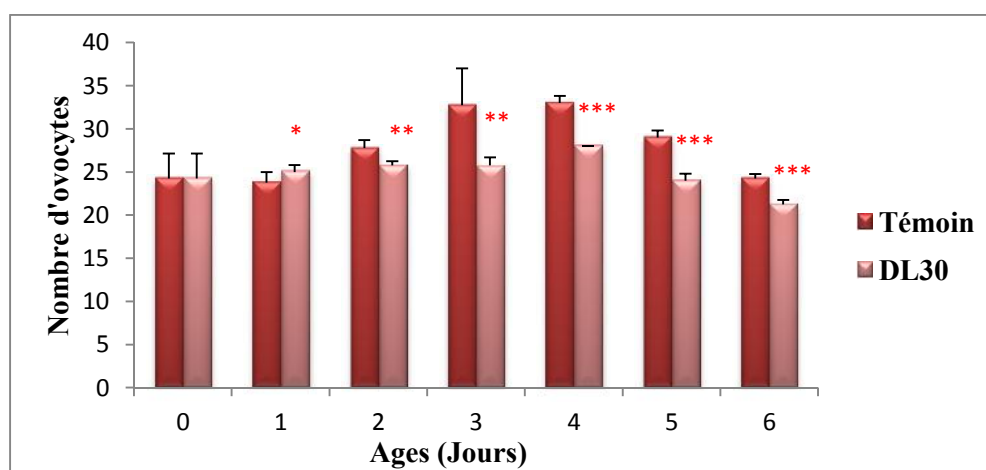


Figure 13. Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀ = 0,172%) administré par ingestion sur le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires chez les adultes femelles de *B. germanica* (m ± s ; n = 4).

Tableau 12: Effet de l'indoxacarbe sur le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B. germanica* en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Traitement	1	114,286	114,286	44,04	≤ 0,000***
Age	6	390,179	65,030	25,06	≤ 0,000***
Interaction âge- traitement	6	113,964	18,994	7,32	≤ 0,000***
Erreur	42	109,000	2,595	-	-
Total	55	727,429	-	-	-

2. 2. 1. 2. Effet de l'indoxacarbe sur le poids frais (mg) de l'ovaire

Chez les séries témoins le poids frais des ovocytes par paire d'ovaires chez *B. germanica* augmentent significativement à 2et 4 jours avec un pic à 4jour et une diminution non significative a été enregistrée à 5 et 6jours.

Chez les séries traitées on observe une augmentation très significative à 4 jours.

La comparaison entre les séries témoins et traités, montre une diminution très significative à 4 jours ($p \leq 0,01$). (Tableau. 13, Fig. 14).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre des effets traitement très significative, âge très hautement significative et aucune interaction âge- traitement sur le poids frais de l'ovaire au cours de la maturité sexuelle (Tableau. 14).

Tableau 13 : Effet de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) administré par ingestion sur le poids frais (mg) des ovocytes par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B. germanica* : ($m \pm s$; $n = 4$). [Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules)]

Age (jours)	Témoins	DL ₃₀
0	3,10 ± 0,82 a A	3,10 ± 0,82 a A
1	3,87 ± 0,18 a A	3,30 ± 0,60 a A
2	4,22 ± 0,20 a B	3,32 ± 0,56 a A
3	4,75 ± 0,50 a B	4,07 ± 0,67 a A
4	7,40 ± 0,46 a C	6,27 ± 0,52 b B
5	6,70 ± 0,87 a C	6,06 ± 0,50 a B
6	6,45 ± 0,90 a C	5,71 ± 0,83 a B

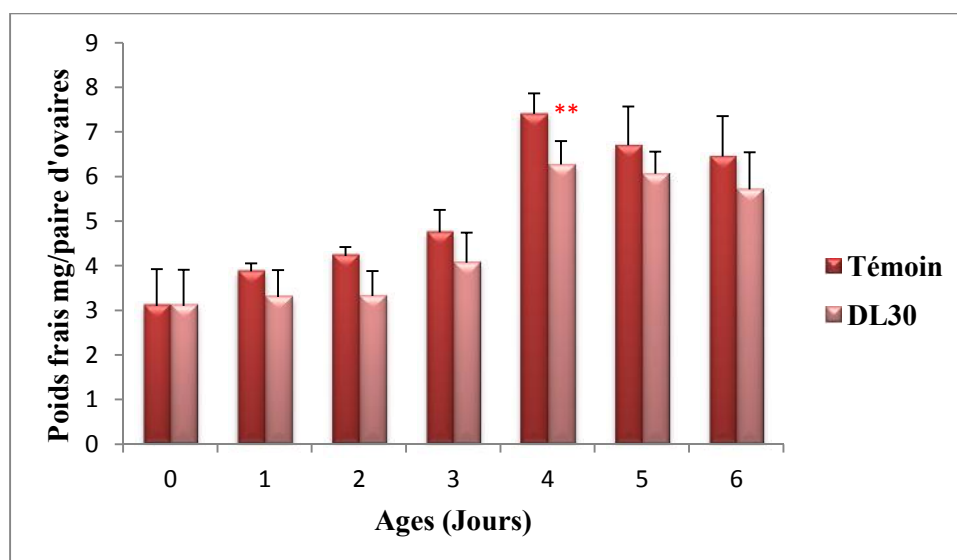


Figure 14. Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion ($DL_{30} = 0,127\%$) sur le poids frais (mg) des ovocytes par paire d'ovaires chez les adultes femelles de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 4$)

Tableau 14: Effet de l'indoxacarbe sur le poids frais (mg) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B. germanica* en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Age	6	99,0169	16,5028	39,70	≤ 0,000***
Traitement	1	3,5502	3,5502	8,54	≤ 0,006**
Interaction âge- traitement	6	2,9604	0,4934	1,19	≤ 0,332
Erreur	42	17,4587	0,4157	-	-
Total	55	122,9863	-	-	-

2. 2. 1. 3. Effet de l'indoxacarbe sur la largeur (l) de l'ovocyte basal

La largeur de l'ovocyte basal, chez les séries témoins de *B. germanica* augmente d'une manière très significative à 3 jours ($p \leq 0,002$) puis on observe une diminution significative à 5 jours ($p \leq 0,01$).

Chez les séries traitées, les valeurs obtenues montrent une diminution très significative de la largeur de l'ovocyte basal à 6 jours ($p \leq 0,002$).

La comparaison entre les séries témoins et traités révèle une diminution très hautement significative de la largeur de l'ovocyte basal à 3 et 4 jours ($p \leq 0,000$) et très significativement à 5 et 6 jours ($p \leq 0,001$; $p \leq 0,005$) (Tableau. 15, Fig. 15).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre des effets traitement, âge et une interaction traitement-âge très hautement significative sur la largeur d'ovocyte basale par paire d'ovaires au cours de la maturité sexuelle (Tableau. 16).

Tableau 15 : Effet de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) administré par ingestion sur la largeur d'ovocyte basal (μm) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B. germanica* : ($m \pm s$; $n = 4$). [Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules)].

Age (jours)	Témoins	DL_{30}
0	$340 \pm 40,00$ a A	$340 \pm 40,00$ a A
1	$380 \pm 76,59$ a A	$360 \pm 46,18$ a A
2	$450 \pm 60,00$ a A	$380 \pm 40,00$ a A
3	$620 \pm 23,09$ a B	$420 \pm 40,00$ b A
4	$630 \pm 20,00$ a B	$460 \pm 40,00$ b A
5	$580 \pm 23,09$ a C	$490 \pm 20,00$ b A
6	$530 \pm 60,00$ a C	$380 \pm 40,00$ b B

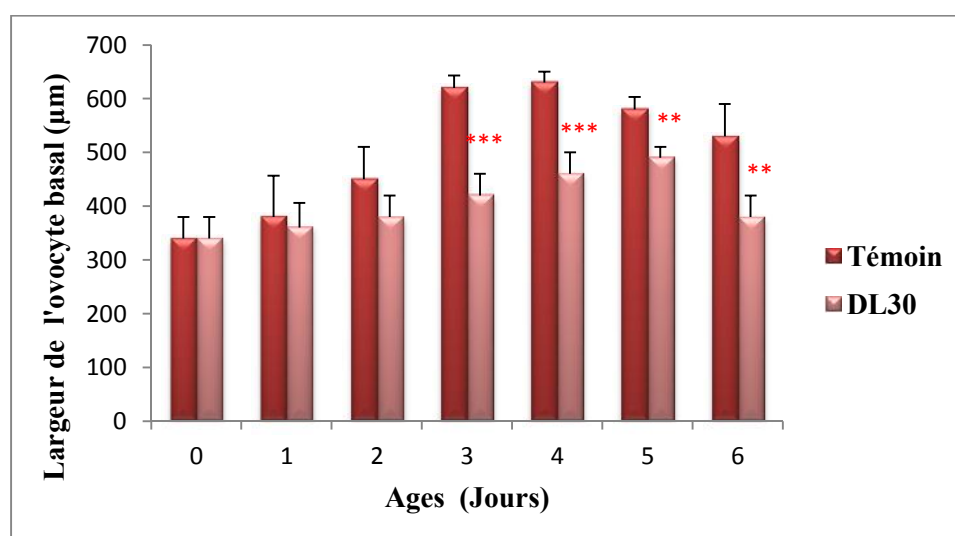


Figure 15. Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion ($DL_{30} = 0,127\%$) sur la largeur d'ovocyte basal par paire d'ovaires chez les adultes femelles de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 4$)

Tableau 16: Effet de l'indoxacarbe sur la largeur d'ovocyte basale (μm) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B. germanica* en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Age	6	326171	54362	28,54	$\leq 0,000^{***}$
Traitement	1	140000	140000	73,50	$\leq 0,000^{***}$
Interaction âge- traitement	6	69600	11600	6,09	$\leq 0,000^{***}$
Erreur	42	80000	1905	-	-
Total	55	615771	-	-	-

2. 2. 1. 4. Effet de l'indoxacarbe sur la longueur (L) de l'ovocyte basal

Chez les séries témoins de *B. germanica*, la longueur de l'ovocyte basal augmente significativement à 3 et 4 jours ($p \leq 0,03$; $p \leq 0,04$).

Chez les séries traitées les résultats obtenus montrent que la longueur de l'ovocyte basal augmente d'une manière significative à 3 jours ($p \leq 0,04$).

La comparaison entre les séries témoins et traités montrent une diminution significative de la longueur de l'ovocyte basal à 2 jours ($p \leq 0,04$) et très hautement significative à 3,4, 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$) (Tableau. 17, Fig. 16).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre des effets traitement, âge très hautement significative et une interaction traitement-âge très significative sur la longueur d'ovocyte basal par paire d'ovaires (Tableau. 18).

Tableau 17: Effet de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) administré par ingestion sur La longueur de l'ovocyte basal (μm) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 4$). [Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules)].

Age (jours)	Témoins	DL ₃₀
0	600 ± 23,94 a A	600 ± 23,94 a A
1	720 ± 26,64 a A	650 ± 91,48 a A
2	860 ± 51,63 a A	740 ± 76,59 b A
3	1160 ± 46,18 a B	850 ± 38,29 b B
4	1300 ± 83,26 a C	910 ± 60 b B
5	1280 ± 97,97 a C	890 ± 20 b B
6	1240 ± 42,36 a C	880 ± 86,40 b B

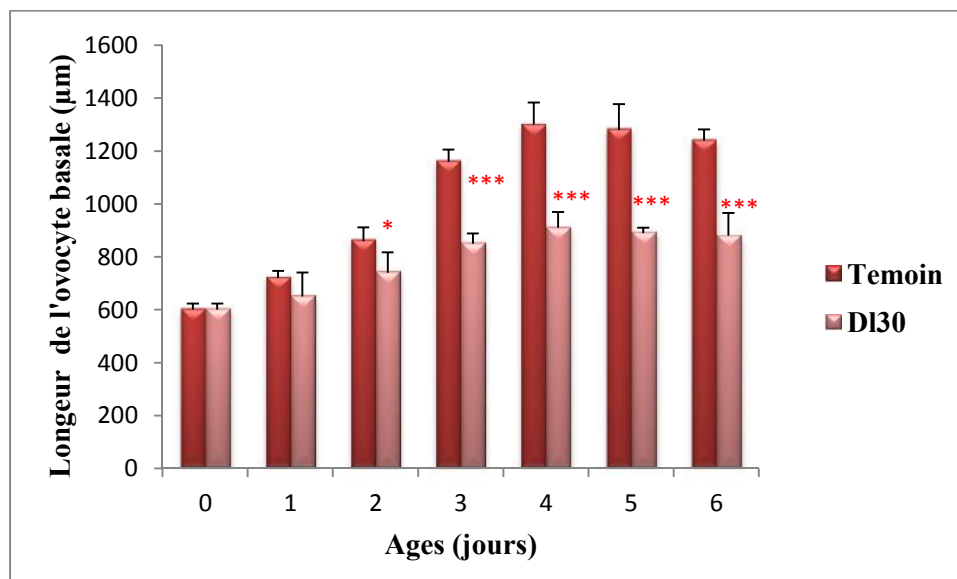


Figure 16. Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion ($DL_{30} = 0,127\%$) sur la longueur de l'ovocyte basal (μm) par paire d'ovaires chez les adultes femelles de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 4$).

Tableau 18: Effet de l'indoxacarbe sur la longueur (μm) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B. germanica* en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Age	6	1802171	1802171	17,77	$\leq 0,000$ ***
Traitement	1	460829	460829	27,26	$\leq 0,000$ ***
Interaction âge- traitement	6	362971	362971	3,58	$\leq 0,006$ **
Erreur	42	710000	710000	-	-
Total	55	3335971	-	-	-

2. 2. 1. 5. Effet de l'indoxacarbe sur le volume d'ovocyte (mm^3)

Le volume de l'ovocyte basal des séries témoins de *B. germanica* augmente significativement à 4 jours et il est très significative à 2 et 5 jours ($p \leq 0,002$; $0,007$) très hautement significative à 3 et 6 jours ($p \leq 0,000$) après la mue imaginale.

Chez les séries traitées on observe une augmentation non significative du volume de l'ovocyte basal.

La comparaison entre témoins et traités révèle une diminution du volume de l'ovocyte basal à 2, 3, 4, 5 et 6 ($p \leq 0,05$; $0,000$; $0,000$; $0,0002$; $0,0001$). (Tableau. 19, Fig. 17).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre des effets traitement, âges et une interaction traitement-âge très hautement significative sur Le volume de l'ovocyte basal au cours du premier cycle gonadotrophique (Tableau. 20).

Tableau 19: Effet in vivo de l'indoxacarbe ($DL_{30} = 0,127\%$) administré par ingestion sur le volume (mm^3) de l'ovocyte basal chez les femelles adultes de *B. germanica* : ($m \pm s$; $n = 4$ à 14) [comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules)].

Age (jours)	Témoins	DL_{30}
0	$0,0325 \pm 0,009$ a A	$0,0325 \pm 0,009$ a A
1	$0,049 \pm 0,037$ a A	$0,04 \pm 0,017$ a A
2	$0,0875 \pm 0,020$ a B	$0,05 \pm 0,010$ b A
3	$0,23 \pm 0,018$ a C	$0,07 \pm 0,010$ b A
4	$0,26 \pm 0,023$ a D	$0,0975 \pm 0,020$ b A
5	$0,28 \pm 0,043$ a E	$0,113 \pm 0,011$ b A
6	$0,54 \pm 0,090$ a F	$0,115 \pm 0,017$ b A

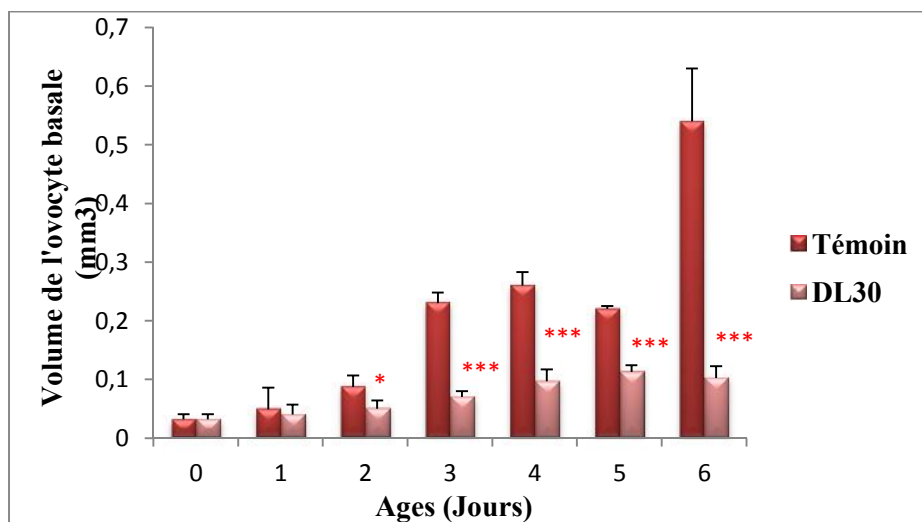


Figure 17. Effet de l'indoxacarbe administré par ingestion ($DL_{30} = 0,127\%$) sur le volume de l'ovocyte basal (mm^3) par paire d'ovaires chez les adultes femelles de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 4$)

Tableau 20: Effet de l'indoxacarbe sur le volume (mm³) par paire d'ovaires chez les adultes de *B. germanica* en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Age	6	0,490771	0,0817795	83,03	≤ 0,000***
Traitement	1	0,227333	0,227333	230,06	≤ 0,000***
Interaction âge- traitement	6	0,248006	0,041334	41,00	≤ 0,000***
Erreur	42	0,041377	0,000985	-	-
Total	55	1,007485	-	-	-

2. 2. 2. Effet de l'indoxacarbe sur les vitellines et les vitellogenines

Après réalisation de la gamme d'étalonnage et la lecture des densités optiques, les résultats obtenus en fonction de la quantité d'albumine sont mentionnés dans le tableau. 21. Les concentrations en vitellines ont été quantifiées à partir de la courbe de référence (Fig. 18).

Tableau 21. Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀), administré par ingestion, le jour de l'exuviation adulte sur le contenu en vitellines et vitellogénines chez les femelles de *B. germanica* : densités optiques (D.O) obtenus à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (µg).

Quantité d'albumine (µg)	DO
0	0
20	0,144
40	0,266
60	0,362
80	0,492
100	0,571

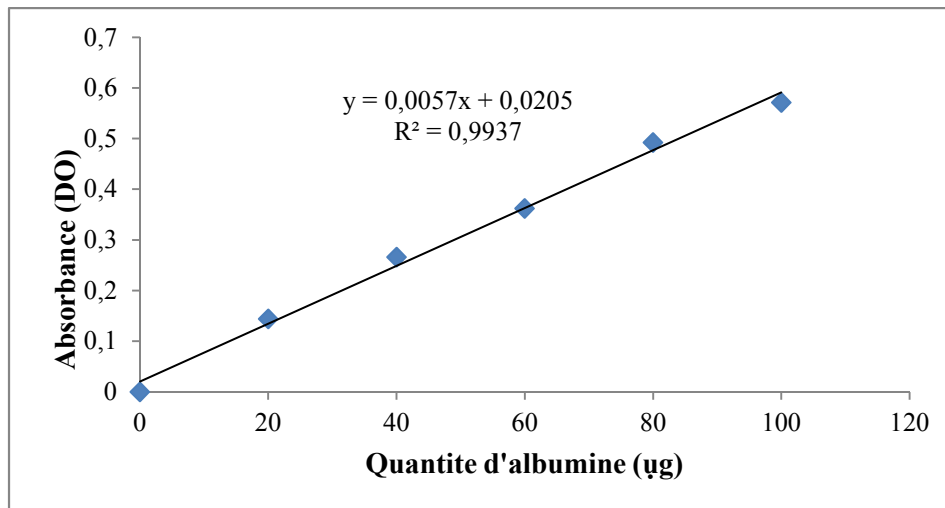


Figure 18. Courbe de référence (droite étalon) exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (µg).

2. 2. 2. 1. Effet de l'indoxacarbe sur les vitellines

Dans les ovaires le contenu en vitellines chez les séries témoins des adultes femelles de *B. germanica* augmente significativement à 1 jour ($p \leq 0,001$) et atteint un maximum à 4 jours ($\leq 0,01$) où se produit un pic qui est de l'ordre de ($186,38 \pm 9,78 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) puis on observe une diminution très hautement significative à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$).

Le test HSD de tukey classe par âge le contenu en vitellines chez les séries témoins montre l'existence de 4 groupes de classes, le premier groupe A renferme les témoins à 4j; le deuxième groupes B renferme les individus témoins à 2 et 3j; le troisième groupe C renferme les individus témoins à 1, 2, 5 jours ; le quatrième groupe D renferme les individus témoins à 0, 6jours.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet âge très hautement significative sur l'évolution des vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) au cours du premier cycle gonadotrophique (voir l'annexe).

Chez les séries traitées le contenu en vitellines révèle une augmentation de 1 à 4 jours ($p \leq 0,002$; 0,02; 0,000; 0,000) et une diminution très hautement significative à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$).

Le test HSD de tukey classe par âge le contenu en vitellines chez les séries traitées montre l'existence de 4 groupes de classes, le premier groupe A renferme les traités à 4j; le deuxième groupes B renferme les individus traités à 3, 5 et 6j; le troisième groupe C renferme les individus traités à 2 j; le quatrième groupe D renferme les individus traités à 0 et 1jours.

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet âge très hautement significative sur l'évolution des vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) au cours du premier cycle gonadotrophique (voir l'annexe).

La comparaison entre les séries témoins et traitées montrent une diminution très significative de 1, 2, 4 et 6 jours ($p \leq 0,002$; $0,002$; $0,01$, $0,002$) et une augmentation très significative à 5 jours ($p \leq 0,01$) (Tableau. 22, Fig. 19).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre des effets traitement, âge et interaction traitement- âge très hautement significative sur l'évolution des vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) au cours du premier cycle gonadotrophique (Tableau. 23).

Tableau 22: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe ($\text{DL}_{30} = 0,127$) administré par ingestion sur le contenu de vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) chez les femelles adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 3$). [Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules)].

Age (jours)	Témoins	DL ₃₀
0	50,64 \pm 1,80 a A	50,64 \pm 1,80 a A
1	100,68 \pm 8,48 a B	62,76 \pm 2,47 b B
2	115,63 \pm 7,95 a B	75,16 \pm 5,24 b C
3	137,34 \pm 19,12 a C	115,44 \pm 2,23 a D
4	186,38 \pm 9,78 a D	160,84 \pm 4,66 b E
5	95,17 \pm 2,11 a E	109,53 \pm 5,80 b F
6	67,63 \pm 1,85 a F	52,17 \pm 3,31 b G

Les moyennes suivies de lettres différents sont significatives au seuil de $p \leq 0,05$; * Différence significative ($p < 0,05$); ** Différence très significative ($p < 0,01$); *** Différence hautement significative ($p < 0,001$).

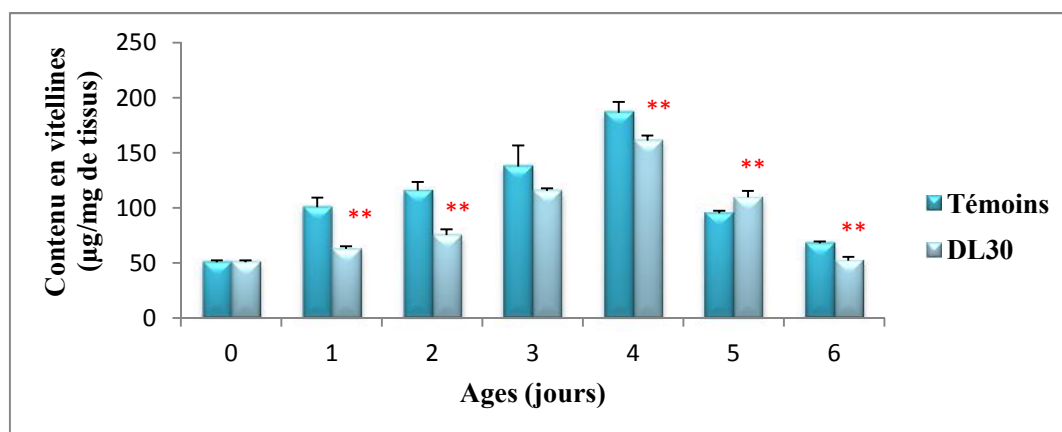


Figure 19. Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en vitelline ovarien chez les femelles des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 3$).

Tableau 23: Classement des paramètres biochimiques « vitellines » mesurés chez les adultes femelles de *B. germanica* : test HSD de Tukey.

Métabolites	Ages	Témoins		DL ₃₀	
		Valeur moyenne	Groupes	Valeur moyenne	Groupes
Vitellines	0	32,08	D	32,08	E
	1	41,15	C	35,62	D
	2	54,29	BC	43,48	C
	3	57,56	B	50,11	B
	4	63,75	A	62,19	A
	5	30,63	C	24,15	B
	6	22,65	D	11,57	DE

Tableau 24: Effet de l'indoxacarbe sur le contenu de vitellines par paire d'ovaires chez les adultes de *B. germanica* en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Ages	6	63063,5	10510,6	205,43	≤ 0,000***
Traitement	1	3463,0	3463,0	67,68	≤ 0,000***
Interaction âge- traitement	6	3530,0	588	11,50	≤ 0,000***
Erreur	28	1432,6	51,20	-	-
Total	41	71489,0	-	-	-

ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; F_{obs} : test de Fisher ; P : seuil de signification.

2. 2. 2. 2. Effet de l'indoxacarbe sur les vitellogénines

Dans les corps gras le contenu en vitellogénine après l'émergence des adultes femelles de *B. germanica* au cours de la maturité sexuelle augmente significativement chez les séries témoins à 1, 3 et 4 jours ($p \leq 0,000$; 0,004; 0,002) ou il atteint un maximum de $350,39 \pm 10,91$ $\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus puis on observe une diminution à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$).

Le test HSD de tukey classe par âge le contenu en vitellogénine chez les séries témoins montre l'existence de 5 groupes de classes, le premier groupe A renferme les témoins à 4j; le deuxième groupes B renferme les individus témoins à 3et 5j; le troisième groupe C renferme les individus témoins à 1, 2 j; le quatrième groupe D renferme les individus témoins à 6j; le cinquième groupe E renferme les individus témoins à 0j. (Tableau. 26)

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet âge très hautement significative sur l'évolution des vitellines ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) au cours du premier cycle gonadotrophique (voir l'annexe).

Chez les séries traitées, le contenu en vitellogénines révèle une augmentation très hautement significative à 3 et 4jours ($p \leq 0,000$) puis une diminution très hautement significative à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$).

Le test HSD de tukey classe par âge le contenu en vitellogénine chez les séries traites montre l'existence de 4 groupes de classes, le premier groupe A renferme les traites à 4j; le deuxième groupes B renferme les individus traites à 3et 5j; le troisième groupe C renferme les individus traites à 0, 1 et 2 j ; le quatrième groupe D renferme les individus traites à 0, 1jet 6j (Tableau. 26)

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet âge très hautement significative sur l'évolution des vitellogenine ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) au cours du premier cycle gonadotrophique (voir l'annexe).

La comparaison entre les séries témoins et traitées révèle une diminution très hautement significative pour tous les âges ($p \leq 0,000$) (Tableau. 25, Fig. 20).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre des effets traitement, âge et une interaction traitement- âge très hautement significative pour la molécule testée sur l'évolution des vitellogénines au niveau du corps gras ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) au cours du premier cycle gonadotrophique (Tableau. 27).

Tableau 25: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀ = 0,127) administré par ingestion sur les vitellogénines au niveau du corps gras (µg/mg de tissus) chez les femelles adultes de *B. germanica* (m ± s; n = 3). [Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules)].

Ages	Témoins	DL ₃₀
0	96,01 ± 12,19 a A	96,01 ± 12,19 a A
1	244,20 ± 9,50 a B	106,75 ± 2,69 b A
2	248,25 ± 10,91 a B	110,49 ± 4,01 b A
3	292,87 ± 7,21 a C	157,49 ± 3,39 b B
4	350,39 ± 10,91 a D	285,77 ± 3,24 b C
5	283,42 ± 1,87 a E	160,86 ± 9,63 b D
6	126,41 ± 3,60 a F	88,96 ± 3,54 b E

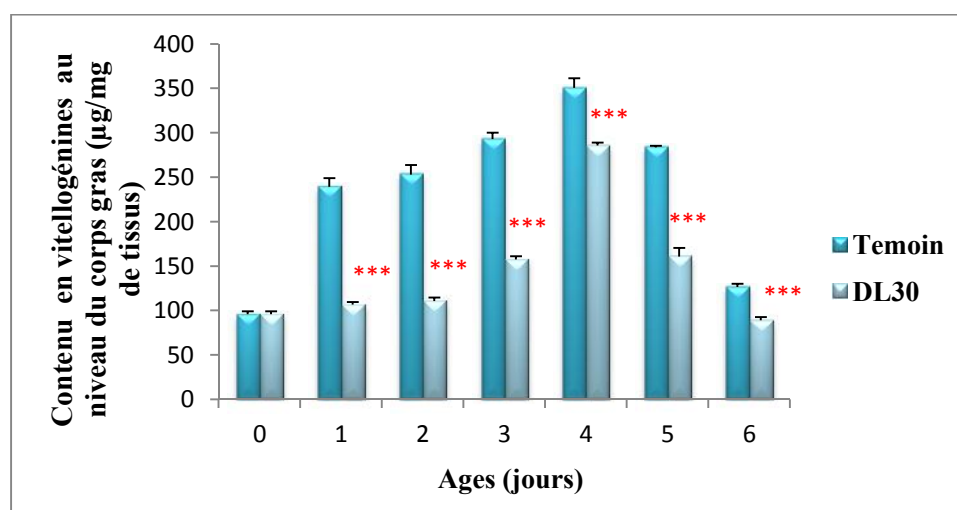


Figure 20. Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur vitellogénines au niveau du corps gras (µg/mg de tissus) chez les femelles des adultes de *B. germanica* (m ± s; n = 3).

Tableau 26: Classement des paramètres biochimiques « vitellogénines » mesurés chez les adultes femelles de *B. germanica* : test HSD de Tukey.

Métabolites	Ages	Témoins		DL ₃₀	
		Valeur moyenne	Groupes	Valeur moyenne	Groupes
Vitellogénines	0	32,08	E	32,08	CD
	1	41,15	C	35,62	CD
	2	54,29	C	43,48	C
	3	57,56	B	50,11	B
	4	63,75	A	62,19	A
	5	30,63	B	24,15	B
	6	22,65	D	11,57	D

Tableau 27: Effet de l'indoxacarbe sur le contenu en vitellogénines au niveau du corps gras chez les femelles adultes de *B. germanica* en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Ages	6	207592	34599	573,03	≤ 0,000***
Traitement	1	86339	86339	1429,95	≤ 0,000***
Interaction âge -traitement	6	28668	4778	79,13	≤ 0,000***
Erreur	28	1691	60	-	-
Total	41	324289	-	-	-

2. 2. 3. Effet de l'indoxacarbe sur la biochimie des gonades chez les deux sexes

L'indoxacarbe a été utilisé *in vivo*, par ingestion à une dose sublétales DL₃₀, le jour de l'exuviation des adultes femelles et mâles de *B. germanica*. L'effet de cet insecticide a été évalué à différents âges (0, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 jours) sur les métabolites ovariens et testiculaires.

2. 2. 3. 1. Effet sur le contenu protéique ovarien et testiculaire

Après réalisation de la gamme d'étalonnage, la lecture des densités optiques (D.O), obtenues en fonction de la quantité d'albumine sont mentionnées dans le tableau. 26. Les concentrations en protéines ovariennes et testiculaires ont été quantifiées à partir de la courbe de référence (Fig. 21).

Tableau 28: Dosage des protéines ovariennes et testiculaires: densités optiques (D.O) obtenues à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg).

Quantité d'albumine (μg)	DO1	DO2	m \pm s
0	0	0	0
20	0,088	0,124	0,106 \pm 0,025
40	0,260	0,250	0,255 \pm 0,007
60	0,507	0,510	0,508 \pm 0,002
80	0,704	0,643	0,673 \pm 0,043
100	0,883	0,809	0,846 \pm 0,052

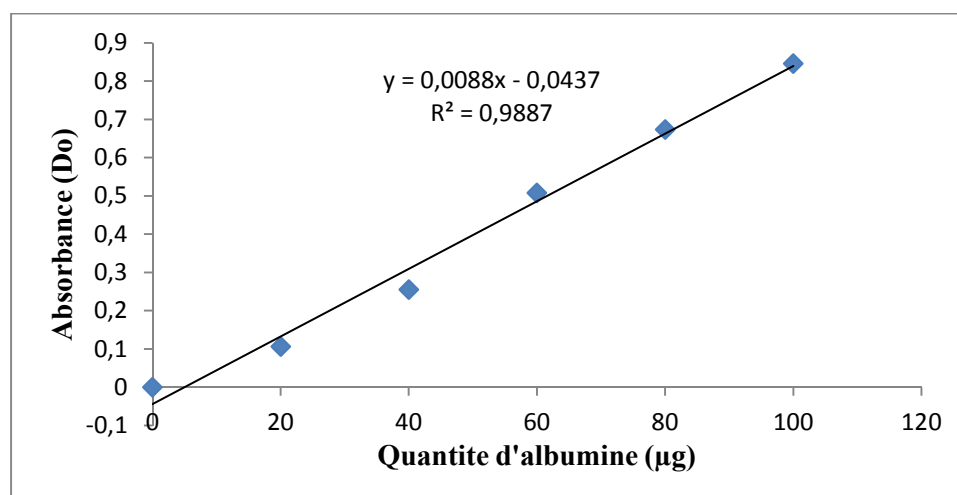


Figure 21. Courbe de référence (droite étalon) exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).

2. 2. 3. 1. 1. Effet sur le contenu protéique ovarien

Chez les séries témoins, le contenu en protéines montre une augmentation très hautement significative à 1, 2 jour ($p \leq 0,000$) et très significative à 4 jour ($p \leq 0,03$) ou se produit un pic qui est de l'ordre de $63,75 \pm 3,18 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus puis on observe une diminution très hautement significative à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$).

Le test HSD de tukey classe le contenu protéique ovarien chez les séries témoins par âge montre l'existence de 5 groupes de classes, le premier groupe A renferme les témoins à 4j; le deuxième groupes B renferme les individus témoins à 2, 3jours; le troisième groupe C renferme les individus témoins à 1jour; le quatrième groupe D renferme les individus témoins à 0, 5jours; le cinquième groupes E renferme les individus témoins à 6jour (Tableau. 31).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification confirme ces résultats et indique un effet âge ($p \leq 0,000$) très hautement significative ($p \leq 0,000$) (voir à l'annexe).

L'indoxacarbe provoque une augmentation très hautement significative du contenu protéique à 2 jour ($p \leq 0,000$), très significative à 1, 3 jours ($p \leq 0,014; 0,04$) et significative à 4 jour ($p \leq 0,05$) puis on observe une diminution très hautement significatives à 5 et 6 jours ($p \leq 0,001; 0,000$).

Le test HSD de tukey classe le contenu protéique ovarien chez les séries traités par âge montre l'existence de 6 groupes de classes, le premier groupe A renferme les traites à 4jours; le deuxième groupes B renferme les individus traités à 2, 3jours; le troisième groupe C renferme les individus traités à 1, 2 jours; le quatrième groupe D renferme les individus traités à 0, 1jours; le cinquième groupes E renferme les individus traités à 0, 5jours; le sixième groupes f renferme les individus traités à 6jour (Tableau. 31).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet âge ($p \leq 0,000$) très hautement significative ($p \leq 0,000$) (voir à l'annexe).

La comparaison entre les séries témoins et traitées montre une diminution très hautement significative du contenu protéique à 1, 2, 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$) et significative à 3 et 4 jours ($p \leq 0,03; 0,05$) (Tableau. 29, Fig. 22).

L'analyse de la variance à deux critères de classification confirme ces résultats et indique un effet âge ($p \leq 0,000$), un effet traitement ($p \leq 0,000$) très hautement significative et une interaction traitement-âge hautement significative ($p \leq 0,003$) (Tableau. 28).

Tableau 29: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en protéines ovarien chez *B. germanica* (m ± s; n = 8).

Ages (jours)	Témoins Femelles	Traités Femelles
0	32,08 ± 1,06 a A	32,08 ± 1,06 a A
1	41,89 ± 1,28 a B	35,62 ± 0,99 b B
2	47,11 ± 4,45 a C	43,49 ± 0,81 b C
3	57,56 ± 1,39 a D	50,64 ± 4,69 b D
4	63,75 ± 3,18 a E	62,19 ± 6,99 b E
5	30,63 ± 0,58 a F	24,15 ± 0,38 b F
6	22,06 ± 0,92 a G	11,57 ± 2,01 b G

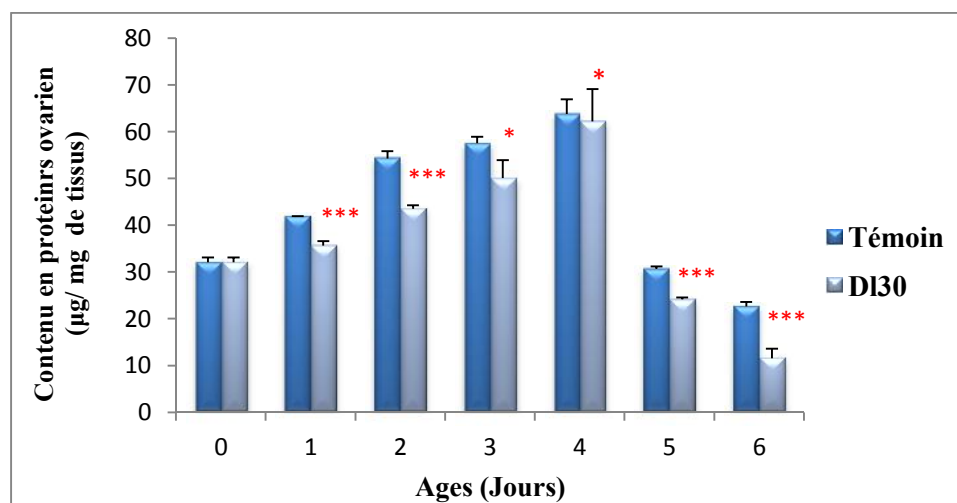


Figure 22. Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en protéines chez les femelles adultes de *B. germanica* (m ± s; n = 8).

Tableau 30: Effet de l'indoxacarbe sur le contenu en protéines chez les adultes femelles de *B. germanica* nouvellement exuvies en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Traitement	1	436,88	436,88	54,27	≤ 0,000***
Age	6	9481,82	1580,30	196,32	≤ 0,000***
Interaction âge- traitement	6	209,26	34,88	4,33	≤ 0,003**
Erreur	28	225,39	8,05	-	-
Total	41	10353,35	-	-	-

Tableau 31: Classement des paramètres biochimiques « Protéines » mesurés chez les adultes femelles de *B. germanica* : test HSD de Tukey.

Métabolites	Ages	Témoins		DL ₃₀	
		Valeur moyenne	Groupes	Valeur moyenne	Groupes
Protéines	0	32,08	D	32,08	DE
	1	41,15	C	35,62	CD
	2	54,29	B	43,48	BC
	3	57,56	B	50,11	B
	4	63,75	A	62,19	A
	5	30,63	D	24,15	E
	6	22,65	E	11,57	F

2. 2. 3. 1. 2. Effet sur le contenu protéique testiculaire

Chez les séries témoins mâles, le contenu protéique présente une augmentation très hautement significative à 1 jours ($p \leq 0,000$), puis une diminution significative à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$; 0,003).

Le test HSD de tukey classe le contenu protéique testiculaire chez les séries témoins par âge montre l'existence de 4 groupes de classes, le premier groupe A renferme les témoins à 3, 4j; le deuxième groupe B renferme les individus témoins à 1, 2 et 3j; le troisième groupe C renferme les individus témoins à 0 et 5j; le quatrième groupe D renferme les individus temoins à 6j (Tableau. 35).

L'analyse de variance à un seul critère de classification indique qu'il y a un effet âge très hautement significative ($p \leq 0,000$) (voir l'annexe).

Chez les séries traitées on observe une augmentation à 1, 3 et 4 jours ($p \leq 0,000$; 0,01; 0,01) et une diminution est très hautement significative à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$).

Le test HSD de tukey classe les le contenu protéique testiculaire par âge chez les séries traités montre l'existence de 5 groupes de classes, le premier groupe A renferme les traités à 4j; le deuxième groupe B renferme les individus traités à 2 et 3j; le troisième groupe C renferme les individus traités à 1 et 2j; le quatrième groupe D renferme les individus à 0 et 5j; le cinquième groupes E renferme les individus traités à 6j (Tableau. 35).

L'analyse de variance à un seul critère de classification indique qu'il y a un effet âge et très hautement significative (voir l'annexe).

La comparaison entre les séries témoins et traitées montre une diminution très significative à 2j et significative à 1, 2, 3 et 4j dans le contenu protéique ($p \leq 0,03$; 0,007; 0,02; 0,05) (Tableau. 32, Fig. 23).

L'analyse de variance à deux critères de classification confirme ces résultats et indique des effets âge et traitement ($p \leq 0,000$) très hautement significative et une interaction traitement-âges significative ($p \leq 0,017$) (Tableau. 35).

Tableau 32; Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en protéines testiculaires chez les adultes de *B. germanica*(m ± s; n = 8).

Ages (jours)	Témoins Mâles	Traités Mâles
0	17,69 ± 1,46 a A	17,69 ± 1,46 a A
1	35,25 ± 0,51 a B	32,28 ± 1,58 b B
2	36,92 ± 1,04 a B	33,57 ± 0,42 b B
3	39,8 ± 1,68 a B	35,82 ± 0,73 b C
4	43,98 ± 3,35 a B	38,71 ± 0,81 b D
5	17,66 ± 0,65 a C	16,83 ± 0,38 a E
6	12,81 ± 1,12 a D	12,25 ± 0,57 a F

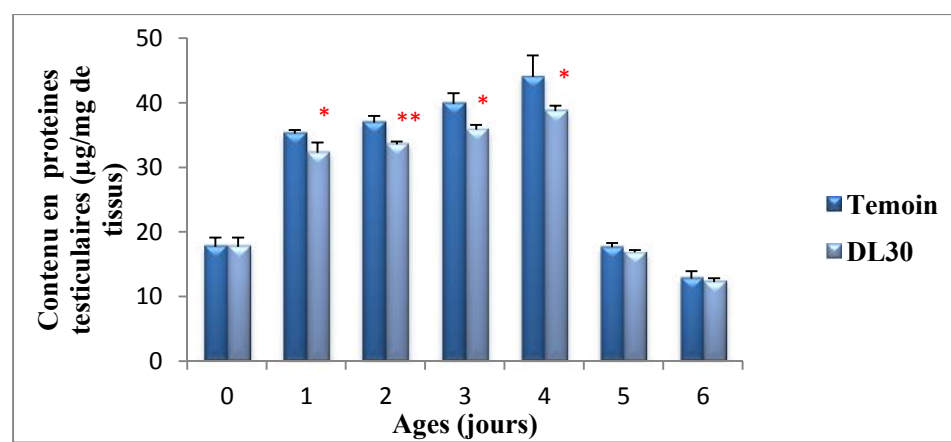


Figure 23. Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en protéines chez les adultes mâles de *B. germanica* (m ± s; n = 8).

Tableau 34: Effet de l'indoxacarbe sur le contenu en protéines chez les adultes mâles de *B. germanica* en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Traitement	1	61,52	61,52	33,30	≤ 0,000***
Age	6	4928,62	821,44	444,7	≤ 0,000***
Interaction âge- traitement	6	35,24	5,87	3,18	≤ 0,017*
Erreur	28	51,72	1,85	-	-
Total	41	5077,09	-	-	-

Tableau 35: Classement des paramètres biochimiques « Protéines » mesurés chez les adultes mâles de *B. germanica*: test HSD de Tukey.

Métabolites	Ages	Témoins		DL ₃₀	
		Valeur moyenne	Groupes	Valeur moyenne	Groupes
Protéines	0	17,69	C	17,69	A
	1	35,25	B	32,28	C
	2	36,92	B	33,57	BC
	3	39,80	AB	35,82	B
	4	43,98	A	38,71	A
	5	17,66	C	16,83	D
	6	12,81	D	12,25	E

2. 2. 3. 2. Effet sur le contenu en glucides chez les deux sexes

Les densités optiques (D.O), obtenues en fonction de la quantité de glucose après la réalisation de la gamme d'étalonnage sont mentionnées dans le tableau. 34. Les concentrations des glucides ont été quantifiées à partir de la courbe de référence (Fig. 24).

Tableau 36: Dosage des glucides ovariens et testiculaires : densités optiques obtenues à 620 nm en fonction de la quantité de glucose (µg).

Quantité d'albumine (µg)	DO1	DO2	m ± s
0	0	0	0
20	0,222	0,186	0,204 ± 0,025
40	0,453	0,415	0,434 ± 0,026
60	0,710	0,722	0,716 ± 0,008
80	0,909	1,030	0,969± 0,085
100	1,160	1,360	1,260± 0,141

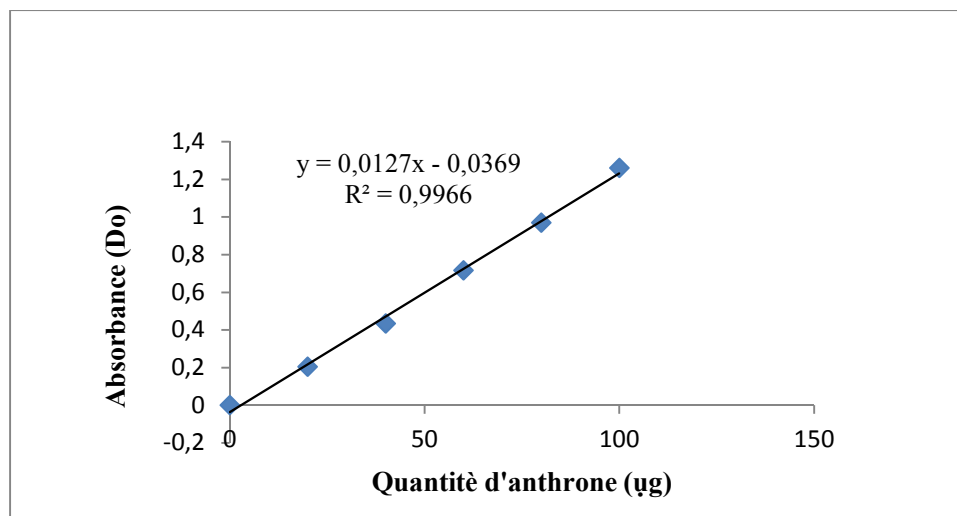


Figure 24. Courbe de référence (droite étalon) exprimant l'absorbance à 620 nm en fonction de la quantité du glucose (µg).

2. 2. 3. 1. 2. Effet sur le contenu en glucides chez les adultes femelles de *B. germanica*

La quantification de ce métabolite a été effectuée chez les adultes de *B. germanica* nouvellement exuvie (Tableau. 35, Fig. 25).

Chez les séries témoins le contenu glucidique ovarien au cours de la maturité sexuelle augmente d'une manière significative à 1, 2 et 4 jours ($p \leq 0,01$; $0,01$; $0,006$) et on observe une diminution très hautement significative à 5 jours ($p \leq 0,000$).

Le test HSD de tukey classe les le contenu protéique testiculaire par âge chez les séries témoins montre l'existence de 3 groupes de classes, le premier groupe A renferme les témoins à 2, 3 et 4j; le deuxième groupe B renferme les individus témoins à 1 et 5j; le troisième groupe C renferme les individus à 0, 5 et 6j. (Tableau. 39).

L'analyse de variance à un seul critère de classification montre un effet âge très hautement significative (voir l'annexe).

Chez les séries traitées à la DL30, le contenu en glucides révèle une augmentation à 2jour ($p \leq 0,007$) puis on observe une diminution très hautement significative à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$).

Le test HSD de tukey classe les le contenu protéique testiculaire par âge chez les séries traités montre l'existence de 3 groupes de classes, le premier groupe A renferme les traités à 2, 3 et 4j; le deuxième groupe B renferme les individus traités à 0, 1 et 5j; le troisième groupe C renferme les individus à 1 et 2j; le quatrième groupe D renferme les individus à 6j. (Tableau. 39).

L'analyse de variance à un seul critère de classification montre un effet âge très hautement significative (voir l'annexe).

La comparaison entre les séries témoins et traitées montre que l'indoxacarbe provoque une diminution du contenu glucidique pour tous les âges ($p \leq 0,002$; $0,01$; $0,03$; $0,000$; $0,001$; $0,001$). (Tableau. 37; Fig. 25).

L'analyse de la variance à deux critères de classification (âges, traitement) chez les femelles de *B. germanica* montre un effet traitement $p \leq 0,000$; un effet âge $p \leq 0,006$ au cours du premier cycle gonadotrophique (Tableau. 38).

Tableau 37: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en glucides aux adultes femelles de *B. germanica* nouvellement exuvies (m ± s; n = 8).

Age (jours)	Témoins Femelles	Traités Femelles
0	27,31 ± 4,66 a A	27,31 ± 4,66 a A
1	41,54 ± 2,59 a B	27,66 ± 2,23 b A
2	56,6 ± 5,71 a C	39,99 ± 3,60 b B
3	54,62 ± 2,41 a C	44,16 ± 5,24 b B
4	65,09 ± 2,40 a D	39,5 ± 1,50 b B
5	36,33 ± 2,99 a E	21,83 ± 1,05 b C
6	30,46 ± 4,44 a E	7,6 ± 0,80 b D

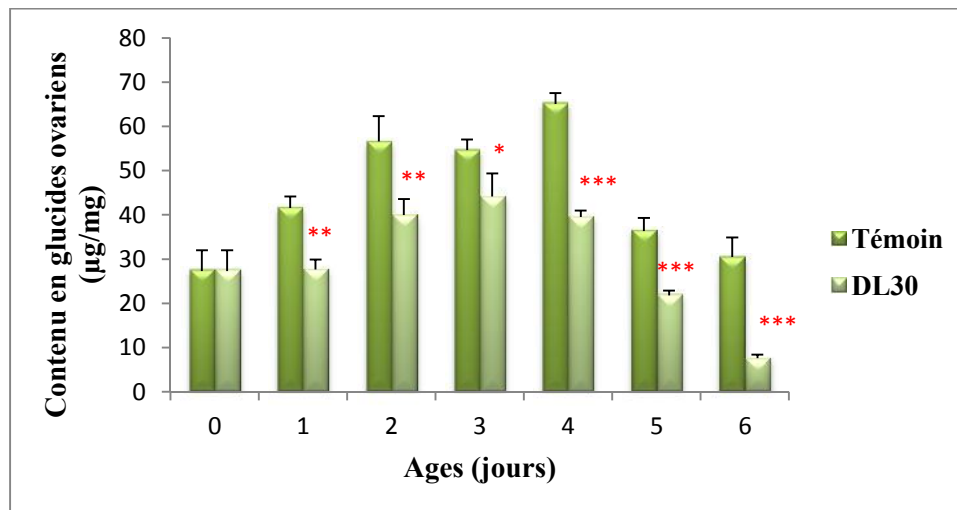


Figure 25. Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en glucides chez les femelles adultes de *B. germanica* nouvellement exuvies (m ± s ; n = 8).

Tableau 38: Effet de l'indoxacarbe sur les contenus glucidiques chez les femelles adultes de *B. germanica* en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Age	6	99,0169	16,5028	39,70	≤ 0,000***
Traitement	1	3,5502	3,5502	8,54	≤ 0,006***
Interaction âge- traitement	6	2,9604	0,4934	1,19	0,332
Erreur	42	17,4587	0,4157	-	-
Total	55	122,9863	-	-	-

Tableau 39: Classement des paramètres biochimiques « Glucides » mesurés chez les adultes femelles de *B. germanica*: test HSD de Tukey.

Métabolites	Ages	Témoins		DL ₃₀	
		Valeur moyenne	Groupes	Valeur moyenne	Groupes
Glucides	0	27,31	C	27,31	B
	1	41,54	B	27,66	B
	2	56,60	A	39,99	A
	3	54,62	A	44,16	A
	4	65,09	A	39,50	A
	5	36,33	BC	21,83	B
	6	30,47	C	7,60	C

2. 2. 3. 1. 3. 2. Effet sur le contenu en glucides chez les adultes mâles de *B. germanica* nouvellement exuvie

Chez les séries témoins on observe une augmentation du contenu glucidique testiculaire à 1, 2, 3 et 4 jours ou il atteint le maximum ($26,43 \pm 0,68 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu) puis une diminution à 5 et 6 jours ($p \leq 0,001$; $p \leq 0,04$).

Le test HSD de tukey classe le contenu glucidique testiculaire par âge chez les séries témoins montre l'existence de 5 groupes de classes, le premier groupe A renferme les témoins à 3 et 4 jours; le deuxième groupes B renferme les individus témoins à 2 jour, et les témoins de

5 et 6 jours; le troisième groupe C renferme les individus témoins à 2jour; le quatrième groupes D renferme les individus témoins à 1jour; le cinquième groupes E renferme les individus témoins à 0jour (Tableau. 42).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet âge très hautement significative sur l'évolution des glucides testiculaires ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) (voir l'annexe).

Chez les séries traitées le contenu glucidique augmente significativement à 1, 2 et 4 jours ($p \leq 0,002$; $0,003$; $0,04$) où il atteint une valeur maximale de $18,65 \pm 1,25 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu à 4 jour. Puis on observe une diminution à 5 et 6 jours ($p \leq 0,001$; $0,05$).

Le test HSD de tukey classe le contenu glucidique testiculaire par âge chez les séries traitées montre l'existence de 6 groupes de classes, le premier groupe A renferme les traites à 4j; le deuxième groupes B renferme les individus traites à 2 et 3jours; le troisième groupe C renferme les individus traités à 2 et 5 jours; le quatrième groupes D renferme les individus traites à 5, 6jours;le cinquième groupes E renferme les individus traites à 6 et 2jours; le sixième groupes F renferme les individus traites à 0 et 1jours.(Tableau. 42).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet âge très hautement significative (voir l'annexe).

La comparaison entre les séries témoins et traitées indique que l'indoxacarbe affecte le contenu en glucides testiculaire par une diminution très hautement significatives à 3, 4, 5 et 6 jours (Tableau. 40, Fig. 25).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre un effet traitement, un effet âge et une interaction traitement-âge, très hautement significative sur l'évolution des glucides testiculaires ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) au cours de la maturité sexuelle (Tableau. 41).

Tableau 40: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en glucides chez les mâles des adultes de *B. germanica* nouvellement exuvie (m ± s; n = 8).

Age (jours)	Témoins mâles	Traités Mâles
0	4,53 ± 0,3 a A	4,53 ± 0,3 a A
1	8,03 ± 0,81 a B	7,60 ± 0,7 a B
2	14,86 ± 1,95 a C	13,66 ± 1,4 a C
3	24,54 ± 0,26 a D	14,45 ± 2,09 b C
4	26,43 ± 0,68 a E	18,65 ± 1,25 b D
5	21,08 ± 0,66 a F	10,88 ± 0,97 b E
6	19,23 ± 0,36 a G	9,29 ± 0,127 b F

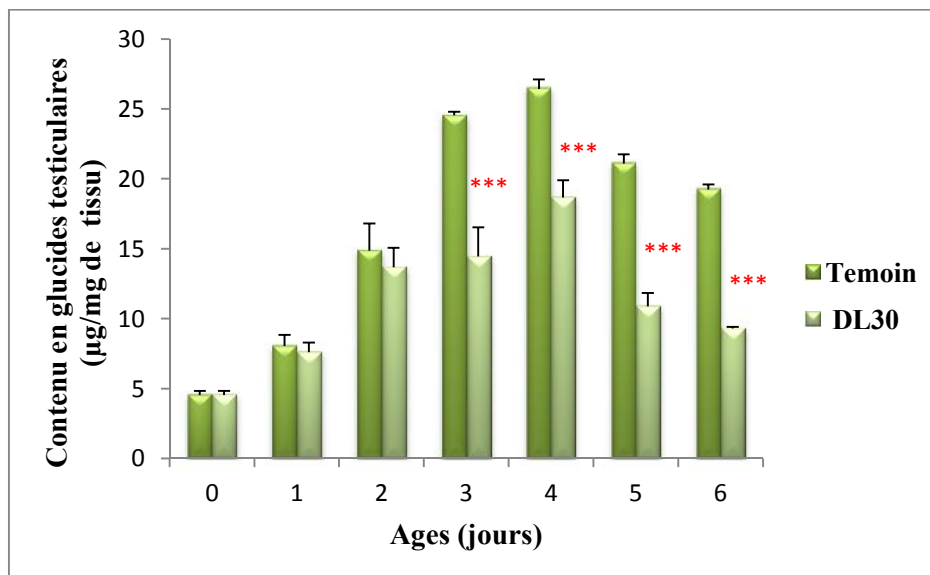


Figure 26. Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en glucides chez les adultes mâles de *B. germanica* (m ± s ; n = 8).

Tableau 41: Effets de l'indoxacarbe sur le contenu en glucides chez les adultes mâles de *B. germanica* en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Traitement	1	330,63	305,28	150,99	≤ 0,000***
Age	6	1394,15	231,20	114,35	≤ 0,000***
Interaction âge- traitement	6	198,85	33,14	16,39	≤ 0,000***
Erreur	28	56,61	2,02	-	-
Total	41	1980,24	-	-	-

Tableau 42: Classement des adultes de *B. germanica* selon les paramètres biochimiques « Glucides » mesurés chez les mâles: test HSD de Tukey.

Métabolites	Ages	Témoins		DL ₃₀	
		Valeur moyenne	Groupes	Valeur moyenne	Groupes
Glucides	0	4,53	E	4,53	F
	1	8,03	D	7,60	EF
	2	14,86	C	13,66	BC
	3	24,56	A	14,45	B
	4	26,43	A	18,65	A
	5	21,08	B	10,88	CD
	6	18,88	B	9,29	DE

2. 2. 3. 3. Effet sur le contenu en lipides chez les deux sexes

Les densités optiques (D.O) obtenues, en fonction de la quantité de lipide, et après réalisation de la gamme d'étalonnage sont mentionnées dans le tableau 42. Les concentrations en lipides ont été quantifiées à partir de la courbe de référence (Fig. 27).

Tableau 43: La densité optique (D.O) obtenues à 530 nm en fonction de la quantité de lipides (μg).

Quantité de lipides (μg)	DO1	DO2	DO3	m \pm s
0	0	0	0	0
50	0,257	0,333	0,403	0,33 \pm 0,07
100	0,618	0,699	0,694	0,67 \pm 0,04
150	0,829	0,830	1,195	0,95 \pm 0,21
200	1,563	0,951	1,616	1,38 \pm 0,37
250	1,735	1,801	1,935	1,82 \pm 0,10

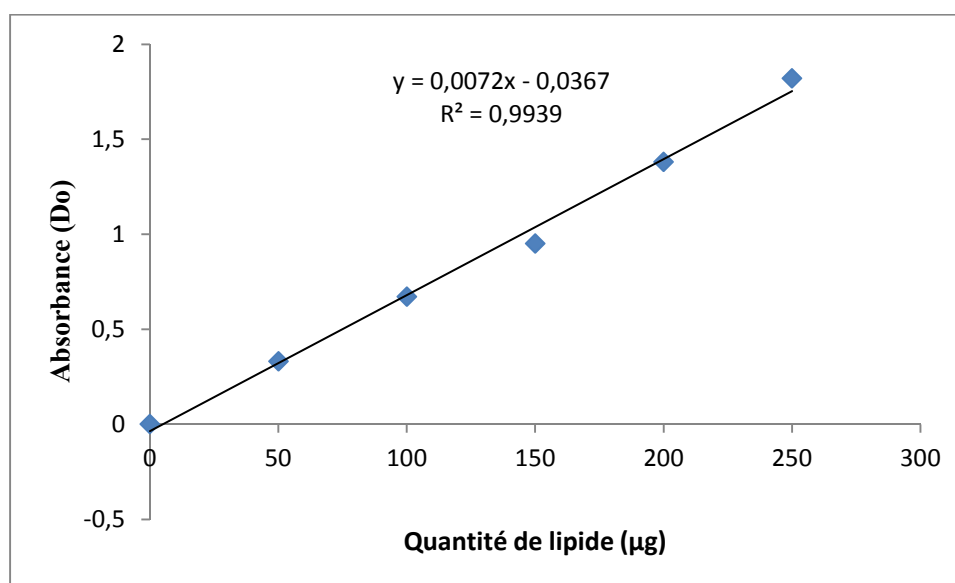


Figure 27. Courbe de référence (droite étalon) exprimant l'absorbance à 530 nm en fonction de la quantité d'huile de table (μg).

2. 2. 3. 3. 1. Effet sur le contenu en lipide ovarien

Le contenu en lipide ovarien des séries témoins au cours de la maturité sexuelle augmente significativement de 1 à 4 jours ($p \leq 0,000$; 0,004; 0,001; 0,000) où un pic est enregistré à 4 jours ($109,91 \pm 0,68 \mu\text{g} / \text{mg}$ de tissus); puis on observe une diminution à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$; 0,004).

Le test HSD de tukey classe le contenu lipidique ovarien par âge chez les séries témoins montre l'existence de 5 groupes de classes, le premier groupe A renferme les individus témoins à 4jour; le deuxième groupe B renferme les individus témoins à 3jour; le troisième groupe C renferme les individus témoins à 2 jour; le quatrième groupes D renferme les individus témoins à 1 et 5jours; le cinquième groupes E renferme les individus traités à 6jours. (Tableau. 46).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet âge très hautement significative ($p \leq 0,000$) (voir l'annexe).

Les valeurs moyennes du contenu en lipides enregistrées chez les séries traitées de *B. germanica* à la dose sub létale de l'indoxacarbe (0,127%) montrent la même évolution que chez les séries témoins. En effet une augmentation significative du contenu en lipides est notée de 1 à 4 jours ($12,1 \pm 1,29 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus, $53,21 \pm 1,59 \mu\text{g} / \text{mg}$ de tissus) ($p \leq 0,001$; 0,009; 0,001; 0,003; 0,003) et une diminution à 5 et 6 jours ($8,62 \pm 0,67 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus, $6,18 \pm 0,2 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) ($p \leq 0,000$; 0,004).

Le test HSD de tukey classe le contenu lipidique ovarien par âge chez les séries traités montre l'existence de 6 groupes de classes, le premier groupe A renferme les individus traités à 4j; le deuxième groupe B renferme les individus traités à 3jours; le troisième groupe C renferme les individus traités à 2 jour; le quatrième groupes D renferme les individus traités à 1 j; le cinquième groupes E renferme les individus traités à 0 et 5jours; le sixième groupes F renferme les individus traités à 5 et 6jours (Tableau. 46).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un âge très hautement significative (voir l'annexe).

L'étude comparative des moyennes par le test "t" de Student entre les individus témoins et traités, indique que l'indoxacarbe, affecte le contenu en lipides ovariens par une diminution de 1 à 6 jours (Tableau. 44, Fig. 28).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre des effets traitement, âge et une interaction traitement-âge, très hautement significative ($p \leq 0,000$) sur le contenu lipidique ovarien ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de tissus) au cours de cycle gonadotrophique (Tableau. 45).

Tableau 44: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en lipide chez les femelles adultes de *B. germanica* nouvellement exuviee :(m ± s ; n = 8).

Age (jours)	Témoins Femelles	Traités Femelles
0	12,1 ± 1,29 a A	12,1 ± 1,29 a A
1	40,19 ± 0,17 a B	20,94 ± 1,35 b B
2	59,94 ± 5,66 a C	27,65 ± 2,08 b C
3	95,14 ± 1,75 a D	40,54 ± 2,95 b D
4	109,91 ± 0,68 a E	53,21 ± 1,59 b E
5	37,60 ± 4,49 a F	8,62 ± 0,67 b F
6	19,23 ± 2,54 a G	6,18 ± 0,20 b G

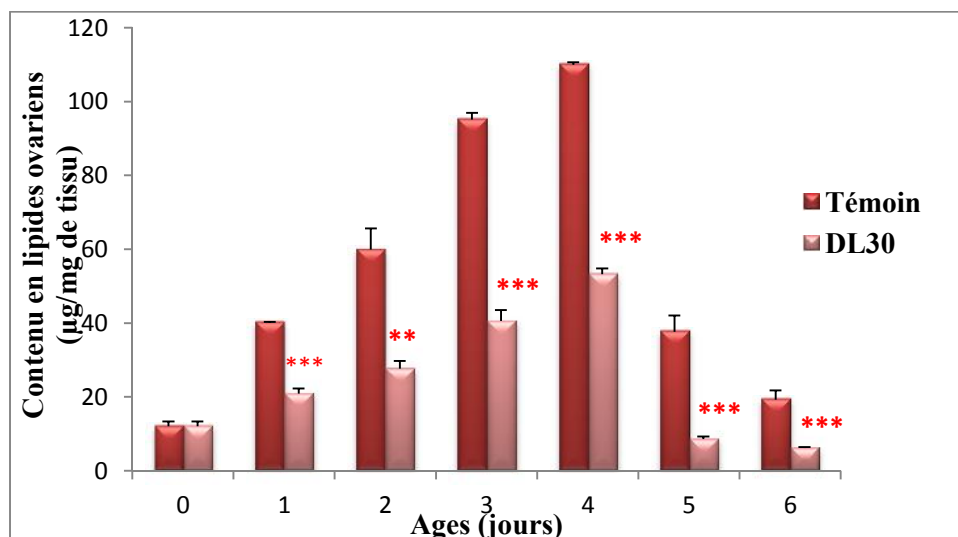


Figure 28. Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu lipidiques ovarien chez les adultes de *B. germanica* nouvellement exuvies (m ± s ; n = 8).

Tableau 45: Effet de l'indoxacarbe par ingestion sur le contenu lipidique ovarien chez les adultes de *B. germanica* nouvellement exuvies en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Traitement	1	560,77	560,77	274,48	≤ 0,000***
Age	6	5549,16	924,86	452,69	≤ 0,000***
Interaction âge- traitement	6	237,29	39,55	19,36	≤ 0,000***
Erreur	28	57,21	2,04	-	-
Total	41	6404,43	-	-	-

Tableau 46: Classement des paramètres biochimiques (Lipides) mesurés chez les adultes femelles de *B. germanica* nouvellement exuvies : test HSD de Tukey.

Métabolites	Ages	Témoins		DL ₃₀	
		Valeur moyenne	Groupes	Valeur moyenne	Groupes
Lipides	0	12,10	E	12,10	E
	1	40,19	D	20,94	D
	2	59,95	C	27,66	C
	3	95,14	B	40,54	B
	4	108,91	A	53,22	A
	5	37,60	D	8,62	EF
	6	19,23	E	6,18	F

2. 2. 3. 3. 1. 3. 2. Effet sur le contenu en lipide testiculaire

Le contenu en lipide testiculaire chez les séries témoins des adultes de *B. germanica* augmente significativement de 1 à 4 jours de l'ordre de $10,18 \pm 1,24 \mu\text{g}/\text{mg}$ de tissu à $48,87 \pm 3,80$; une diminution a lieu à 5 jours ($p \leq 0,003$) et 6 jours ($p \leq 0,000$).

Le test HSD de tukey classe le contenu lipidique testiculaire par âges chez les séries témoins montre l'existence de 5 groupes de classes, le premier groupe A renferme les individus à 4 jours; le deuxième groupes B renferme les individus témoins à 3 jour; le troisième groupe C renferme les individus témoins à 2 et 5 jour; le quatrième groupes D

renferme les individus témoins à 1 et 6 jours; le cinquième groupes E renferme les individus témoins à 0 jours (Tableau. 48).

L'analyse de la variance à un seul critère de classification montre un effet âge très hautement significative ($p \leq 0.000$).

Chez les séries traitées par l'indoxacarbe le contenu en lipides révèle une augmentation a 2, 3 et 4 jours ou il atteint un maximum à 4 jours ($43,07 \pm 2 \mu\text{g/mg}$ de tissu) puis une diminution est observé à 5 et 6 jours ($p \leq 0,000$).

Le test HSD de tukey classe le contenu lipidique testiculaire par âges chez les séries traitées montre l'existence de 5 groupes de classes, le premier groupe A renferme les individus traités à 4j; le deuxième groupes B renferme les individus traités à 3j; le troisième groupe C renferme les individus traités à 2 j ; le quatrième groupes D renferme les individus traité à 5 j; le cinquième groupes E renferme les individus traités à 0, 1, 6j (Tableau. 49).

La comparaison entre les séries témoins et traitées montre un effet de l'indoxacarbe sur les lipides testiculaires, les résultats obtenus montrent une diminution significative de 1 à 6 jours ($p \leq 0,000$; 0,02 ; 0,003; 0,05 ; 0,000 ; 0,000) (Tableau. 47, Fig. 29).

L'analyse de la variance à deux critères de classification montre un effet traitement, un effet âge et une interaction traitement-âge, très hautement significative ($p \leq 0.000$) (Tableau. 48).

Tableau 47: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en lipides chez les adultes mâles de *B. germanica* nouvellement exuvie ($m \pm s$; $n = 8$).

Age (jours)	Témoins Mâles	Traités Mâles
0	10,18 ± 1,24 a A	10,18 ± 1,24 a A
1	25,59 ± 0,54 a B	11,18 ± 1,01 b A
2	34,38 ± 0,15 a C	30,57 ± 1,88 b B
3	38,9 ± 1,07 a D	34,36 ± 0,51 b C
4	48,87 ± 3,80 a E	43,07 ± 2,00 b D
5	34,26 ± 0,11 a F	22,53 ± 0,73 b E
6	23,30 ± 0,36 a G	12,44 ± 0,15 b F

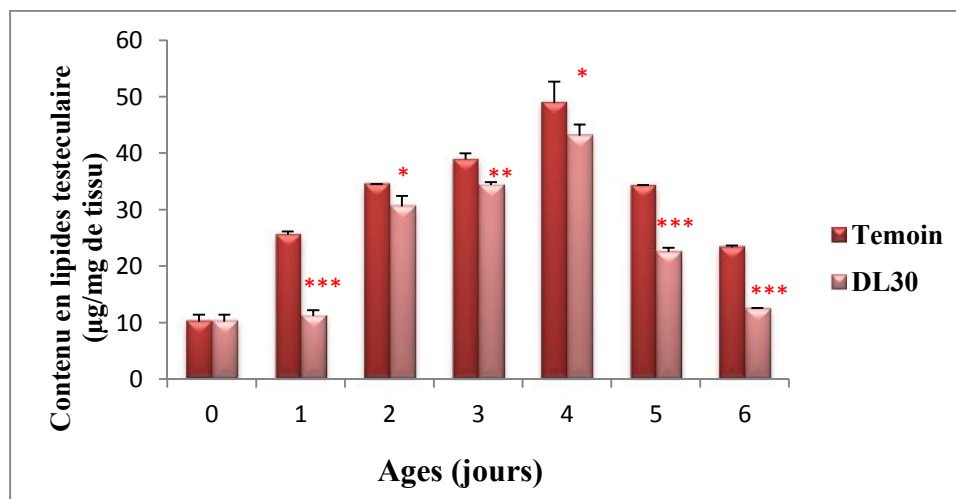


Figure 29. Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL₃₀) administré par ingestion sur le contenu en lipides chez les adultes mâles de *B. germanica* nouvellement exuvie ($m \pm s$; $n = 8$).

Tableau 48: Effet de le l'indoxacarbe sur le contenu en lipides chez les adultes mâles de *B. germanica* nouvellement exuvie en fonction de l'âge: analyse de la variance à deux critères de classification.

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Traitement	1	560,77	560,77	274,48	≤ 0,000***
Age	6	5549,16	924,86	452,69	≤ 0,000***
Interaction âge- traitement	6	237,29	39,55	19,36	≤ 0,000***
Erreur	28	57,21	2,04	-	-
Total	41	6404,43	-	-	-

Tableau 49: Classement des paramètres biochimiques (Lipides) mesurés chez les adultes mâles de *B. germanica* nouvellement exuvie : test HSD de Tukey.

Métabolites	Ages	Témoins		DL ₃₀	
		Valeur moyenne	Groupes	Valeur moyenne	Groupes
Lipides	0	10,18	E	10,18	E
	1	25,59	D	11,18	E
	2	34,39	C	30,57	C
	3	38,91	B	34,36	B
	4	48,87	A	43,07	A
	5	34,26	C	22,53	D
	6	23,30	D	12,44	E

2. 2. 4. Etude Histologique des ovaires

La structure des ovaires, le déroulement de l'ovogénèse ou la maturation ovocytaire a été estimé chez les adultes femelles de *B. germanica* nouvellement exuvie à différents âges (0, 2, 4, 6 jours) par l'observation microscopique des coupes histologiques colorées selon Martel (2005) et par des mesures de l'épaisseur de l'épithélium folliculaire.

Les observations microscopiques des coupes histologiques chez les séries témoins permettent de reconnaître trois stades de développement des ovocytes et des cellules folliculaires:

Stade I: Prévitéllogénèse regroupe les ovocytes de forme ovoïde. Ces ovocytes possèdent un noyau central et sont entourés par un épithélium folliculaire d'épaisseur ($1,39 \pm 0,08 \mu\text{m}$) ces ovocytes sont rencontrés chez les adultes femelles nouvellement exuvies à 0 et 2 jours.

Stade II: maturation des ovocytes qui correspond à la vitéllogénèse, le cytoplasme des ovocytes contient des granules denses, les cellules folliculaires s'accroissent autour de l'ovocyte et forme un épithélium plus épais ($2,09 \pm 0,09 \mu\text{m}$ à 2 jours et $3,71 \pm 0,3 \mu\text{m}$ à 4jours) (Fig. 30).

Stade III: fin de la vitellogénèse qui a lieu à 6 jours, le cytoplasme des ovocytes riche en inclusion lipidiques, contient des globules protéiques, les cellules folliculaires réduites et dégènèrent avec l'âge de l'ovocyte on observe un épithélium folliculaire fin ($2,67 \pm 0,18 \mu\text{m}$) avec un décollement et formation de l'enveloppe de l'œuf (Fig. 31).

Chez les séries traitées on constate que la vitellogénèse est ralentie les ovocytes sont de petite taille, on observe un épithélium folliculaire très fin qui se détache avec une épaisseur de $1,30 \pm 0,06\mu\text{m}$, absence de l'enveloppe de l'oeuf et des cellules folliculaires (Fig.31).

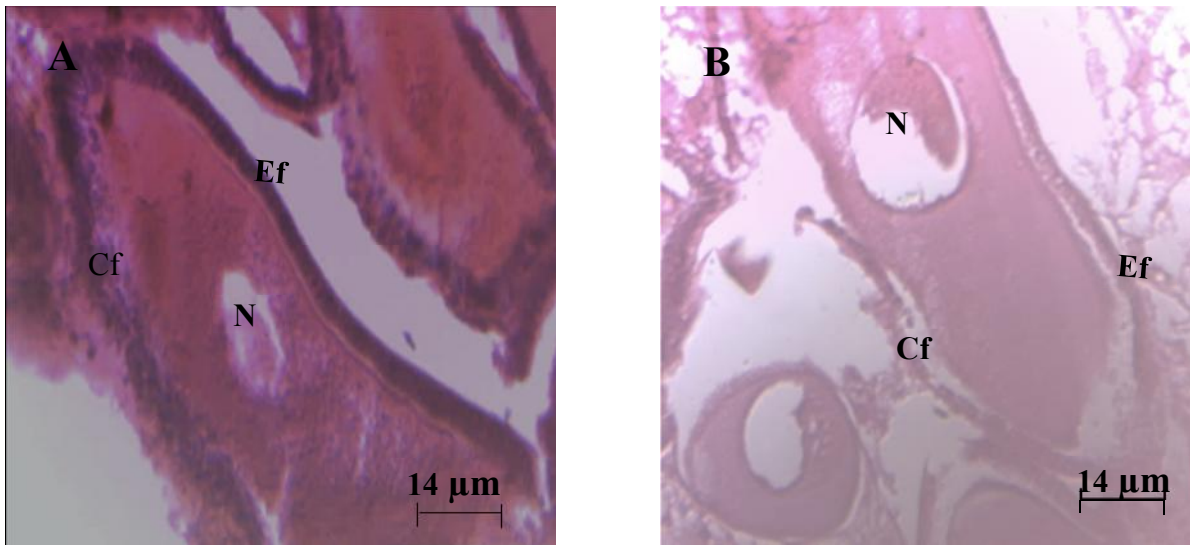


Figure 30: Coupes histologiques des ovaires des adultes âgés de 4 jours: ovocyte témoin (A), ovocyte traité (B) (N : noyau, Ef: epithelium folliculaires, Cf : cellules folliculaires).

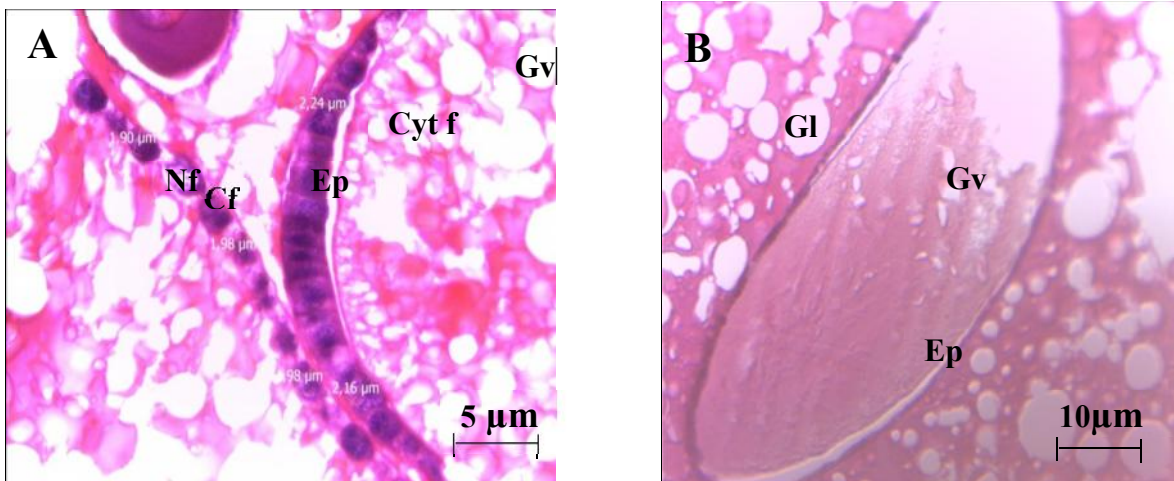


Figure 31: Coupes histologiques des ovaires des adultes âgés de 6 jours: ovocyte témoin (A), ovocyte traité (B) (CF: cellules folliculaires avec noyau(Nf), Ep : épithélium folliculaire, Cyt f : cytoplasme folliculaire, GL : globules lipidiques, Gv : globules vitellines).

2. 2. 4. 1. Effet de l'indoxacarbe sur l'épaisseur de l'épithélium folliculaire (μm) des ovocytes

Chez les séries témoins l'épaisseur de l'épithélium folliculaire au cours de la maturité sexuelle présente une augmentation très hautement significative de 0 à 4 jours ($p \leq 0,000$) et une réduction très hautement significative à 6jours ($p \leq 0,000$). Le test HSD de tukey classe l'épaisseur de l'épithélium folliculaire (μm) des ovocytes par âges, on constate l'existence de 2 groupes de classes, le premier groupe A renferme les individus témoins âges de 4 et 6j; le deuxième groupes B renferme les individus témoins (0 et 2jours) (voir les annexes).

Chez les séries traitées au cours de la maturité sexuelle, on observe une augmentation de l'épaisseur de l'épithélium folliculaire très hautement significative à 0, 2 et 4 jours ($p \leq 0,000$) et une diminution à 6jours. Le test HSD de tukey montre l'existence de 3 groupes de classes, le premier groupe A renferme les individus traites à 4j; le deuxième groupes B renferme les individus traités à 2 et 6j; le troisième groupes C renferme les individus traités à 0j (Tableau. 59) (Av1voir les annexes).

La comparaison entre les séries témoins et traitées montre une diminution significative de 0 à 6 jours de l'épaisseur de l'épithélium folliculaire par rapport aux témoins ($p \leq 0,000$; 0,006; 0,004; 0,01) (Tableau. 57, Fig. 32). Donc l'indoxacarbe réduit l'épaisseur de l'épithélium folliculaire.

L'analyse de la variance à deux critère de classification montre un effet âge, un effet traitement et une interaction âges traitement très hautement significative ($p \leq 0.000$) (Tableau. 58).

Tableau 57: Epaisseur de l'épithélium folliculaire (μm) des ovocytes pendant le cycle de développement ($m \pm s$; $n = 3$).

Jours	Epaisseur	Témoins	DL ₃₀
0		1,25 ± 0,05 a A	0,76 ± 0,04 b A
2		1,66 ± 0,03 a B	1,38 ± 0,08 b B
4		3,11 ± 0,09 a C	2,73 ± 0,06 b C
6		2,67 ± 0,05 a D	1,30 ± 0,06 b D

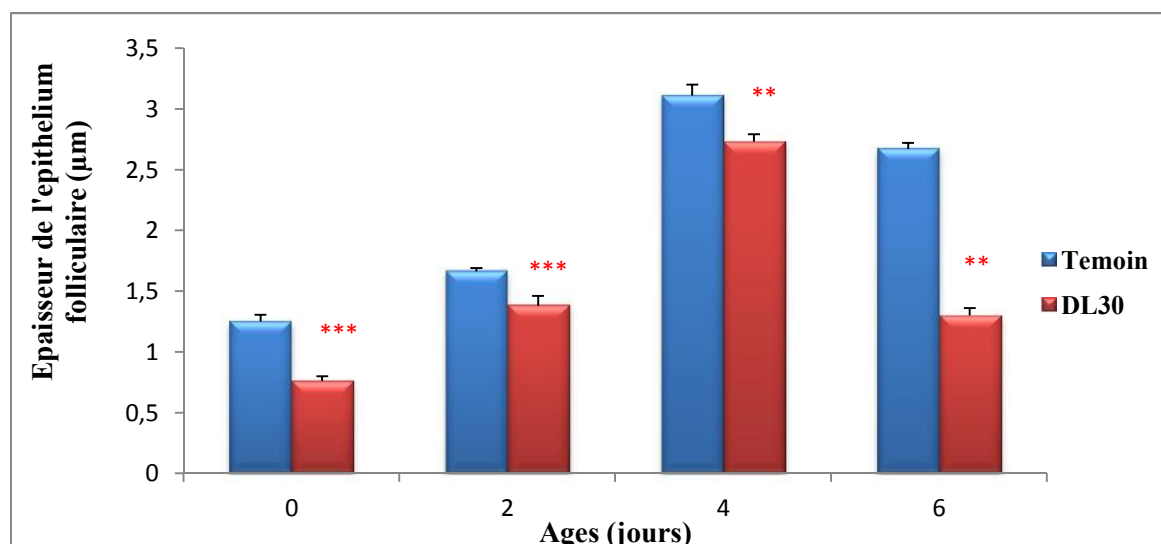


Figure 32: Effet de l'indoxacarbe sur l'épaisseur de l'épithélium folliculaire (µm) des ovocytes de *B. germanica* nouvellement exuvies ($m \pm s$; $n = 3$).

Tableau 58. Effet d'indoxacarbe administré par ingestion à l'émergence des adultes femelles de *B. germanica* sur l'épaisseur de l'épithélium folliculaire : analyse de la variance à un deux critère de classification. ($m \pm s$; $n = 3$).

Source	ddl	SCE	CM	F _{obs}	P
Ages	3	11, 8760	3, 9587	98, 59	≤ 0, 000***
Traitement	1	2, 3663	2, 3663	58, 93	≤ 0, 000***
Ages*traitement	3	1, 1162	0, 3721	9, 27	≤ 0,001***
Error	16	0, 6425	0, 0402	-	-
Total	23	16, 0010	-	-	-

Tableau 59: Classement de l'épaisseur de l'épithélium folliculaire (µm) au niveau des ovaires de *B. germanica* par le test tukey

Ages (jours)	Temoin		DL ₃₀	
	Valeur Moyne	Groupes	Valeur Moyne	Groupes
0	1, 25	B	0, 76	C
2	1, 66	B	1, 38	B
4	3, 11	A	2, 73	A
6	2, 67	A	1, 30	B

2. 3. Discussion

2. 3. 1. Effet de l'indoxacarbe sur la morphométrie des ovaires

Le développement post-embryonnaire des insectes est caractérisé par des mues successives et des métamorphoses permettant la croissance et le changement de forme de l'animal par des mues larvaires ou celles nécessaires au programme adulte (Gade *et al.*, 1997; Kozlova et Thunmel, 2000; Neubueser *et al.*, 2005). Cependant, l'activité ovarienne nécessite un double contrôle hormonal par l'hormone juvénile et par les ecdystéroïdes (Belles *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 2004). L'hormone de mue produite par différents organes ecdysiogéniques (Delbecque *et al.*, 1990) présente un rôle primordial durant tous les stades de développement, comprenant le contrôle de la fonction reproductrice (Koeppel, 1981; Soltani-Mazouni, 1994). En effet, l'hormone de mue (20E) maintient l'expression des gènes de la vitellogénine (Martin *et al.*, 2004), induit la différenciation folliculaire des ovaires (Beckemeyer et Lea, 1980), le développement des chambres de l'œuf (Buszczak *et al.*, 1999) et pourrait agir au cours de la choriogenèse (Belles *et al.*, 1993). Toute interférence dans l'homéostasie de l'une ou plusieurs hormones avec des sources exogènes de ces mêmes hormones ou de leurs analogues de synthèse (agonistes et antagonistes) peut conduire à une perturbation ou à une anomalie dans le développement des insectes ciblés (Riddiford, 1996).

Le potentiel reproducteur des insectes étant un facteur le plus important à leur pullulation, la perturbation de la capacité reproductrice semble être un outil fondamental dans le programme de lutte.

Les résultats obtenus chez les séries témoins de *B. germanica* montrant une augmentation du nombre, du poids, de la largeur et la longueur de l'ovocyte basale à deux, trois et quatre jours puis on observe une diminution à partir du cinquième jour. Cette diminution peut s'expliquer par le début de la ponte qui a lieu généralement entre le quatrième et sixième jour après l'exuviation au cours du premier cycle gonadotrophique ceci est en accord avec les travaux de Schall *et al.*, 1997; Maiza *et al.*, 2013 et Morakchi *et al.*, 2009; 2014; Messiaide *et al.*, 2016.

L'indoxacarbe administré par ingestion chez les femelles *B. germanica* le jour de l'exuviation adulte (DL₃₀) semble bloquer la ponte et entraîne une réduction du poids frais de l'ovaire, du nombre et aussi de la longueur, la largeur et du volume de l'ovocyte basal peut expliquer par la perturbation de l'ovogenèse et la ponte.

Ingestion de l'indoxacarbe sur la Reproduction

Ces perturbations du nombre d'ovocytes et de la morphométrie sont également observées après application topique de l'indoxacarbe et du spinosad (Maiza *et al.*, 2013). Ces résultats sont également observés chez *B. germanica* traité par d'autres insecticides tels que l'acide borique administré par ingestion à la $DL_{50} = 76,62 \mu\text{g/insecte}$ (Habes *et al.*, 2013). Une réduction des divers paramètres biométriques est également observée à 2, 4 et 6 jours après l'application topique de l'azadirachtine à la dose la plus forte (24 ppm) et seulement à 6 jours lors du traitement avec la plus faible dose (12 ppm) (Messiade *et al.*, 2006) ou encore chez la même espèce traité par l'imidaclopride et l'acide borique administré par injection (Messiad *et al.*, 2016). De la même manière, le RH-0345(mimétique des ecdystéroïdes) provoque une inhibition de la croissance ovocytaire (une réduction non seulement du nombre d'ovocytes et de la taille mais aussi du volume de l'ovocyte basal chez *B. germanica* (Rouibi, 2002)). Le pyriproxifène, analogue de l'hormone juvénile, inhibe la croissance des ovaires et entraîne l'immaturité de l'oothèque chez les adultes du *B. germanica* (kawada, 1988). Les mêmes résultats ont été observés aussi chez les adultes de *Blattella orientalis* traité par l'azadirachtine par ingestion à la dose $DL_{50} = 1937,51 \mu\text{g}$ et $DL_{90} = 8732,18 \mu\text{g}$ (Tine *et al.*, 2011) . La littérature note que l'azadirachtine affecte la synthèse des ecdystéroïdes ovariens et conduit à une altération de l'ovogénèse et de la croissance ovocytaire chez *locusta migratoria* et *Rhodnius prolixus* (Mordue *et al.*, 2005) et il affecte également aussi chez un crustacé ectoparasite *Argulus bengalensis* la maturation d'ovocytes et le développement embryonnaire (Banerjee *et al.*, 2014); ou encore chez une autre espèce de Blatte, la blatte de Madagascar *Gromphadorhina portentosa* traité par l'imidaclopride (Sawczyn *et al.*, 2012); ces mêmes résultats ont été observés chez *Tenebrio molitor* après application topique du RH-0345(agoniste ou analogue des ecdystéroïdes) (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001; Taïbi *et al.*, 2003). Le KK42 antagoniste des ecdystéroïdes et de l'hormone juvénile appliqué chez *T. molitor in vivo* (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001; Amrani *et al.*, 2004) et *in vitro* (Soltani *et al.*, 1997) entraîne aussi une réduction du nombre d'ovocytes, du poids frais des ovaires, de la taille de l'ovocyte basal ou encore de l'épaisseur de l'épithélium folliculaire. L'agoniste de l'HJ provoque une diminution du nombre d'ovocytes par paire d'ovaires mais aussi avec une augmentation de la longueur, de la largeur et du volume de l'ovocyte basal chez les femelles adultes de *Tenebrio molitor* (Lakbar, 1999); il supprime également l'embryogénèse chez *Bemisia tabaci* (Ishaaya et Horowitz, 1998). Le RH-5849 (mimétiques de l'hormone de mue) perturbe l'ovogénèse chez divers Lépidoptères (Aller et Ramsay, 1988; Salem *et al.*, 1997; Dhadialla *et al.*, 1998; Smagghe *et al.*, 2004) et Coléoptères (Wing et Ramsay, 1989). Le RH-5992 inhibe également le développement ovarien de plusieurs insectes lépidoptères tels que

Spodoptera exigua et *Leptinotarsa decemlineata* (Smagghe et Deggheele, 1994); cependant, aucun effet de cet insecticide n'est constaté chez *Bombyx mori* (Kumar *et al.*, 1999) et *Chrysoperla carnea* (Medina *et al.*, 2001). De la même manière l'imidaclopride affecte la morphométrie des ovaires chez un autre insecte Diptère *Aedes aegypti* (Antonio-Arreola *et al.*, 2011). Les inhibiteurs de la synthèse de la chitine, comme le diflubenzuron affecte aussi ces mêmes paramètres morphométriques chez les femelles de *Phyllonorycter ablancardella* (Marshall *et al.*, 1988), *Cydia pomonella* (Soltani et Soltani-Mazouni, 1992), *Oxya japonica* (Lim et Lee, 1982) et enfin *T. molitor* (Soltani-Mazouni, 1994). Des résultats similaires ont été obtenus avec le flucycloxuron, autre inhibiteur de la chitine, testé *in vivo* sur des femelles de *T. molitor* (Taibi *et al.*, 2000; Hami *et al.*, 2005).

Cette perturbation de la morphométrie des ovaires, dans les différents ordres d'insectes, par différents groupes de régulateurs de croissances, notamment les agonistes et antagonistes de la 20E et de la JH, provient du fait que l'activité ovarienne est contrôlée conjointement par ces deux principales hormones (Raikhel et Dhadialla, 1992). Par ailleurs les travaux de Maiza *et al.* (2013) ont montré l'inhibition de l'ovogenèse chez *B. germanica*, celle-ci est affectée par d'autres groupes de pesticides comme les carbamates (benfuracarbe) et les néonicotinoides (l'acétamipride).

2. 3. 2. Effet de l'indoxacarbe sur les vitellines

Chez les insectes, le développement et la reproduction sont contrôlés par des facteurs externes (température, nutrition, photopériode) mais aussi internes comme les hormones et les neurohormones (Glibert *et al.*, 2002; Lafont *et al.*, 2005; Gruntenko et Rauschenbach, 2008; Hiruma et Kaneko, 2013). le processus de la Vitellogénèse, une étape essentielle de la reproduction est effectué sous le contrôle endocrine et est régité principalement par l'HJ et la 20E (Telfer *et al.*, 2009; Delanoue *et al.*, 2010; Yamanaka *et al.*, 2013; Belles et Piulachs, 2015).

En effet L'hormone juvénile contrôle la synthèse des protéines nécessaire à la vitellogenèse et leur captation par l'ovaire (Gade *et al.*, 1997) mais contrôle également, sous l'action du cerveau, la transcription des gènes de la vitellogénine et leur synthèse (Li *et al.*, 2003; 2004). Cependant, l'activité ovarienne nécessite aussi un double contrôle hormonal par l'hormone juvénile et par les ecdystéroïdes (Belles *et al.*, 1993; Wang *et al.*, 2004). En effet, l'hormone de mue (20E) maintient l'expression des gènes de la vitellogénine (Martin *et al.*, 1995), induit la différenciation folliculaire des ovaires (Beckemeyer et Lea, 1980), le

développement des chambres de l'œuf (Buszczak *et al.*, 1999) et pourrait agir au cours de la choriogénèse (Belles *et al.*, 1993). Dans la plupart des insectes, une seule phospholipoglycoprotéine, appelée Vitelline pour la différencier de la vitellogénine, est la composante principale des œufs et sert à la fois au développement embryonnaire et dans certains cas précoce au développement des larves (Postlethwait *et al.*, 1980).

Le contenu des vitellines dans les ovaires des femelles adultes de *B. germanica* a été évalué à différents âges au cours de la maturité sexuelle. Les résultats obtenus chez les séries témoins montrent une évolution dans le contenu de vitellines à 2 jours corrélée avec la vitellogénèse pour diminuer à 5 jours juste avant l'oviposition. La baisse du contenu en vitellines ovarien au cinquième jour du cycle peut s'expliquer par la fin de la vitellogénèse. Chez *B. germanica* la prise de nourriture est cyclique et en rapport direct avec la reproduction, les femelles en phase de vitellogénèse présente une alimentation élevée tandis que les femelles gravides s'alimentent très peu (Cochran, 1991; Schal et Hamilton, 1990).

Chez *B. germanica* après traitement par l'indoxacarbe à une dose sublétales (DL₃₀) l'évolution du contenu en vitellines ovarien au cours de la maturité sexuelle révèle une inhibition de la vitellogénèse qui se traduit par une perturbation dans la captation des vitellines par les ovaires et dans la régulation endocrine contrôlant la vitellogénèse. Ceci est en accord avec les travaux de Maiza *et al.* (2010) qui montre que l'application topique de l'indoxacarbe chez les adultes de *B. germanica* réduit la vitellogénèse.

L'inhibition de la vitellogénèse chez *B. germanica* a été également observée avec d'autres biopesticides comme l'azadirachtine (Messiad, 2006) ou encore avec d'autres types d'insecticides tels que l'acide borique, insecticide inorganique (Kilani-Morakchi *et al.*, 2009), ou encore avec des insecticides organiques de synthèse comme le benfuracarbe, (carbamate) et l'acétamipride, (néonicotinoïde) (Maiza *et al.*, 2004). Un organophosphoré le fenitrothion affecte également l'ovogénèse chez la blatte de Madagascar *Gromphadorhina portentosa* (Sawczyn *et al.*, 2012). Par ailleurs une étude récente montre que l'azadiractine exerce un effet neurotoxique chez *Drosophila melanogaster* (Qiao *et al.*, 2014) conduisant probablement à des effets secondaires sur le processus de régulation neuroendocrine via les neuropeptides (allatostatines, allatotropines, PTTH) qui contrôlent la régulation hormonale de la reproduction.

2. 3. 3. Effet de l'indoxacarbe sur la vitellogenines

La vitellogénèse ou phase d'accroissement correspondant à l'accumulation des matériaux énergétiques variés: lipides (triglycérides, lipoprotéines), glucides (glycogène), protéines et sels minéraux (Cassier *et al.*, 1997). Les vitellogénines sont des protéines exogènes généralement élaborées par le corps gras sous forme de phospholipoglycoprotéines. Le corps gras, d'origine mésodermique, est l'un des tissus les plus importants pour les processus de maintenance et de reproduction (Gillott, 1995; Roma *et al.* 2010; Hansen *et al.*, 2014). Il constitue le site de synthèse et de stockage des glucides, lipides, protéines, vitelline, molécules indispensables dans les processus nutritifs et énergétiques (Kelly, 1992; VanHensden & Law, 1989; Dapporto *et al.*, 2008; Zhou & Miesfeld, 2009). Chez la plupart des insectes le vitellogenines est un précurseur de vitelline synthétisé dans le corps gras (Pan *et al.*, 1969, Engelmann 1979, Harnish *et al.*, 1982) sous forme de précurseurs simples ou multiples qui sont traités avant la sécrétion de l'hémolymphe (Raikhel *et al.*, 1990, Tufail *et al.*, 2014). Cette synthèse et l'accumulation de vitelline sont sous le contrôle hormonal (Hagedorn et Kunkel, 1979; Davey, 1981; Engelmann, 1990; Raikhel et Dhadiala, 1992; Bellés, 2004). Les vitellogénines sécrétées dans l'hémolymphe, sont captées par les ovocytes grâce à un processus d'endocytose récepteur-dépendant sous l'effet de l'hormone juvénile (Hj) (Engelman, 1979; Gade *et al.*, 1997). Elles sont ensuite stockées et prennent le nom de vitellines (Engelman, 1979). La vitellogénine est donc le précurseur du vitellus (Harnish et White, 1982). La maturation des ovocytes dépend donc des métabolites prélevés de l'hémolymphe (Telfer *et al.*, 2009) et de matériaux synthétisés par l'ovaire mais dépend essentiellement des protéines, composé majeur du vitellus (Cassier *et al.*, 1997).

Chez les femelles témoins de *B. germanica* le contenu en vitellogenine dans le corps gras augmente significativement de 1 à 4 jours ceci est relié à leur synthèse dans les deux compartiments (corps gras et ovaire) mais aussi dans la captation par les ovaires des vitellogenines synthétisées par le corps gras (Swevres *et al.*, 1999). En effet, l'évaluation des vitellogenines dans le corps gras montre une inhibition dans leur contenu. Cette réduction est en conformité avec la littérature ou il est noté que l'azadirachtine peut affecter le processus de reproduction chez les divers insectes via les vitellogenines (Mordue *et al.*, 2005); cet antagoniste des ecdystéroïdes et de l' HJ inhibe la synthèse des vitellogénines et leur incorporation par l'ovocyte chez *Labidura riparia* (Sayah *et al.* , 1996), *Chrcaysoperla carnea* (Medina *et al.*, 2004) ou encore chez *Rhipicephalus sanguineus* (Denardi *et al.*, 2010;

2011). L'azadiractine entraîne similairement une diminution dans le contenu en protéines ovarien chez *B. orientalis* suggérant une inhibition dans la synthèse des vitellogénines et/ou de leur captation par l'ovaire (Tine *et al.*, 2011). Le mode d'action de ce pesticide naturel est similaire aux autres types de régulateurs de croissance connus. L'inhibition de la vitellogénèse chez *B. germanica* a été également observée lors du traitement avec d'autre type d'insecticide comme le Spinosad et un oxadiazine l'indoxacarbe par application topique (Maiza *et al.*, 2013). En effet, l'application d'analogues de l'hormone juvénile, le methoprène ou encore le pyriproxifène entraînent une réduction dans le contenu en vitellogénines et vitellines chez divers insectes (Pinto *et al.*, 2000; Bai *et al.*, 2010); les mêmes effets sont observés avec les agonistes des ecdystéroïdes (Sridhara et Lee, 2013; Mordue *et al.*, 2005). On observe aussi une inhibition des vitellogenines dans le corps gras et les ovaires par l'application topique de la Neem Azal (l'azadiractine) chez *Drosophila melanogaster* (Boulahbel *et al.*, 2015). Par ailleurs, un inhibiteur de la synthèse de la chitine le teflubenzuron diminue la synthèse des vitellogenines et leur incorporation par les ovocytes chez *Locusta migratoria* (Acheuk *et al.*, 2012). A la synthèse des vitellogenines, l'HJ contrôle également la transcription des gènes des vitellogénines et leur synthèse (Hoffman et Serge, 1996; li *et al.*, 2003, 2004; Tufal *et al.*, 2014). Les deux hormones (HJ, ecdysteroides) montrent une dualité d'action dans le contrôle de la vitellogénèse en l'activant ou en l'inhibant (Swevers *et al.*, 2005, Rybcznski, 2005; Huang *et al.*, 2008) mais jouent surtout un rôle essentiel dans le maintien de l'expression des gènes des vitellogénines (Tufail *et al.*, 2014).

2. 3. 4. Effet de l'indoxacarbe sur la biochimie chez les deux sexes

La plupart des travaux se sont intéressés à l'ovaire et à sa maturation ainsi qu'à l'accumulation de certains constituants biochimiques notamment lors de la vitellogénèse. Les métabolites (protéine, lipide et glucide) ont des rôles essentiels dans la physiologie de l'insecte en particulier dans la reproduction et le développement (croissance, immunité, mue, reproduction, maturation sexuelle...) (Cassier *et al.*, 1997; Ramswany *et al.*, 1997; Taibi *et al.*, 2003) qui nécessite un apport quantitatif et qualitatif des divers métabolites à savoir les protéines, les lipides et les glucides (Cole, 2002). Ces constituants biochimiques jouent un rôle métabolique essentiel dans le développement du tractus génital (Kanost *et al.*, 1990).

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes. Ces dernières entrent dans divers réactions et peuvent assurer la catalyse

biochimique, la régulation hormonale et s'intègrent dans la cellule en tant qu'éléments structuraux en même temps que les glucides et les lipides (Jacobe *et al.*, 1961). Les protéines sont nombreuses, variées et qui sont représentées par les vitellines, qui proviennent des vitellogénines. La vitellogénine représente 60 à 90% du vitellus chez la plupart des insectes. Les protéines interviennent dans la formation des gamètes comme source énergétique (Borsa et Millet, 1992).

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 et Gilbert, 1967). Les glucides jouent un rôle essentiel dans la physiologie des insectes (Cassier *et al.*, 1997). Les glucides sont destinés à l'élaboration des produits génitaux (Chalabi, 2001).

Les lipides constituent également une source d'énergie essentielle chez les insectes (Beenaker *et al.*, 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leur synthèse et de leur stockage vers les organes utilisateurs via l'hémolymphe (Kelley *et al.*, 1992). Il présente une partie importante des réserves (Cassier *et al.*, 1997). Les lipides représentent aussi une source importante d'énergie chez les insectes ; ils jouent également un rôle très important lors de la vitellogénèse ainsi que dans la synthèse des prostaglandines (Stanley-Samuelson et Loher, 1986).

La maturation sexuelle chez les insectes nécessite un apport quantitatif et qualitatif des divers métabolites. Cet apport est sous la dépendance d'un contrôle hormonal exercé par les ecdystéroïdes et la HJ (Bellés, 1995 ; Ramswany *et al.*, 1997). L'importance des ecdystéroïdes est initiée dans le développement de l'insecte. Ces constituants biochimiques jouent un rôle métabolique essentiel dans le développement du tractus génital (Kanost *et al.*, 1990).

L'accumulation de ces composés biochimiques et énergétiques après l'application de l'indoxacarbe par ingestion *in vivo* à une dose sublétales $DL_{30} = 0,127\%$ chez les deux sexes des adultes de *B. germanica* nouvellement exuvée a été évaluée à différents âges (0, 1, 2, 3, 4, 5 et 6 jours) au cours de la maturité.

Chez les séries témoins on observe que le contenu des principaux composants biochimiques ovariens (protéines, glucides et lipides) augmenté de 1 à 4 jours avec un pic à 4 jours après l'émergence des adultes corrélée avec le processus de la vitellogénèse ceci est en accord avec les travaux de Kilani-Morakchi *et al.*, 2010; Maiza *et al.*, 2013; Messiad *et al.*, 2016, puis on observe une diminution à 5 jours avant l'oviposition, cette diminution au cinquième jour du cycle peut s'expliquer par la fin de la vitellogénèse correspond à une

réduction de l'alimentation. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Messiad *et al.*, 2016 et aussi avec ceux trouvés chez la blatte de Madagascar *Gromphadorhina portentosa* après l'administration de l'imidaclopride, ou une altération dans le métabolisme des carbohydrates et l'absorption intestinale de glucose sont notées (Sawczyn *et al.*, 2012).

Chez les séries traitées on observe que le contenu en protéines, glucides et lipides, augmente de 1 à 4 jours après l'émergence des adultes corrélée avec le processus de la vitellogenèse. De plus, les taux des différents métabolites ovariens sont significativement réduits à 5 jours, ceci peut être expliqué par l'effet neurotoxique de cet insecticide, qui perturbe la régulation endocrine contrôlant la vitellogenèse. Ceci est en accord avec les travaux de Messiad *et al.*, 2016 (l'imidaclopride, acide borique); Maiza *et al.*, 2013 (l'indoxacarbe par injection). Le KK-42 et le RH-0345 utilisés *in vivo*, réduisent les concentrations des protéines ovariennes chez *T. molitor* (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001) et chez *Anastrepha suspensa* par le RH-5849 (Lawrence, 1992). L'analyse de la variance à deux critères de classification montre un effet âge, un effet traitement et une interaction traitement-âge. De la même manière, le KK-42, anti ecdystéroïdes et hormone juvénile, perturbe la vitellogenèse en inhibant les concentrations des protéines ovariennes chez *T. molitor in vivo* (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001) et *in vitro* (Benlabiod-Boudraa, 1997). L'application d'un analogue de l'hormone de mue, le RH-0345, affecte également le contenu ovarien en protéines, glucides et lipides chez *B. germanica* (Rouibi, 2002), mais aussi chez *T. molitor* (Taibi *et al.*, 2003). Les travaux de Daas (2006) ont rapporté également que l'application de plusieurs mimétiques de l'hormone de mue tels que le RH-2485, le RH-5992 et le RH-0345 sur les femelles de *Eupolybothrus nudicornis* (Myriapode) récoltées au printemps ou en automne, réduisent les concentrations en protéines et en lipides dans l'hémolymphe et dans les tissus ovariens. Un effet similaire a été constaté par Daas *et al.* (2006) après injection de la 20E chez les femelles adultes de la même espèce.

L'activité des spermatozoïdes est également assurée par ces métabolites grâce à l'énergie fournie par le fluide séminal riche en phospholipides, glycogène et en acides aminés (Charniaux-Cotton & Payen, 1988). Le dosage des principaux constituants biochimiques testiculaires a mis en évidence un effet traitement très hautement significatif sur les taux des protéines, des glucides et des lipides affectés chez les séries traitées par rapport aux témoins. De plus, les taux des différents métabolites testiculaires sont significativement réduits à 5 jours. Les travaux de Bensalem & Soltani-Mazouni (2013) et Meskache *et al.*, (2014) sur les testicules d'*E. kuehniella* par l'administration de l'enalapril et le lisinopril et les mimétiques de l'hormones de mue entraîne une diminution significative du taux des glucides et des

protéines testiculaires. De même, une réduction dans les taux des protéines, glucides et lipides observe chez *Blatella germanica* traité au RH-0345 (Rouibi, 2002) ainsi que chez *T. molitor* (Soltani-Mazouni et Soltani, 1992) et chez *Cydia pomonella* (Soltani et Soltani-Mazouni, 1992) traités par le DFB. La diminution de taux en protéines testiculaires chez *S. littoralis* après traitement par le chlorfluazuron est expliquée par l'accumulation des protéines dans l'hémolymphe et l'interférence avec les mécanismes contrôlant la spermatogénèse (Perveen, 2011). Ainsi que chez *T. molitor* (Soltani-Mazouni et Soltani, 1992).

En effet la réduction qui est enregistrée au niveau de la composition biochimique ovarienne et testiculaire est accompagnée par une diminution significative du poids frais des ovaires et des testicules, ce qui a été reporté par d'autres travaux, notamment chez *B. germanica* traité par le RH-0345 (Rouibi, 2002). une réduction dans les taux des protéines, glucides et lipides est décrite chez *C. pomonella* (Soltani & Soltani-Mazouni, 1992) traités par le DFB. Une réduction de taux des protéines chez *Anastrepha suspensa* par le RH-5849 (Lawrence, 1992).

Une diminution de la tréhalosémie est également constatée après injection de la 20-hydroxyecdysone chez les nymphes de *T. molitor* (Soltani, 1990). Cependant le traitement avec un analogue de la JH, le pyriproxifène, inhibe les concentrations en protéines hémolympatiques chez *T. molitor* (Aribi *et al.*, 2001, 2006). Les inhibiteurs de la chitine tels que le diflubenzuron, perturbent également l'évolution des lipides chez *T. molitor* aussi bien dans l'hémolymphe (Soltani et Soltani-Mazouni, 1992) que dans les corps gras (Kbebbeb *et al.*, 2008). Le traitement de *Spodoptera exigua* et *Leptinotarsa decemlineata*, par le RH-0345 et le RH-5992, induit après une augmentation transitoire, une diminution des taux de protéines hémolympatiques avant la mort des individus traités (Smagghe *et al.*, 1996). Ceci peut être dû à l'effet de ces mimétiques des ecdystéroïdes qui provoquent une inhibition de l'alimentation. A l'opposé, les travaux de Ashok et Dutta-Gupta (1991) ont rapporté que le traitement chez *Corcyra cephalonica* avec le RH-5849 stimulent *in vitro* la synthèse des protéines par les corps gras.

2. 3. 5. Etude Histologique des ovaires

Le système reproducteur des insectes se compose: des ovarioles, oviductes, spermathèque, glandes accessoires, vagin et ovipositeur (Davey, 1985; Chapman, 1998). Des études ont montré que l'ovaire de *B. germanica* est de type panoistique (Roth, 1970), se compose des ovarioles en forme de faisceaux relié par une paire d'oviductes. Ces ovarioles contiennent des ovocytes riches

Ingestion de l'indoxacarbe sur la Reproduction

en vitellus (Klowden *et al.*, 2002), ils sont caractérisés par l'existence de deux zones fonctionnelles: le germanium apical et le vitellarium (Cassier *et al.*, 1997; Chapman, 1998).

Le germanium apical est formé par des cellules germinales. Ces cellules germinales contiennent des ovogonies, des tissus préfolliculaires, des ovocytes primaires et des mésodermes. Le germanium est le siège de la multiplication des ovogonies qui donneront des ovocytes sans aucune formation des cellules nourricières. Ces ovocytes sont ensuite produits par des divisions méiotiques entourées par des cellules folliculaires impliquées dans le dépôt du vitellus et la chorionogenèse (Chapman, 1998). Le dépôt de substances nutritives dans l'ovocyte est plus élevé dans le vitellarium (Klowden *et al.*, 2002).

Le vitellarium est le siège de la vitellogenèse, il permet aux ovocytes à différents stades de développement et en disposition linéaire d'accumuler des réserves (vitellus) et d'acquérir des enveloppes protectrices sécrétées par le follicule appelée enveloppe vitelline et chorion (Raikhel et Dhadialla, 1992).

L'évolution de la maturité de l'ovaire de *B. germanica* chez les adultes femelles nouvellement exuvie a été réalisée sur des coupes histologiques pendant le cycle de développement (0, 2, 4, 6 jours).

Chez les séries témoins l'observation microscopique des coupes histologiques a montré trois stades de maturation des ovaires: la prévitellogenèse, la vitellogenèse active et la fin de la vitellogenèse. Les mensurations de l'épaisseur de l'épithélium folliculaire des ovaires à différents âges augmentent de 0 jour à 4 jours puis diminuent à 6 jours ceci est dû peut être à la mise en place de l'enveloppe de l'œuf qui est le chorion. Nos résultats sont en accord avec les travaux de Pascual *et al.*, 1992 qui ont démontré que la prévitellogenèse chez *B. germanica* commence de 0 à 2 jours, la vitellogenèse active a lieu à 3 jours, la fin de la vitellogenèse et la Choriogénèse a lieu à 7 jours. Ceci est aussi confirmé par les travaux de Schall *et al.*, 1997 et Kilani-Morakchi *et al.*, (2009) que la vitellogenèse active chez *B. germanica* a lieu généralement à 4 jours au cours de la maturité sexuelle. Au plan microscopique, Gillott & Friedel (1976) ainsi que Raccaud-Schoeller (1980) ont montré que chez les insectes, les ovocytes subissent la prévitellogenèse qui se déroule dans le germanium. La vitellogenèse, phase de maturation se déroule dans le vitellarium. Ces deux phases ont été observées par Beaumont et Cassier (1983); San-whouly *et al.*, 2008 chez *Locusta migratoria* et chez *Schistocerca gregaria*. Ces observations ont été confirmées par celles que nous avons faites chez *B. germanica*

Ingestion de l'indoxacarbe sur la Reproduction

L'indoxacarbe administré aux adultes femelles de *B. germanica* à une dose sublétales DL₃₀ (0,127%) provoque des altérations dans la structure des ovaires; les ovocytes sont petites, le cytoplasme est moins riche en inclusions, les cellules folliculaires sont réduites. Nos résultats sont en accord avec ceux San-whouly et *al.*, 2008 sur *S. gregaria* traité par ingestion à la dose sublétales du féntrothion. L'indoxacarbe diminue l'épaisseur folliculaire ceci est confirmé par les travaux de Soltani-Mazouni *et al.*, 2001; Soltani *et al.*, 1997; Amrani *et al.*, 2004 chez *T. molitor* *in vivo* et *in vitro* en utilisant le KK42 antagoniste des ecdystéroïdes et de l'hormone juvénile. Le fénoxycarbe, autre agoniste de l'HJ, utilisé *in vitro*, chez les femelles de *Solono psisinvica*, perturbe la croissance des cellules folliculaires et diminue leur volume (Glancey et Banks, 1988). En effet l'indoxacarbe affecte la vitellogénèse et perturbe la reproduction de *B. germanica*.

Le contrôle de l'ovogénèse des insectes est associé à des hormones telles que l'hormone juvénile et l'ecdysone (Engelmann, 1979; Nordin et Kunkel, 1985). Ces hormones contrôlent la synthèse de la vitelline et de ses récepteurs (Raikhel et Dhadiala, 1992); La perméabilité des cellules folliculaires (Sevala et Davey, 1989; Raikhel et O. Lea, 1985); et l'absorption de la vitelline (Stoffolano *et al.*, 1992).

Selon Dollander et Fenart (1979), le nombre d'assises des cellules folliculeuses varie en fonction de l'espèce ou pour la même espèce, en fonction du stade de développement. Gillott et Friedel (1976) signalent que l'ovocyte d'insecte, en quittant le germarium est entouré d'un tissu préfolliculaire comprenant trois assises cellulaires. Ces assises se réduisent finalement en une seule et se transforment en un épithélium colonnaire. Cet épithélium finit par s'étirer et desquamer à la fin de la maturation

Le développement graduel des ovocytes après leur apparition chez les insectes a été associé à un nombre élevé de cellules du corps gras lieu de la synthèse de la vitellogénine (Palli et Locke, 2008). Les ecdystéroïdes sont liée à l'impact sur la reproducteur et le développement, elles sont synthétisés par les cellules folliculaires ovariennes, stimulent l'ovulation, ont un rôle majeur dans la maturation des œufs et contrôlent le développement embryonnaire (Gäde et Hoffmann, 2005; Lafont *et al.*, 2005; Parthasarathy *et al.*, 2010; Ganz *et al.*, 2011; König *et al.*, 2011; Ting., 2013).

2. 4. Conclusion

L'indoxacarbe, administré par ingestion à la $DL_{30} = 0,127\%$ aux adultes de *B. germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) nouvellement exuvie à différents âges (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 jours), a été évalué sur le processus de la reproduction. L'indoxacarbe entraîne une réduction significative du poids des ovaires et des paramètres morphométriques des ovocytes (nombre, longueur, largeur, volume de l'ovocyte basal) chez les séries traitées, il semble bloquer la ponte et entraîne aussi une diminution du contenu en vitellogénines dans le corps gras, en vitellines et biochimique (glucide, lipide, protéine) dans les ovaires comparativement aux témoins. On enregistre chez les mâles une réduction de la composition biochimique testiculaire et du poids frais des testicules.

L'observation microscopique des coupes histologiques des adultes nouvellement exuvies de *B. germanica* aux différents âges (0, 2, 4, 6 jours), montre que l'indoxacarbe provoque une perturbation des stades de la vitellogenèse avec une altération structurale de l'épithélium de l'ovocyte et une réduction très hautement significative de l'épaisseur de l'épithélium folliculaire. Cet insecticide perturbe ainsi le processus de reproduction.

En effet l'indoxacarbe entraîne une inhibition de la vitellogenèse qui peut être expliqué par la perturbation de l'ovogenèse et de la ponte, il affecte aussi le processus de la spermatogenèse.

Conclusion générale et perspectives

Les expérimentations ont été menées chez *B. germanica*: (Dictyoptera: Blattelliade), en vue d'évaluer l'efficacité d'un insecticide l'indoxacarbe administré par ingestion le jour de l'exuviation adulte. Il provoque chez l'insecte un tremblement, une désorientation des mouvements et un abdomen enflé, une paralysie des pattes puis l'individu meurt. Les DL_{30} et DL_{50} sont respectivement 0,127% et 0,262%, l'insecticide manifeste donc une relation dose-réponse.

L'indoxacarbe testé à la DL_{30} (0,127%) chez les adultes de *B. germanica* nouvellement exuvie à différents âges (0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 jours), a été évalué sur divers paramètres de la reproduction au cours du premier cycle gonadotrophique :

les résultats des paramètres morphométriques (nombre d'ovocytes, poids, longueur, largeur et volume de l'ovocyte basal) montre une réduction du nombre d'ovocytes, la longueur, la largeur, volume de l'ovocyte basal et du poids frais de l'ovaire peut être expliqué par une perturbation de l'ovogenèse et de la croissance ovocytaire .

L'indoxacarbe à la dose subletale (DL_{30}), affecte l'évolution du contenu en vitellines et vitellogénines (ovaires, corps gras) au cours de la maturité sexuelle par une inhibition de la vitellogénèse qui se traduit par une perturbation dans la captation des vitellines par les ovaires et dans la régulation endocrine contrôlant la vitellogénèse.

Les constituants biochimiques (protéines, glucides et lipide) ovariens et testiculaires sont également affectés par l'indoxacarbe. On constate une réduction très significative des taux des trois métabolites comparativement aux témoins. Ceci est dû à l'effet neurotoxique de cet insecticide qui affecte la reproduction en perturbant la régulation endocrine contrôlant la vitellogenèse, le processus de la spermatogenèse et provoque des modifications biochimiques.

L'étude histologique des ovaires montre que l'indoxacarbe testé à un effet sur le déroulement de la vitellogénèse où on constate des ovocytes ont une forme ovoïde c'est la prévitellogenèse, L'apparition des granules denses dans le cytoplasme de l'ovocyte et le noyau bien développé de 2 à 4 jour c'est début de la vitellogénèse et à 6 jours la fin de la

Conclusion générale et perspectives

vitellogénèse ou les cellules folliculaires réduites et dégèrent ou le décollement d'épithélium ovocytaire et la formation de l'enveloppe de l'œuf

A l'avenir il serait intéressant de compléter ce travail :

- Par une étude histologique des testicules, des corps gras et ultrastructure des ovaires.
- Un dosage des ecdystéroïdes et des hormones endocrines.
- Etude qualitative de protéines ovariennes
- Etude du potentiel reproducteur
- l'effet de cette molécule sur l'enzyme neurotransmetteur acétylcholine, les enzymes de détoxification notamment les estérases, les monooxygénases.

RESUME

Les blattes sont des insectes nuisibles du fait de leur tendance à proliférer et de leur facilité d'adaptation. Elles peuvent transmettre des agents pathogènes et provoquer des allergies chez l'homme. En Algérie *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae), est l'espèce la plus répandue dans la région d'Annaba. La lutte chimique contre les Blattes a été effectuée avec des insecticides conventionnels tels que : les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates qui ont provoqué un phénomène de résistance chez *B. germanica* et des effets néfastes sur les organismes non visés. L'indoxacarbe, une nouvelle molécule non-répulsive efficace à faible dose qui appartient à la famille des oxadiazines a été testée chez *B. germanica* afin d'évaluer son efficacité d'une part et d'autre part examiner les effets de cet insecticide sur les différents paramètres de la reproduction

Etude toxicologique : L'administration *in vivo* par ingestion de l'indoxacarbe à différentes doses (0, 125 ; 0,25 ; 0,5 ; 0,75 ; 1 ; 2%) le jour de l'exuviation des adultes de *B. germanica*. La dose sublétales correspondant à la DL_{30} est 0,127% et les doses létales correspondant à la DL_{50} est de 0,260 % et la DL_{90} est de 1,720% ont été déterminés grâce à un logiciel graph pad prisme. L'insecticide manifeste donc une relation dose-réponse qui se traduit par une désorientation puis d'une paralysie des pattes et un abdomen enflé et l'insecte meurt.

Reproduction : l'indoxacarbe a été administré à la dose sublétales DL_{30} est 0,127% aux adultes de *B. germanica* à différents âges (0, 1, 2, 3, 4,5 et 6 jours) sur les paramètres morphométriques (nombre, longueur, largeur, volume de l'ovocyte basal et poids de l'ovaire) et les vitellines et vitellogénines (ovaires, corps gras) et sur les paramètres biochimiques (protéines, glucides et lipides). L'indoxacarbe réduit de manière significative le nombre, la longueur, la largeur, le volume de l'ovocyte basal et le poids, mais aussi une diminution dans le contenu ovarien en vitelline, vitellogénine et biochimique (glucide, lipide, protéine) chez les deux sexes comparativement aux témoins, en effet l'indoxacarbe entraîne une inhibition de la vitellogenèse.

Etude histologique : les coupes histologiques (Martoja & Martoja, 1967) observées sous microscope photonique, montre que l'indoxacarbe provoque une altération structurale de l'épithélium de l'ovocyte et des stades de la vitellogenèse et révèle une réduction de l'épaisseur d'épithélium folliculaire réduit très hautement significative, Cet insecticide perturbe ainsi le processus de reproduction.

Mots clés : *Blattella germanica*, l'indoxacarbe, toxicité, morphométrie, vitellines, vitellogenine, biochimies, histologie.

Abstract

Cockroaches are insect pests because of their tendency to proliferate and their ease of adaptation. They can transmit pathogens and cause allergies in humans. In Algeria *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae), is the most widespread species in the Annaba region. Chemical control of cockroaches was carried out using conventional insecticides such as: organochlorines, organophosphorus compounds and carbamates which resulted in resistance to *B. germanica* and adverse effects on non-target organisms. Indoxacarb, a new low-dose, effective non-repellent molecule belonging to the oxadiazine family, was evaluated on the efficacy of this insecticide on *B. germanica* reproduction by examining the different parameters:

Toxicological study: In vivo administration by ingestion of indoxacarb at different doses (0, 125; 0.25; 0.5; 0.75; 1; 2%) on the day of adult exuviation of *B. germanica*. The sublethal dose corresponding to the LD₃₀ is 0.127% and the lethal doses corresponding to the LD₅₀ is 0.260% and the DL₉₀ is 1.720% determined using graph prism software. The insecticide thus exhibits a dose-response relationship which results in disorientation then paralysis of the paws and a swollen abdomen and blocks the sodium channels of the nerve cells.

Reproduction: indoxacarb was administered at the sublethal dose to adults of *B. germanica* at different ages (0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 days) on morphometric parameters (number, length, width, Basal ovocyte and ovarian weight) and vitelins and vitellogenins (ovaries, fat) and biochemical parameters (proteins, carbohydrates and lipids). Indoxacarb significantly reduced the number, length, breadth, volume of the basal oocyte and weight, but also decreased ovarian vitelline, vitellogenin and biochemical content (carbohydrate, lipid, protein) Controls, indeed indoxacarb leads to an inhibition of vitellogenesis.

Histological study: histological sections (Martoja & Martoja, 1967) observed under a photonic microscope show that indoxacarb causes a structural alteration of the oocyte epithelium and reveals a reduction in the thickness of follicular epithelium reduced very highly This insecticide thus disrupts the reproductive process.

Key words: *Blattella germanica*, indoxacarb, toxicity, morphometry, vitellins, vitellogenin, biochemistry, histology.

ملخص:

الصراصير هي آفات بسبب ميلها لتتكاثر وقدرتها على التكيف. ويمكن أن تنتقل الجراثيم وتسبب الحساسية لدى البشر. في الجزائر (*Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae))، هو النوع الأكثر شيوعاً في منطقة عنابة. تم إجراء مكافحة كيميائية ضد الصراصير بالمبيدات الحشرية التقليدية مثل مركبات الكلور العضوية، الفوسفات العضوية والكربونات التي تسببت ظاهرة المقاومة في *B. germanica*. الجرمانى وأثار سلبية على الكائنات غير المستهدفة. Indoxacarbe هو مبيد حشري جديد غير ضار فعال بجرعة منخفضة تنتمي إلى عائلة oxadiazines تم تقييم الأثار هذا المبيد على تكاثر *B. germanica* من خلال دراسة مختلف المعايير:

دراسة السمية: إدارة في الوسط بواسطة ابتلاع indoxacarbe جرعات مختلفة (0.125، 0.25، 0.50، 0.75، 1 و 2%) في اليوم الذي تبلغ و تكبر *B. germanica* جرعة دون المميتة المقابلة ل ($DL_{30} = 0.127\%$) و الجرعات المميتة $DL_{50} = 0.260\%$ $DL_{90} = 1.720\%$ التي تم تحديدها باستخدام برنامج graph pad prisme. وبالتالي المبيد يؤثر على الحشرات ويخلق علاقة بين الجرعة والاستجابة مما يؤدي إلى الارتباك والشلل في الساقين وانتفاخ البطن وكتل قنوات الصوديوم في الخلايا العصبية

التكاثر:

Indoxacarbe كانت تدار على جرعة دون المميتة للبالغين *B. germanica* 6, 5, 4, 3, 2, 1, 0 على المعالم المورفومترية المظهرية (عدد البويضات، الطول والعرض وحجم البويضة القاعدية) والكيمياء الحيوية (صفار البيض و vitellogénine) (المبايض، والدهون) والكيمياء الحيوية (البروتين، والكربوهيدرات والدهون) في كلا الجنسين خلال أول دورة موجهة للغدد التناسلية. Indoxacarbe يقلل بشكل ملحوظ في عدد البويضات، الطول والعرض وحجم البويضة القاعدية و ايضا يقلل في صفار البيض و vitellogénine والكيمياء الحيوية (البروتين، والكربوهيدرات والدهون) بالمقارنة مع الشاهد و في الواقع يؤدي indoxacarbe إلى تثبيط صفار البيض

الدراسة نسيجية: أقسام النسيجية (Martoja و Martoja 1967) لوحظت تحت المجهر الضوئي، يدل على أن Indoxacarbe يسبب الضرر الهيكلي لغشاء البويضة ويكشف عن انخفاض في سمك الغشاء للبويضة الجريبي بتخفيض كبير للغاية جداً، هذا المبيد يسبب خلل في عملية الإنجاب و التكاثر.

الكلمات المفتاحية:

Blattella germanica، l'indoxacarbe، vitellogenine، سمية، المعالم المورفومترية، صفار البيض

، الدراسة نسيجية، والكيمياء الحيوية

Références bibliographiques :



- Abbott w. s., 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol*, 18(2), 265-267.
- Acheuk, F., Cusson, M., Doumandji-Mitiche, B. 2012.** Effects of a methanolic extract of the plant *Haplophyllum tuberculatum* and of teflubenzuron on female reproduction in the migratory locust, *Locusta migratoria* (Orthoptera: Oedipodinae). *J Insect Physiol.* **58**(3): 335-341.
- Ahmed F. S., 2007.** Toxicological studies on boric acid, imidacloprid and fipronil and their binary mixtures as insecticides on *German Cockroach Blattella germanica* (L) (Dictyoptera: Blattellidae).
- Alves A. P., Allgeier W. J. and Siegfried B. D., 2008.** Effects of the synergist S,S,S-triphosphorotrithioate on indoxacarb toxicity and metabolism in the European *Ostrinia nubilalis* (Hübner). *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 90: 26-30.
- Amat C, Lapied B, French A. S, Hue B. 2000.** Na⁺-dependent neuritic spikes initiate Ca²⁺-dependnet somatic plateau action potentials in insect dorsal paired median neurons. *J Neurophysiol Amdur.*
- Amrani L. Zerguine K., Farine J. P., Smagghe G., Soltani- Mazouni N., 2004.** Imidazole derivative KK42 reduces ecdysteroid titers and interfere with reproductive processes in adult females of *Tenebrio molitor*. *Pestic. Biochem. Physiol:* **80**: 163-172.
- Appel A. G, Tanley M. J., 2000.** Laboraory and field performance of consumer imidacloprid gel bait against *German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae)* in Indonesia. *Entomol. Res,* 39, 114- 118.
- Appel A. G., 1990.** Laboraory and field performance of consumer bait products for *German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae)* control. *J. Econ. Entomol* , 83(1), 153- 159.
- Aribi N., 1997.** L'entrée en métamorphose chez *Zophoba atratus* (Coleoptera : tenebrionidae): Analyse des ecdystéroïdes ; effet de l'isolement (groupement); effet de régulateurs de croissance et étude des sources hormonales. Thèse Doctorat, Université d'Annaba, Algérie.

- Aribi N., Lacbar C., Smagghe G., & Soltani N. 2001.** Comparative action of RH-0345 and pyriproxyfen on molting hormone production and protein analysis in mealworm pupae. *Med. Fac Landbouww. Univ. Gent* **66 (2a)**: 445-454.
- Aribi N., Smagghe G., lakbar S., Soltani- Mazouni N., Soltani N. 2006.** Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, on development of the mealworm *Tenebrio molitor*. *Pestic. Biochem. Physiol*, 84, 55-62.
- Ashok. M et Dutta-Gupta. A. 1991.** In vitro effect of nonsteroidal ecdysone agonist RH 5849 on fat body acid phosphatase activity in rice moth, *Corcyra cephalonica* (Insecta). *Biochem Int.* 1991 May; 24(1):69-75.
- Attardo G., Hansen I., Raikhel A. 2005.** Nutritional regulation of vitellogenesis in mosquitoes: implications for autogeny. *Insect Biochem Molec.* 35: 661-675.
- Antonio-Arreola Gloria Elsa; Roger López-Bello ; Daenna Kaori Romero-Moreno ; Daniel Sánchez. 2011.** Laboratory and field evaluation of the effects of the neonicotinoid imidacloprid on the oviposition response of *Aedes (Stegomyia) aegypti* Linnaeus (Diptera: Culicidae). Instituto de Estudios Superiores de Chiapas, Escuela de Medicina Humana Campus Tapachula, Tapachula, Chiapas, México. p: 997-1001 doi: 10.1590.
- Asahina, M., Fugo, H., & Takeda, S. 1994.** Ecdysteroids synthesis in dissociated cells of the prothoracique glands of silkworm, *Bombix mori*. *Zool.*, **11(1)** 107-111.



- Badi. A., 2014 :** Effets sublétaux d'un régulateur de croissance des insectes, le tébufénozide, sur la communication chimique et la reproduction de *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae). Thèse de doctorat en Biologie Animale. Université d'Annaba. Algérie. 84p.
- Bai, H., Gelman, D. B. & Palli, S. R. 2010.** Mode of action of methoprene in affecting female reproduction in the African malaria mosquito, *Anopheles gambiae*. *Pest Manag Sci.* **66(9)**: 936-943.

- Baltaev, U. A., & Shangaraeva, G. S. 2000.** Zooecdysteroids: Distribution and Role in Arthropod Life Cycles. *Chem Natur Comp.* 36 (6) : 543-559.
- Banerjee. A., Manna. S., Saha. S. K., 2014.** Effect of aqueous extract of azadirachta indica A. Juss (neem) leaf on oocyte maturation, oviposition, reproductive potentials and embryonic development of a freshwater fish ectoparasite *Argulus bengalensis* Ramakrishna, 1951 (Crustacea: Branchiura). *Parasitol. Research*, 113(12), 4641- 4650.
- Beaumont A. & Cassier P., 1983.** Classe des Insectes. In : *Biologie Animale : des Protozoaires aux Métazoaires Epithélioneuriens T 2.* Eds. Dunod Univ., pp. 632-833.
- Beckemeyer. E. F., Lea. A. O. 1980.** Induction of follicle separation in the mosquito by physiological amounts of ecdysterone. 10.1126/science.209.4458.819[PubMed].
- Beenakers A. M. T. H., Vander Host D.G., Van Marrewijk W. J. A., 1985.** Insect lipids and lipoproteins and their role in physiological process. *Prog. Lipid. Res.* 24: 19-67.
- Bell W. J., 1990 .** Biology of the cockroach. In *Cockroaches as Models for Neurobiology: Applications in Biomedical Research.* I. Huber, E.P.Masler, and B.R. Rao, editors. CRC Press. Boca Raton, Vol. 1.
- Bell W. J., Roth, L. M & Nalepa, C. A. 2007 .** Cockroach: ecology, behavior, and natural history . Blatimore (MD): Johns Hopkins University Press.
- Bellés X., 1995.** Interaction between corpora allata fat body and ovary in insect reproduction: which controls which Netherlands. *J. Zool.*, 45: 152-156.
- Bellés X., 2005.** Vitellogenesis directed by juvenile hormone. In. *Reproductive Biology of Invertebrates*, Vol. 12 Part B: Progress in vitellogenesis A. S. Raikhel (Eds.), Science Publishers, Enfield, USA/Plymouth, UK, pp. 157-197.
- Bellés. X & Maestro J. L. 2005.** Endocrine peptides and insect reproduction. *Invert.Reprod. Develo.*, 47 (1): 23-37.
- Bellés X., Cassier P., Cerdà X., Pascual N., André M., Rosso Y., Piulasha M. D., 1993.** Induction of choriogenesis by 20-hydroxyecdysone in the German cockroach *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* 35: 405-426.
- Benlabiod-boudraa I. 1997.** Activité in vitro d'un inhibiteur de la biosynthèse des ecdystéroïdes, KK-42, sur le développement des ovaires de *Tenebrio molitor* L : Aspects morphométriques et biochimiques. *Mém. Mag., Univ. Annaba*, 65 p.

- Bensalem F., Soltani-Mazouni N., 2013.** Effect of Two Inhibitors of the Angiotensin Converting Enzyme in the Mediterranean Flour Moth: Biochemical Composition and Ecdysteroid Amount of Gonads. *European Journal of Scientific Research*. Vol. 107 No 2:186-194.
- Besard I., Mommaerts V., Abdu-Alla G., Smagghe G., 2011.** Lethal and sublethal side-effect assessment supports a more benign profile of spinetoram compared with spinosad in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Pest Manag Sci*. 2011 May;67(5):541-7.
- Borsa, P & Millet, B .1992.** Recruitment of the clam *Ruditapes decussatus* in the lagoon of thau, mediterranean. *Estuarine, coastal and shelf Science* 35, 289-300.
- Boulahbel. B; Aribi. N; Kilani-Morakchi. S; Soltani. N. 2015:** Activity of neem oil in *Drosophila melanogaster*: toxicity and delayed effect on the progeny. E-ISSN: 2320-7078 P-ISSN: 2349-6800 JEZS 2015; 3(6): 306-310 © 2015 JEZS.
- Bradford M. M., 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal.Biochem*. 72: 248- 254.
- Brown, M. R., Sieglaff, D. H. & Rees, H. H. 2009.** Gonadal ecdysteroidogenesis in Arthropoda: occurrence and regulation. *Annu Rev Entomol*. 54 :105-125.
- Brügger B, Erben G, Sandhoff R, Wieland F. T, Lehmann W. D , 1997.** Quantitative analysis of biological membrane lipids at the low picomole level by nano-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1997 Mar 18; 94(6): 2339-44.
- Buszczak. M, Freeman. M. R, Carlson. J. R, Bender. M, Cooley. L, Segraves. W. A. 1999.** Ecdysone response genes govern egg chamber development during mid-oogenesis in *Drosophila*. 126(20):4581-9.[pubmed]



- Cann. S. F. Mc, G. D. Annis, R. Shapiro, D. W. Piotrowski, G. P. Lahm, J. K. Long, K.C. Lee, M. M. Hughes, B. J. Myers, S. M. Griswold, B. M. Reeves, R. W. March, P. L. Sharpe, P. Lowder, W. E. Barnette, K. D. Wing ., 2001.** The discovery of indoxacarb: oxadiazines as a new class of pyrazoline-type insecticides, *Pest Manage. Sci*. 57/ 153–164.

- Chalabi, L. 2001.** Cycle de reproduction et composition biochimique de la palourde *Ruditapes decussatus* dans la baie d'Alger, *Rapp.Com.Int. Mer.Medit.*, **36** : 370p.
- Casida JE , Durkin KA, 2009.** Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu Rev Entomol.* 2013;58:99-117. doi: 10.1146/annurev-ento-120811-153645.
- Casida, J.E. & Durkin, K.A. 2013.** Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu Rev Entomol.* **58**: 99-117.
- Cassier P., Lafont R., Descarnps M., Porchet M. Soyez D., 1997.** La reproduction des invertébrés: stratégies, modalités et régulation. Intérêt fondamental et appliqué Masson, (Eds). 354 p.
- Chain, J; Lee, C. Y. 2010.** Insecticide resistance profiles and synergism in field populations of German cockroach, *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae) from Singapore. *Journal of economic Entomology.*103: 460-471.
- Chapman. R. F. 1998.** The insects: structure and function, 4th ed., Cambridge: Cambridge University Press, 770 p.
- Charniaux-Cotton, H., & Payen, G. 1988.** Crustacean reproduction. In *Endocrinology of Selected Invertebrate Types* (ed. H. Laufer and R. G. H. Downer), New York: Alan R. Liss, pp.279 -303.
- Cochran D G., 1991.** Extended selection for pyrethroid resistance in the German cockroach (Dictyoptera:Blattellidae).*J.Econ. Entomol.*, **84**: 1412-1416.
- Colombani J., Andersson D S., Leopold P., 2012.** Secreted peptide Dilp 8 coordinates *Drosophila* tissue growth with development timing. *Sci.*, **336**: 582-585.
- Cole, S. T. 2002.** Comparative mycobacterial genomics as a tool for drug target and antigen discovery. *Eur Respir J* (in press)
- Cornowell P.B., 1968.** The cockroach, *VoiLA labora/ory insect and an indus/rial pest.* 116p.



- 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.
- Daas-Maamcha, O. 2006.** Etude biologique de deux espèces de Myriapodes Chilipodes : *Eupolybothrus nudicornis* et *Lithbius forficatus*. Effets de traitement hormonaux et Insecticides sur l'ovogenèse .Thèse de Doctorat. Université d'Annaba. Algérie. 191p.
- Davies. F. P; Braberg. H; Min-Yi Shen; Andrej. S; Madhusudhan. M.S. 2006.** Protein complex compositions predicted by structural similarity. Oxford Journals. Science & Mathematics. Nucleic Acids Research. Volume 34, Issue 10.
- Davey KG. 1985.** The female reproductive tract. *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology* Oxford: Pergamon Press, p. 15-36.
- Davey KG. 1981.** Hormonal control of VG uptake in *R. prolixus* Stal. *Am Zool* 21: 701-705.
- Delanoue R., Slaidina M., Leopold P., 2010.** The steroid hormone ecdysone controls systemics growth by repressing DMyt function in drosophila fat cells. *Develop. Cell*, 18, 1012- 1021.
- Delbecque J P., Hirn M., Delachambre J & De Reggi M. 1978.** Cuticular cycle and molting hormone levels durind the metamorphosis of *Tenebrio molitor* (Insecta, Coleoptera). *Dev. Biol.* **64**: 11-30.
- Delbecque, J.P., Weidner, K. & Hoffmann, K.H. 1990.** Alternative sites for ecdysteroid production in insects. *Invert Reprod Devel.* **18**: 29-42.
- Denardi, S.E., Bechara, G. H., Oliveira, P. R. & Camargo-Mathias M. I. 2010.** Azadirachta indica A. Juss (neem) induced morphological changes on oocytes of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick females. *Exp Parasitol.* **126**(4): 462–470.
- Denardi, S.E., Bechara, G.H., Oliveira, P.R., Nunes, E.T. & Camargo-Mathias, M.I. 2011.** Inhibitory Action of Neem Aqueous Extract (*Azadirachta indica* A. Juss) on the Vitellogenesis of *Rhipicephalus sanguineus* (Acari: Ixodidae) Ticks. *Microsc Res Techn.* **74**(10): 889-899.

Dhadialla, T.S., Hays, A. S and Raikhel, A.S.1992. Characterization of the solubilized mosquito receptor. *Insect. Biochem. Mol. Biol.*22: 803-816.

Dhadialla. S, Carlson. R, & Le. P, (1998). New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu.Rev. Entomol.* **43**: 545-569.

Dhadialla T S., Retnakaran A., Smaghe G., (2005). Insect Growth- and development- Dsrupting Isecticides. *Article number in press: NSCT/ 00076.*

Dollander A. & Fenart R., 1979. Embryologie générale comparée. In : Eléments d'Embryologie générale 1. Paris, France: Flammarion, pp 23-246.

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

Duraton J. F. & Lecoq M., 1990. Le criquet pèlerin au sahel. Collection Acridologie Opérationnelle CIRAD/ PRIFAS (France), 6 : 11-153.



Elie M.P., 1998. Blattes: une vie cachée. Magazine Québec science. 40p.

El Sayed, K.A., Dunbar D.C., Perry T.L.,Wilkins S.P & Hamann , M.T. 1997. Marine natural product as prototype insecticidal agent.*J.Aгри .Food Chen .*,**45** :2735-2739.

Engelmann f. 1970. The Physiology of Insect Reproduction. Oxford, New York: Pergamon Press.

Engelmann f. 1979. Insect VG: Identification biosynthesis, and role in vitellogenesis. *Adv Insect Physiol* 14: 49-109.

Engelmann f. 1990. Hormonal control of arthropod reproduction: Progress in comparative endocrinology. *Prog Clin Biol Res* 342: 357-364.

Eziah V. Y., Rose H.A., Clift A.d., Mansfield S., 2008. Susceptibility of four field populations of the diamondback moth *plutellaxylostella* L (Lepidoptera: yponomeutidae) *Adv. Insect Physiol* 16.



Fabre , M.C ., Descamps, M. & Baert, J. L.1990. Identification and partial characterization of vitellin and vitellogenin from *Scolopendra cingulate* Latreille (Myriapoda Chilopoda). *In proceedings of the 8th international Conference on Myriapodology*, Innsbruck, Austria. Ber. Nat-ined.Verein Innsbruck. 117- 121.

FAO., 2006. Lutte contre le criquet pèlerin; la tribune Quotidien national d'information, 2p.essor.gov.ml/cgi-bin/view article.ISSN :11563-57.

Fisher. R. A & Yates. F, 1957. Statistical Tables For Biological Agricultural And Medical Research. 5eme edition Published by Oliver and Boyd, London, 64-66.

Fulton MH et Key PB, 2001. Acetylcholinesterase inhibition in estuarine fish and invertebrates as an indicator of organophosphorus insecticide exposure and effects. *Environ Toxicol Chem.* 2001 Jan; 20(1):37-45.



Gäde, G., Hoffman K H., & Spring, J .H. 1997. Hormonal regulation in insect's facts, gaps and future directions, *Physiol. Rev.* 77: 963–1032.

Gäde, G., & Hoffmann, K.H. 2005. Neuropeptides regulating development and reproduction in insects. *Physiol. Entomol*, 30 :103-121.

Galvan, T. L., Koch, R. L. & Hutchison, W. D. 2005. Effets of spinosad and indoxacarb on survival, development, and reproduction of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). *Biol Control.* 34(1): 108- 114.

Gangé, F., Pardos, M. & Blaise, C. 1999. Estrogenic effects of organic environmental extracts with the trout hepatocyte vitellogenin assay. *Bull Environ Contam Toxicol.* 62(6): 723- 730.

Ganz J. B., Earles-Vollrath T. L., Mason R. A., Rispoli M.J., Heath Amy K., Parker R. I., 2011. An aggregate study of single-case research involving aided AAC: Participant characteristics of individuals with autism spectrum disorders.

- Garelli, A., Gontijo, A.M., Miguela, V., Caparros, E., Dominguez, M. 2012.** Imaginal discs secrete insulin-like peptide 8 to mediate plasticity of growth and maturation. *Science* 336(6081): 579--582.
- Glancey. M. B. and Banks. W. A. 1988.** Effect of the Insect Growth Regulator Fenoxycarh on the Ovaries of Queens of the Red Imported Fire Ant (Hymenoptera: Formicidae). Insects Affecting Man and Animals Research Laboratory, USDA-ARS, Gainesville, Florida 32604 *Ann. Entomol. Soc. Am.* 81(4): 642-648.
- Gillott, C. 1995.** Entomology. Plenum Press, New York.
- Gillott, C. & Friedel, T. 1976.** Development of accessory reproductive glands and its control by the corpus allatum in adult male *Melanoplus sanguinipes*. *J. Insect Physiol.* (22): 365-372.
- Gilbert L I., Song Q., et Rybczynski R., 1997.** Control of ecdysteroidogenesis Activation and inhibition of prothoracic gland activity. *Invert Neurosci* ; 3: 205–46.
- Gilbert L I., Serafin R B., Watkins N L., & Richard D S., 1998.** Ecdysteroids regulate yolk protein uptake by *Drosophila melanogaster* oocytes. *J. Insect. Physiol.* 44: 637-644.
- Gilbert L I., Granger N A., & Roe R M. 2000.** The juvenile hormones: historical facts and speculations on future research directions. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30, 617–644.
- Gilbert L I., Rybczynski R, Warren G T. 2002.** Control and bio-chemical nature of the ecdysteroidogenic pathway. *Annu. Revu. Entomol.* 47: 883-916.
- Gilbert L I., 2008.** *Drosophila* is an inclusive model for human diseases, growth and development. *Mol Cell Endocrinol*, 293(1-2): 25-31.
- Glitho. I., Delbecque J. P., Delachambre J., 1979.** Prothoracic gland involution related to moulting hormone levels during the metamorphosis of *Tenibrio molitor*. *L. J. Insect. Physiol*, 25(2), 187-191.
- Goldsworthy J, Mordue W, Guthkelch J. 1972.** Studies on insect adipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology.* 18(3), 545.
- Gordon D.G., 1996.** The compleat cockroach: a comprehensive guide to the most despised (and Least Understood). Creature on Earth. Ten speed pressm Berkely. 178p.

- Gondhalekar, A. D & Scharf, M. E. 2012.** Mechanisms underlying fipronil resistance in a multiresistant field strain of the German cockroach (Blattodea: Blattellidae). *Journal of Medical Entomology*. 49(1):122-31.
- Gondhalekar AD, Ernesto N, Silva I, Cooper B and Scharf ME, 2016.** Indoxacarb biotransformation in the German cockroach. *Pesticide Biochemistry and Physiology* doi:10.1016/j.pestbp.2016.05.003(in press).
- Gondhalekar.A. D. 2011.** indoxacarb toxicology and susceptibility monitoring in the *German Cockroach* . University Of Florida.
- Gordon H.T., 1968** . Intake rates of various solid carbohydrates by male German cockroaches. *Journal of Insect Physiology*, 14, (1): 41–52.
- Govindarajan, M. & Rajeswary, M. 2015.** Ovicidal and adulticidal potential of leaf and seed extract of *Albizia lebeck* (L) Benth. (Family: Fabaceae) against *Culex quinquefasc*, *Aedes aegypti*, and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae) *Parasitol Res*. 114(5): 888-897.
- Grandcolas P., 1998** . The evolutionary interplay of social behaviour, resource use and antipredator behavior in Zetoborinae, Blaberinae, Gyninae and Diplopterinae cockroaches: a phylogenetic analysis. *Cladistics*, 14 : 117-127.Grenier et Grenier, 1993
- GraphPad Prism** version 5.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, www. graphpad.com.
- Gruntenko N E., & Rauschenbach I Y., 2008.** Interplay of JH, 20E and biogenic amines under normal and stress conditions and its effect on reproduction. *J. Insect Physiol.* **54**: 902-908.
- Guangli Wang, Xiaoling Huang a, Hongyi Wei a, Henry Y. Fadamiro ., 2011** :Sublethal effects of larval exposure to indoxacarb on reproductive activities. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 101: 227–231.
- Guillaumin M., Renoux J., Stockman R., 1969** . La blatte : *Blabera fusca* Br. *Edition Doin I. Paris*. Vol I : 67 pp.

- Habes D., 2006** . Evaluation d'un insecticide inorganique, l'Acide Borique à l'égard d'un modèle à intérêt médicale (*Blattella germanica*) : Inventaire, Toxicité, Analyse des résidus, structure de l'intestin et activités enzymatiques. Thèse de Doctorat. Université d'Annaba (Algérie). 121 pp.
- Habes D, Morakchi S, Aribi N, Farine JP & Soltani N. 2006.** Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattellagermanica*: alteration in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 84:17-24.
- Habes D, Messiad R, Gouasmia S and Grib L., 2013.** Effects of an inorganic insecticide (boric acid) against *Blattella germanica*: Morphometric measurements and biochemical composition of ovaries. *Afr. J. Biotechnol.* 2013, 12(18):2492-2497.
- Habes D, Morakchi S, Aribi N, Farine JP, Soltani N. 2001.** Toxicity of Boric acid to *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) and analysis of residue in several organs. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 66(2): 525-534.
- Hami, M., Taibi, F., Smaghe, G. & Soltani-Mazouni, N. 2005.**-Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the Mediterranean flour moth. *Comm. Agric. Appl. Biol. Sci.*, 70 (4), 767-773
- Hansen, I. A., Attardo, G. M., Rodriguez, S. D. & Drake, L. L. 2014.** Four-way régulation of mosquito yolk protéines precursor genes by juvenile hormone , ecdysone , nutriment , and insulin - l'île peptide signaling pathways. *Front physiol.* 5: 103.
- Hagedorn HH and Kunkel JG. 1979.** vg and vt in insects. *ann rev entomol* 24: 475-505.
- Hardie J., 1985.** The identification of an aphid juvenile hormone, and its titre in relation to photoperiod. *Physiol. Entomol.*, 10: 297-302.
- Harnish. G, G. R. Wyatt, Bradley N. White. 1982** . insect vitellins: Identification of primary products of translation.
- H.H. Harder, S.L. Riley, S.F. McCann, D.W. Sherrod, 1996.** DPXMP062: a novel broadspectrum, environmentally soft, insect control compound, in: *Proceedings Beltwide Cotton Conferences*, vol. 1, New Orleans, LA, 1996, pp. 48–50.
- Hauptman H ., Muhlbauer G., Sass, H., 1986.** Identifizierung and synthese von periplanon A. *Tetrahedron. Lett*, 27(51), 6189- 6192.

Highnam, K.C. & Haskell, P. T. 1964. The endocrine systems of isolated and crowded *Locusta and Schistocerca* in relation to oocyte growth, and the effects of flying upon maturation. *J. Insect Physiol.* (10): 849-864.

Hiruma, K. & Kaneko, Y. 2013. Hormonal Regulation of Insect Metamorphosis with Special Reference to Juvenile Hormone Biosynthesis. *Curr Top Dev Biol.* **103**:73-100.

Hoffmann, K.H. & Sorge, D. 1996. Vitellogenin levels in allectomized female crickets *Gryllus bimaculatus* de geer (Ensifera, Gryllidae). *Arch Insect Biochem Physiol.* **32**: 549-558.

Ho H Y ., Tu M P., Chang C Y., Kou R., (1995). Identification *in vitro* release products of corpora allata in female and male of *loreyi* leaf worm *Leucania loreyi*. *Experientia* . **51**: 601-605.

Holbrook, G. L., Roebuck, J., Moore, C. B., Waldvogel, M.G & Schal, C. 2003. Origin and extent of resistance to fipronil in the German cockroach, *Blattella germanica* (L.) (Dectyoptera: Blattellidae). *Journal of Economic Entomology.* **96**(5):1548-58.

Huang, X, Warren, J.T. & Gilbert, L.I. 2008. New players in the regulation of ecdysone biosynthesis. *J Genet Genomics.* **35**(1): 1-10.

Hutheinson R., 1999. Insectes. (Hons). D. P. LSH & TM M Sc. P.126.



IRAC. 2014. IRAC MoA Classification Scheme, Version 7.3. <http://www.irac-online.org/teams/mode-of-action/> .Accessed V-24-2014.

Ishaaya I. & Horowitz A.R., 1998. Insecticides with novel mode of action: overview. In: Jacob et Monad, 1961 *JEcon. Entamai*, **85**(6): 213-217.




Jervis. M. A., Heimpel, G. E., Ferns, P. N. Harvey, J. A. and Kidd, N. A. C. 2001. Life-history strategies in parasitoid wasps: a comparative analysis of ovigeny. *Journal of Animal Ecology* **70**: 442-458.

Jacobe ,F., & Monod, J., (1961). Genetic regulatory mechanism in the synthesis of proteins. *J. Biol. Med.* **n° 3**: 318 – 321.



- Kaakeh, W., REID, B.I., Bohnert, T and Bennet, G. w., 1997.** Toxicity of imidacloprid in the *german cockroach* (Dictyoptera: Blattellidae) and synergism between imidacloprid and Metarbizuim anispliae (imperfect fungi: Hyphomycetes). *Journal of Economic Entomologie* 90, 473-482.
- Kanost, M., Kawooya,J.K., Lan.,R.O., Van Heudsdan ,M.C., & Ziegler, R.1990.** Insect hemolymph proteins , pp:299-396. In : P.D.Evans et V.B.Wigglesworth(Eds). *Adv. Insect. Physiol.*, Vol. 22. Acad.Press, London.
- Kaufmann C, Brown M.R. 2008.** Regulation of carbohydrate metabolism and flight performance by a hypertrehalosaemic hormone in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Journal Insect Physiol.*54: 367– 377.
- Kawada H., (1988).** An insect growth regulator against cockrochers. In: Ishaaya, and Horowitz, A.R. (eds). Novel phenoxy juvenile analog (Pyriproxyfen) suppresses embriogenesis and adult emergence of the sweetpotato whitefly (Homptera, Aleurodidae). *J. Entomol.* **85(6)**: 2113-2117.
- Kelly, T.J., Masler, E.P., Thigaraga, B.S., Bell, A., & Imberski, R.B. 1992.** Development of *in vitro* assay for prothoracitropic of the gypsy moth, *Lymantria dispar* (L) following studies on identification, titers and synthesis, titers and synthesis of ecdysteroids in last instar females.*Comp.Physiol B.*, 162 : 581-587.
- Khebbab M E H., Gaouaoui R., & Bendjeddou F. 2008.** Tebufenozide effects on the reproductive potentials of the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* . *African Journal of Biotechnology* Vol. **7 (8)**: 1166-1170.
- 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). *Belgian J. Zool.*, **139 (2)**, 147-155.
- Kilani-Morakchi S, Badi A, Aribi N, Farine J.P &Soltani N., 2014.** Toxicity of tebufenozide, an ecdysteroid agonist to *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae). *African Entomology* 22(2)2014: 337–342.

- Kim M.S., Yu H.S., Kim H.C., 1995** . Studies on relative densities of cockroach population in 7 different habitats by using sticky – traps in Suwon. *Korean J. Appl. Entomol*, 34 (4) : 391-542. Koehler et Patterson, 1987.
- Klowden. M. J., Polerstock. A. R and Eigenbrode. S. D., 2002.** Mating Alters the Cuticular Hydrocarbons of Female *Anopheles gambiae* sensu stricto and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology*. 39(3):545-552. Division of Entomology, University of Idaho, Moscow, ID 83844–2339 .
- Koehler, P.G., Patterson, R.S. 1987.** Implications of cockroach infestations to human health. *Infections in Medicine*. 4: 349- 355, 358- 359, 393.
- Kolman J., 1990.** Ecdysteroids, *Zool.Sci*, 563.
- Konig, A., Yatsenko, A. S., Weiss, M. & Shcherbata, H. R. 2011.** Ecdysteroids affect *Drosophila* ovarian stem cell niche formation and early germline differentiation. *EMBO J*. 30: 1549-1562
- Kou R., & Chen S J., 2000.** Allototropic and nervous control of corpora allata in adult male *loreyi* leaf worm, *Mythimma Loreyi Duponchel* (Lepidoptera : Noctuidae). *J. Physiol. Entomol.*, 25 :27 3-280.
- Kozlova. T, & Thummel. C. S., 2000.** Steroid regulation of cockroach infestations to human health. *Infections in Medicine*, 4: 349- 355; 358- 359, 393.
- Kristensen M., Hansen K.K., Vagn – Jensen K.M., 2005** . Cross resistance between Dieldrin and Fipronil in German cockroach (Diptoptera : Blattellidae). *J. Econ. Entomol*, 98 (4) : 1305-1310.
- Kumar. V. S., Santhy M., Krichnan M., 1999.** RH-8992- an ecdysone agonist on model system of the silkworm *B. mori*. *Ind. j. Exper. Biol*, 38, 137- 144.
- 
- Lacey LA & Orr BK., 1994.** The role of biological control of mosquitoes in integrated vector control. *Am J Trop Med Hyg* ;50(6 Suppl):97-115.
- Lacey L.A., 1982** . Viral pathogens of vector Nematocera and their potential for microbial control. *Proc. 3rd Int. Coll. Invertebr. Pathol., Univ. Sussex, Brighton, UK* : 428-436.

- Lacey L.A. & Lacey C.M., 1990** . The medical importance if Riceland mosquitoes and their control using alternatives to chemical insecticides. *Jour. Amer. Mosquito Control Assoc. (supplément)*, 6 : 1-93.
- Lafont, R., Dauphin-Villemant, C., Warren, J. T. & Rees, H. H. 2005.** Ecdysteroid chemistry and biochemistry. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill SS, ed. *Comprehensive molecular insect science*. Oxford: Elsevier, pp 125-95.
- Lahm, S.A., 2001.** Lodie-Louay regional biological evaluations report and Liboumba sites. Wildlife Conservation Society.
- Lakbar C., (1999).** Effets de deux régulateurs de croissance, le RH-0345 et le pyriproxifene sur le développement de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Mag., Univ. D'Annaba, Algerie. 1
- Lapied, B., GroHeau, D.B. & SatteHe, B. 2001.** Indoxacarb, an oxadiazine insecticide blocks insect neuronal sodium channels. *Br. J Pharmacol.* 132: 587-595.
- Lambreas, C.I., Galante, F., & Mena, I. 1991.** Ovarian condition as an indicator of the phonology of *Bubas bubas* (Coleoptera : Scarabeidae). *Ann. Entomol.Sco.Am.*, **84** (2),190-194.
- Lawrence, P.O. 1992.** Egg development in *Anastrepha suspensa*: influence of the ecdysone agonist, RH-5849. In: Aluja M. & Liedo P. (Eds.), *Fruit Flies: Recent Advance in Research and Control Programs*. Verlag, New York, pp 51-56
- Linnaeus c, 1767.** Systema naturae, ed XII 687- 689.
- Li Y., Hernandez-Martinez S. & Noriega F.G., 2004.** inhibition of juvenile hormone biosynthesis in mosquitoes, effect of allatostatic head factors, PISCF- and YXFCL- amide allatostatins, *Regul. Pep/.*, 118: 175-182.
- Li Y., Unnithan G.c., Veenstara J.A., Feyerisen R. & Noriega F.G., 2003.** Stimulation of JH biosynthesis by the corpora allata of adult female *Aedes aegypti* in vitro: effect of fanesoic acid and *Aedes aegypti* ropin, *J Exp. Biol.*, 206: 1825- 1832.
- Li C., Kapitskaya M Z., Zhu J., Miura K., Sergraves W., Raikhel A S., 2000.** Conserved molecular mechanism for stage specificity of the mosquito vitellogenic response to ecdysone. *Dev.Biol.* **224**: 96-110.
- Lim . S., Lee. S. S., 1982.** Toxicity of diflubenzuron to the grasshopper *Oxya japonica* : effects on reproduction . *Entomol. Experimental. Applicata*, 31(2-3), 154- 158.

Loeb, M. j., Woods, C. W., Brandit, E. P. & Borkovec, A. B. 1982. Larval testes of the tobacco bud worm: A new source of insect ecdysteroids. *Sciences*. **218**: 896-898.

Loeb, M.j., Brandit, E. P & Birnbaum, M. j. 1984. Ecdysteroid production by testes of the tobacco bud worm, *heliiothis virescens*, from last instar to adult. *J. Insect. Physiol*, **30**: 357-381.

Lyon W. F., 1997 German cockroach. Ohio State University Extension Fact Sheet Entomol .



Mahmoudvand. M, Abbasipour. H, Garjan. A. S., Bandani A. R., 2011. Sublethal effects of indoxacarb on the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera:Yponomeutidae). *Appl Entomol Zool* . 46, 75-80.

Maiza A., Aribi N., Smagghe G., Kilanimorakchi S., Bendjedid M, &Soltani N, 2013. Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroaches *Blattellagermanica*. Bulletin of Insectology. 66(1): 11–20.

Maiza A , Kilani-Morakchi S, Farine JP, Smagghe G, Aribi N, Soltani N, 2004. Reproductive effects in german cochroaches by ecdysteroid agonist RH-0345, juvenile hormone analogue methoprene andcarbamatebenfuracarb.Commun.Appl. Biol. Sci. Ghent Uni. 69: 257-266.

Maiza A, Aribi N, Soltani N, 2010. Effect of an oxadiazineindoxacarb, on the biochemical composition of ovaries in the german cockroach. Commun.Appl. Biol. Sci. Ghent Univ. 75(3): 359- 366.

Martoja ,R., & Martoja, M. 1967. Initiations aux techniques de l'histologie animale. Ed. Masson et Cie. Paris Vie : 346p.

Martins. G. f. & Serrão. J . E. 2004. A comparative study of the ovaries in some brazilian bees. Papéis Avulsos de Zoologia Vol **44**: 45-53.

Malausa , T., Salles ,M., Marqet, V., Guillemand, T., Alla, S., Marion-poll, F and lapchin, L., 2006 . Within-species variability of the response to 20- hydroxyecdysone in peach- potatoaphid (*Myzus persicae* Sulzer). *J. Insect Physiol*. 52: 480-486.

- Marshall D. B., Pree D. J., Mc Garvey B. D., 1988.** Effects of benzoylphenylurca insect growth regulators on eggs and larvae of the spotted tentiform leafminer *Phyllonorycter ablancardella* (Fabr) (Lepidoptera: Gracillariidae). *Canad. Entomol.* 120(01),49-62.
- Martel-Pelletier J., 2005.** New insights into the major pathophysiological processes responsible for the development of osteoarthritis. *Pubmed - Indexed For Medline.*, 34: 6-8.
- Martin D., Piulachs M.D., Bellés X., 1995.** Patterns of haemolymph vitellogenin and ovarien vitellin in the german cockroach, and the role of juvenile hormone. *physiol. entomol.* ;20: 59-65.
- Martoja R. & Martoja Pierson M., 1967.** Initiation aux techniques de l'histologie animale. Edition Masson, Paris, 345p.
- Medina P., Budia F., Tirry L., Smaghe G., Vinuela E., 2001.** Compatibility of spinosad tubufenozide and azadiractine with eggs and pupae of the predator *Chrysoperla carnea* (Stephens) under laboratory conditions. *Biocontrol Sci. Technol.*, 11,597- 610.
- McKinley, N., Kijima, S., Cook, G., Sherrod, D., 2002.** Avaunt (Indoxacarb): a new mode of action insecticide for control of several key orchard pests. Proc. 76th Ann. Western Orchard Pest & Disease Manag. Conf. 9–11 January 2002, Portland, Washington State Univ., New Products DuPont Crop Protection, Wilmington, DE.
- McKay. J, Torrence D. J. Welch, Brani Vidakovic and Lena H. Ting J. 2013.** *Neurophysiol* 109:591-602.
- Mc Neil J.N., Laforge M., Bédard C. et Cusson M., 1996.** Juvenile hormone production and sexual maturation in True Armyworme, *Pseudaletia unipuncta* (HAW). (Lepidoptera: Noctuidae): Acomparaison of migratory and non-migratory populations. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, 32: 575-584.
- Menasria T, Moussa F, El-Hamza S, Tine S, Megri R, Chenchouni H. 2014.** Bacterial load of German cockroach (*Blattella germanica*) found in hospital environment. *Pathogens and Global Health*, 108(3): 141- 147.
- Meskache R. & Soltani-Mazouni N., 2013.** Activité comparée de quatre agonistes de l'hormone de mue chez *Ephestia kuehniella*: composition biochimique des testicules et potentiel reproducteur. *Bull. Soc. zool. Fr.*, 2012, 138 (1-4): 177-187.

- Meskache R. 2014.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) sur la reproduction d'un modèle de laboratoire *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera : Pyralidae) après traitement des mâles. Thèse de doctorat en Biologie Animale. Université d'Annaba. Algérie. 78p.
- Messiad. R., 2006.** Effets d'un régulateur de croissance, l'azadirachtine chez *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae): Physiologie, Activités enzymatiques et comparaison de la détoxification avec d'autres groupes de pesticides. Thèse de Magister en Biologie Animale. Université d'Annaba. Algérie. 113p
- Messiad R, Habes D, Soltani N.** Reproductive effects of a neonicotinoid insecticide (Imidacloprid) in the German Cockroaches *Blattella germanica* L. (Dictyoptera, Blattellidae). Journal of Entomology and Zoology Studies 2015: 3(2) 01-06.
- Messiad R., 2016.** Effet comparé de deux pesticides, l'imidaclopride (néonicotinoïde) et l'acide borique (insecticide inorganique) chez *Blattella germanica* : aspects toxicologique, histologique, reproduction et biomarqueurs enzymatiques. Thèse de Doctorat en Biologie Animale. Université d'Annaba. Algérie. 145p
- Metcalf, D., Merchav, S., and Wagemaker, G; 1982.** Commitment by GM-CSF or M-CSF of bipotential GM progenitor cells to granulocyte or macrophage formation. (Eds.) Experimental Hematology Today 1982.S.Karger, Basel:3-9.
- Michael Glancey. B. & Banks. W. A. 1988.** Effect of the Insect Growth Regulator Fenoxycarh on the Ovaries of Queens of the Red Imported Fire Ant (Hymenoptera: Formicidae). Insects Affecting Man and Animals Research Laboratory, USDA-ARS, Gainesville, Florida 32604 Ann. Entomol. Soc. Am. 81(4): 642-648.
- Michand. M; Bruera. E ; Brenneis. C., 2003.** Continuous Subcutaneous infusion of metaclopramide for treatment of narcotic bowel syndrome, treatment Report, 71, 1121-2.
- Miller. D.M. & Koehle P.G., 2003 .** Least Toxic Methods of cockroach control. *ENY*, 258
- Minitab.** statistical software standard version 16, 2016. (Penn State College, PA, USA) S. Weisberg. Minitab reference manual PA. States College.Minitab.1985, pp.232.
- Mindykowski B, Jaenick E, Tenzer S, Cirak S, Schweikardt T, Schild H, Decker H (2010).** Cockroach allergens Per a 3 are oligomers. Dev. Comp. Immunol. 34: 99-722.

Mirth, C.K., Shingleton, A.W. (2012). Integrating body and organ size in *Drosophila*: recent advances and outstanding problems.

Moncada, S., Palmer, R. M. & Higgs, E. A. (1991). Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews* 43, 109–142.

Mordue, L. A. J., Morgan, E. D. & Nisbet, A. J. 2005. Azadirachtin, a natural product in insect control. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, Oxford, UK. 6: 117–135.

Morse J.G. & Brawner O.L., 1986 . Toxicity of pesticides to *Scirtothrips citri* (Thysanoptera : Thripidae) and implications to resistance management. *J. Econ. Entomol*, 79 : 565-570.



Nasirian H., Ladonni H., Aboulhassani M., Limoe M., 2010 . Susceptibility of field populations of *Blattella germanica* (Blattaria : Blattellidae) to spinod. *Pak. J. Biol. Sci*, 14 (18) : 862 – 868.

Narahashi T., 2002. Nerve membrane ionic channels as the primary target of pyrethroids. *Neurotoxicology.*, 6: 3-22.

Nehare. S, M.P Moharil, B.S. Godki, G.K.Lande, K.D. Bisane, A.S.Thkare, U.P.Barkade., 2010. Biochemical analysis and synergist suppression of indoxacarbresistance in *Plutella xylostella* L. *J.Asia-PacifiqueEntomol* . 13, 91-95.

Nejati , J., Keyhani, A., Moosa- Kazemi, S.H., Mohammadi, M., Mahjoob, M, & Boostan-Bakhsh, A. 2012. Cockroaches bacterial infections in wards of hospitals, Hamedan city. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2(5):381-384.

Neubueser, D., Warren, J. T., Gilbert, L.I. & Cohen, S. M. 2005. Molting detective in required for ecdysone biosynthesis. *Devp. Biol.* 280 (2): 362-372.

Nijhout, H. F. (1994). Insect Hormone. University Press, Princeton, New Jersey.

Nordin J.H., Gochoco C.H., Wojchowski D.M. &Kunkel J. G., 1985. A comparative study of the size-heterogeneous high mannose oligosaccharides of some insect vitellins. *Comp. Biochem. Physiol.*, 79B, 379-390.

N'Guessan Raphael , Vincent Corbel, Martin Akogbéto, and Mark Rowland 2007. Reduced Efficacy of Insecticide-treated Nets and Indoor Residual Spraying for Malaria Control in Pyrethroid Resistance Area, Benin.

Nicholson G. M. 2007. Fighting the global pest problem: preface to the special Toxicon issue on insecticidal toxins and their potential for insect pest control. *Toxicon*, 49 (4): 413-422.

Nijhout H.F., 1994. Insect hormones. Princeton University Press, Princeton. Noriega, F.G. 2004. Nutritional regulation of JH synthesis: a mechanism to control reproductive maturation in mosquitoes. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 34: 687-693.

Niven, J. E., Graham, C.M. & Burrows, M. 2008. Diversity and evolution of the insect ventral nerve cord. *Annual Review of Entomology*.53:253-271.

Niwa R., Namiki T., Ito K., Shimada-Niwa Y., Kiuchi M., Kawaoka S., 2010. Nonmolting glossy/shroud encodes a short-chain dehydrogenase/reductase that the function in the 'Back' of the ecdysteroid biosynthesis pathway. *Develop.*, **137**:



Oberlander h , silhacek dl, Porcheron P., 1995. Non-steroidal agonists tool for the study of hormonal action. *Arch insect biochem physiol.* 28:209-223.

Ødegaard, F. 2000. How many species of arthropods. Erwin's estimate revised. *Biological Journal of the Linnean Society* 71:583– 597.

Oseroff C, Sidney J, Tripple V, Grey H, Wood R, Broide DH, Greenbaum J, Kolla R, Peters B, Pomes A, Sette A. 2012. Analysis of Cell Responses to the Major Allergens from German Cockroach: Epitope Specificity and Relationship to IgE Production. *J Immunol.* 2012;189(2):679–688. doi: 10.4049/jimmunol.1200694

Ou Q., Magico A., King-Jones K., 2011. Nuclear receptor DHR4 controls the timing of steroid hormones pulses during *Drosophila* development. *Plos Biology*,de1001160.



- Parthasarathy. R, Zhentao Sheng, Zhiyang Sun, and Subba R. Palli . 2010.** Ecdysteroid regulation of ovarian growth and oocyte maturation in the red flour beetle, *Tribolium castaneum* *Insect Biochem Mol Biol.* 40(6): 429–439.
- Palli S.S and Locke M. 2008.** The synthesis of hemolymph proteins by the larval fat body of an insect *Calpododes ethlius* (Lepidoptera: Hesperidae). *Insect Biochem* 18:405-413.
- Pan, M. I.; Bell, W. J. & Telfer, W. H., 1969.** Vitellogenic blood protein synthesis by insect fat body. *Science*, 165: 393-394.
- Pascual. N., Cerda. X., Benito. J., Tomas.J., Piluachs. M. D., Bellés.X. 1992.** Ovarian ecdysteroid levels and basal oocyte development during maturation in the cockroach *Blattella germanica* (L.). *J. Insect Phsiol.* Vol.38,No.5, pp.339-348.
- Peden David , Charles E. Reed, 2010.** Environmental and occupational allergies. *Journal of allergie and clinical immunology.*Volume 125, Issue 2, Supplement 2, Pages S150–S160.
- Petryk A, Warren JT, Marqués G, Jarcho MP, Gilbert LI, Kahler J, Parvy JP, Li Y, Dauphin-Villemant C, O'Connor MB, 2003.** Shade is the *Drosophila* P450 enzyme that mediates the hydroxylation of ecdysone to the steroid insect molting hormone 20-hydroxyecdysone. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2003 Nov 25;100(24):13773-8.
- Perveen, F. 2011.** Effects of sublethal doses of chlorfluazuron on the testicular biochemical constituents of *Spodoptera litura*. *African Journal of Biotechnology.* 10, pp. 8956-8964.
- Pinto, L.Z., Bitondi, M.M.G. & Simões, Z.L.P. 2000.** Inhibition of vitellogenin synthesis in *Apis mellifera* workers by a juvenile hormone analogue, pyriproxyfen. *J. Insect. Physiol.* 46(2): 153-160.
- Postlethwait, J. H & T. Jowett. 1980.** Genetic analysis of the hormonally regulated yolk polypeptide genes in *D. melanogaster*. *Cell.* 20 (3): 671-678.

Q

Qiao, j., Zou, X., Lai, D., Yan, Y., Wang, Q., Li, W., Deng, S., Xu, H. & Gu, H. 2014. Azadirachtin blocks the calcium channel and modulates the cholinergic miniature synaptic current in the central nervous system of *Drosophila*. *Pest Manag Sci.* **70**(7): 1041-1047.

R

Raikhel, A. S.; Dhadialla, T. S.; Cho, W. I., Hays, A. R. & Koller, C. N., 1990. Biosynthesis and endocytosis of yolk proteins in the mosquito. In *Molecular Insect Science*. (Ed. by Hagedorn, H. H. et al.), pp. 147-154.

Raikhel AS, Dhadialla TS , 1992. Accumulation of yolk proteins in insect oocytes. *Ann. Rev. Entomol.* **37**: 217- 251.

Raikhel A.S. et Lea A.O., 1985. Hormone-mediated formation of the endocytic complex in mosquito oocytes. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **57**, 422-433.

Raccaud-Schoeller. J. 1980. Les insectes: physiologie, développement. *Volume 8 de Maîtrises de biologie*, ISSN 0338-9855. livre de 296 pages

Rameswamy S B., Shengqiang S., Yong I P., & Fanrong Z., 1997. Dynamics of juvenile hormone-mediated gonadotropism in the Lepidoptera. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, **35**: 539-558.

Rees H.H., 1995. Ecdysteroid biosynthesis and inactivation in relation to function. *Eur. J. Entomol.* **92** : 9-39.

Rewitz K. F., Yamanaka N., O'Connor M. B., 2013: Developmental checkpoints and feedback circuits time insect maturation. *Curr. Top. In develop. Biol*, **103**, 1.

Riddiford L. M. 1994 . Cellular and molecular actions of juvenile hormone. I. General considerations and premetamorphic actions. *Adv. Insect Physiol.* **24**, 213-227

Riddiford L.M., 1996. Molecular aspects of juvenile hormone action in insect.

Riddiford L. M., 2011. When is weight critical. *Experim. Biol*, **214**, 1613-1615.

- Rideout E. J., Marshall L., Gewal S. S., 2012.** Drosophila RNA polymerase III repressor MafI controls body size and developmental timing by modulating tRNAⁱMET synthesis and systemic insulin signaling. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A*, 109(4), 1139-1144.
- Rivault C., Cloarec A., Mathieu N., Blane N., 1995 .** La ville au risque de l'écologie, les blattes en milieu urbain. *Rapport final. Appel d'offre N=° 93070* du Ministère de l'Environnement. 101 pp.
- Robker R L., Akison L K., Bennett B D., Thrupp P N., Chura L R., Russell D L., Lane M., Norman R J., 2009.** Obese women exhibit differences in ovarian metabolites, hormones, and gene expression compared with moderate-weight women. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* **94(5)**: 1533-1540.
- Roma, G. C., Bueno, O. C. & Camargo-Mathias, M. I. 2010.** Morpho-physiological analysis of the insect fat body: A review Gillott, C., 1995. *Entomology*. Plenum Press, New York. **41**: 395-401.
- Roth, L. M. 1970.** Evolution and taxonomic significance of reproduction in blattaria. *Annual Review of Entomology*. 15:75-96.
- Rouibi, A. 2002.** Evaluation d'un mimétique des ecdystéroïdes (RH-0345) sur *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) : aspects morphométriques et biochimiques . Thèse de Magister en Biologie Animale. Université d'Annaba. Algérie. 113.
- Rust M.K., Owens J.M. & Reiersen D.A., 1995.** Understanding and Controlling the German Cockroach. New York Oxford Oxford University Press. 265 p.
- Rybczynski, R. 2005.** Prothoracicotropic hormone. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, Oxford, UK. 61–123.



- Saito, M.A., Bertrand, E.M., Dutkiewicz, S., Bulygin, V. V, Moran, D.M., Monteiro, F.M., Follows, M.J., Valois, F.W., Waterbury, J.B. 2000.** Iron conservation by reduction of metalloenzyme inventories in the marine diazotroph *Crocospaera watsonii*. *PNAS* 108, 2184–2189.
- San-whouly M. Ouali-n'goran, Kouakou H. Koua , Marie-Anne D'almeida & Kouahou Fouabi., 2008.** Impact des doses sublétales de fénitrothion sur l'ovogenèse et la capacité de ponte du criquet pèlerin *Schistocera gregaria* (Orthoptera : Acrididae). *Sciences & Nature* Vol. 5 N°2 : 177 - 189 .


- Sawczyn T., Dolezych B., Klosok M., Augustyniak M., Stygar D., Buldak R. J., Kuklaa M., Michalczyk K., Karez- Sochaa I., Zwirska- Korezala K., 2012.** Alteration of carbohydrates metabolism and midgut glucose absorption in *Gromphadorhina portentosa* after subchronic exposure to imidacloprid and fenitrothion. *J. Envir. Sc. Heal, Part A*, 47(11), 1644-1651.
- Sayah, F., Fayet, C., Idiomar, M. & Karlinsky, A. 1996.** Effect of azadirachtin on vitellogenesis of *Labidura riparia* (Insect Dermaptera). *Tissue Cell*. **28**(6):741–749.
- Schal C. & Hamilton R. L., 1990.** Integrated suppression of synantropic cockroaches. *Annual Review of entomology.*, **35**: 521-551.
- Schal C, Holbrook G. L, Bachmann J. A. S & Sevala V. L. 1997.** Reproductive biology of the German cockroach, *Blattella germanica*: juvenile hormone as a pleiotropic master regulator. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 35:405-426.
- Scharf M. E., Kaakeh W. & Bennett G. W., 1997.** Changes in an insecticide-resistant field population of German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) after exposure to an insecticide mixture. *Econ. Entomol.*, **90**: 38-48.
- Sevala. V. L & Davey. K. G. 1989.** Action of juvenile hormone on the follicle cells: Evidence for a novel regulatory mechanism involving protein kinase C. *Experientia* 45, 355- 356.
- Shi X., Jiang L., Wang H., Qiao K., Wang K., 2011.** Toxicities and sublethal effects of seven neonicotinoid insecticides on survival, growth and reproduction of imidacloprid-resistant cotton aphid, *Aphis gossypii*. *Pest manag.sc*, 67(12),1528-1533.
- Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneck C., New Hall, A., & Freidman ,L. 1966.** A method for the sequential quantitative separation of glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, **19** : 415-428. Smagghe *et al* (1996).21 : 119-128.
- Sridhara, S. & Lee, V.H. 2013.** Tebufenozide disrupts ovarian development and function in silkworms. *Insect Biochem Mol Biol*. **43**(12): 1087-1099.
- Smagghe, G., Eelen, H., Vershelde, E., Richter, K., & Degheele, D. 1996.** Differential effects of non steroidal ecdysteroid agonist in *Coleoptera* and *Lepidoptera*: analysis of

- evagination and receptor binding in imaginal disc *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 26:687-695.
- Smagghe, G., Dhadialla, T.S., & Lezzi, M. 2002.** Comparative toxicity and ecdysone receptor affinity of non-steroidal ecdysone agonist and 20-hydroxy-ecdysone in *Chironomus tentans*. *Insect. Mol. Biol.* **32** : 1203-1209.
- Smagghe, G., Degheele, D. 1994 .** Action of the non steroidal ecdysteroid mimic RH-5849 on larval development and adult reproduction of insects of different order. *Invert. Reprod. Dev.*, **25**: 227-236.
- Smagghe, G., Bylemans, D., Medna, P., Budia, F., Avilla J., & Vinuela, E. 2004.** Tebufenozide distorted codling moth larval growth and reproduction, and controlled field populations. Laboratory of Agrozoology, Department of Crop Protection, Faculty of Bioscience Engineering, Ghent Univ, Coupure Links, Belgium. *ANN. appl. Biol*, 145: 291-298. *printed in UK*.
- Soltani-Mazouni, N., & Soltani, N. 1992.** Effet du diflubenzuron sur les métabolites hémolymphatiques et ovariens chez *Tenebrio molitor* L. pendant la maturation sexuelle. *Mém. Soc. Belge ent.*, n° 35, pp 743-747.
- Soltani-Mazouni N., & Soltani N., 1994.** Diflubenzuron effected DNA synthesis in the ovaries of *Tenebrio molitor*. *J. Invert. Reprod. Dev.*, **25**: 19-21.
- Soltani-Mazouni N., Taïbi F., & Zerguine K., 2001.** Evaluation de deux régulateurs de croissance sur le potentiel reproducteur d'un ravageur des denrées stockées *Revue synthèse* ; **9** : 95- 103.
- Soltani, N., 1990.** - Action du diflubenzuron et de la 20-hydroxyecdysone sur les glucides et les protéines hémolymphatiques chez les nymphes de *Tenebrio molitor* L. *Annals Soc. ent. Fr. (N.S)*, 26 (4): 575-584.
- Soltani N., & Soltani –Mazouni N., 1992.** Diflubenzuron and oogenesis in codling moth, *Cydia pomonella* L., *Pest. Sci.*, **34**: 257-261.
- Soltani, N., Pitoizet, N., Soltani-Mazouni, N., Delachambre, J., & Delbecq, J.P. 1997.** Activity of an anti-ecdysteroid compound (KK42) on ovarian development and ecdysteroid secretion in mealworm. *Med. Fac. Lanbouww. Univ. Gent .*, 62(2) : 531-537.
- Soltani N, Aribi N, Berghiche H, Lakbar S, Smagghe 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.

- Spindler, K.P. & Spindler, B. M. 1991.** Ecdysteroid production and metabolism by an epithelial cell line from *Chironomus tentanus*. *Naturwissenschaften*. **78** (2): 78-79.
- Sriavastrava R.P. 1970.** Electrophoretic behaviour of cuticular proteins of different developmental stages of *Galleria mellonella*. *J.Insect Phsiol.* **16**: 2345-2351.1969
- Stoffolano, J.G. Jr., Li, M.-F., Zou, B.-X., Yin, C.-M., 1992.** Vitellogenin uptake, not synthesis, is dependent on juvenile hormone in adults of *Phormia regina* (Meigen). *Journal of Insect Physiology* **38**, 839–845.
- Stark J.D. and Banks J.E., 2003.** Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods. *Annu. Rev. Entomol.* **48**: 505–519.
- Stanley-Samuelson, D.W., & Loher, W. 1986.** Prostaglandins in insect reproduction. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **79**: 841-853.
- Strambi A., Strambi C., Cayre M., 1997.** Hormonal control of reproduction and reproductive behaxiour in crickets *Archiv. Insect. Biochem. Physiol.*, **35**: 393-404.
- Strong, CA., Koheler, PG., & Patterson, R.S. 2000.** Oral toxicity and repellency of borates to German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ.Entomol.* **86**:1458-1463.
- Sugiyama, So, Tsurubuchi, Y., Karasawa, A., Nagata, K., Kono, Y. & Shono, T. 2001.** sur le développement de *Tenebrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae).
- Sutton-McDwall M L., Gilchrist R., Thompson J G., (2010).** The pivote role of glucose metabolism in determining oocyte developmental comptence. *Reprod.*, **139(4)** :685-695.
- Swanton C. J., Mashhadi H. R., Solomon K. R., Afifi M. M., Duke S. O., 2011.** Similarities between the discovery and regulation of pharmaceutials and pesticides : in support of a better understanding of the risks and benefits of each. *Pest. Manag. Sc*, **67(7)**, 790-797.
- Swevers, L., Raikhel, A.S., Sappington, T.W., Shirk, P. & Iatrou, K. 2005.** Vitellogenesis and post-vitellogenic maturation of the insect ovarian follicle. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, Oxford, U.K. **6**: 87–156.



- Takahashi, T., S. C. Sutherland, C. Sweeney, A. Poisson, N. Metz, B. Tilbrook, N. Bates, R. Wanninkhof, R. A. Feely, C. Sabine, J. Olafsson and Y., Nojiri, 2002.** Global sea-air fluxes based on climatological surface ocean and seasonal biological and temperature effects, *Deep-Sea Res., Part II*, 1601- 1622.
- Tanaka A., 1976.** Stags in the embryonic development of the German cockroach. *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae). *Kontyn (Tokyo)*. **44**: 512-225.
- Tatar M., Yin C.M., 2001.** Slow aging during insect reproductive diapause: Why butterflies, grasshoppers and flies are like worms. *Exp. Geront.*, **36**: 723-738.
- Taïbi F., (2000).** Activités de quelques effecteurs de la biosynthèse de l'hormone de mue sur la production d'ecdystéroïdes ovariens, la ponte et la viabilité des oeufs chez *Tenebrio molitor*. Thèse de Magister. Université d'Annaba. Algérie.
- Taïbi F., Smagghe G., Amrani L.& Soltani-Mazouni, N., 2003.** Effect of ecdysone agonist, RH-0345, on reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*. *Comparative biochemistry and Physiology.*, **135** : 257-267.
- Tanaka , 1976,** Stags in the Embryonic Development of the German Cockroach. *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera: Blattellidae). *Kontyn (Tokyo)*, **44**: 512-225.
- Telfer, W. H. 2009.** Egg formation in Lepidoptera. *J. Insect Sci.* **9**: 50.
- Thornill, R., & Alcock, J. 1983.** The evolution of insect mating systems. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 547 pp.
- Tillman P.G, Hammes G.G, Sacher M, Connair M, Brady E.A and wing K.D. 2001.** Toxicity of a formulation of the insecticide indoxacarb to the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae), and the big-eyed bug, *Geocoris punctipes*(Hemiptera:Lygaeidae). *Pest Management Science* . **58**:92-02.
- Tine S, Aribi N, Soltani N. 2011.** Laboratory evaluation of azadiractin against the oriental cockroach, *Blatta orientalis* L. (Dictyoptera, Blattellidae): Insecticidal activity and reproductive effects. *Afr. J. Biotechnol.* **10**(85): 19816-19824.

- Tine , s. 2013.** Etude de la biodiversité des blattes dans la région semi- arides et arides et évaluation de l'impact 'insecticides chez *Blattella germanica* et *Blatta orientalis* (Dictyoptera, Blattellidae). Université Badji Mokhtar Annaba. 202p.
- Ting, X. 2013.** Control of germline stem cell self-renewal and differentiation in the *Drosophila* ovary: concerted actions of niche signals and intrinsic factors. *Dev. Biol.* **2**: 261-273.
- Tokuda S , Niisato N , Nakajima K , Marunaka Y ., 2008 .** Regulation of the paracellular Na⁺ and Cl⁻ conductances by the NaCl-generated osmotic gradient in a manner dependent on the direction of osmotic gradients. *Biochem Biophys Res Commun.* 8 février 2008; 366 (2): 464-70.
- Toshio M, Peter R, Conrad HE. 2004.** Structures of six Coleons (Diterpenoids) From *Solenostemon monostachyus* (P. Beauv.) Briq. (Labiatae). *Helvetica Chimica Acta*- Vol. 63, Fasc.1-Nr.9 .
- Tsuzuki Y ,Edward. B, Robert . B, Campbell , Lei Xu, Peter Carmeliet , Dai Fukumura & Rakesh K. Jain., 2001.** *In vivo* measurement of gene expression, angiogenesis and physiological function in tumors using multiphoton laser scanning microscopy . *Nature Medicine* **7**, 864 – 868.
- Tufail, M., Nagaba, Y., Elgendy, A-M. & Takeda, M. 2014.** Regulation of vitellogenin genes in insects. *Entomological Science* **17**(3): 269–282.
- Tu, M. P., Yin, C.M. & Tahar, M. 2002.** Impaired ovarien ecdysone synthesis of *Drosophila melannogaster* insulin receptor mutants. *Aging. Cell.*, **1**: 158-160.
- 
- Valles S. M., Dong K. & Brenner R. J., 2000.** Mechanisms responsible for cypermethrin resistance in a strain of German cockroach, *Blattella germanica*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **66**: 195-205.
- Vanheudsen H., and Candlaw J H., 1989.** An Insect transport particle promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *J. Biad. CHEM.* **264**: 17287 – 17292.



- Wang C., Scharf M. E., Bennett G. W., 2004.-** Behavioral and physiological resistance of the German cockroach to gel baits (Blattodea: Blattellidae).- *Journal of Economic Entomology*, 97: 2067-2072.
- Wang D., Gong P., Li M., qiu X., Wang K., 2009.-**Sublethal effects of spinosad on survival, growth and reproduction of *Helicoverpaarmigera*(Lepidoptera: Noctuidae).- *Pest Management Science*, 65: 223-227.
- Wang X. Y., Jarjees E. A., Mcgraw B. K., Bokonon-Ganta A. H., Messing R. H., Johnson M. W., 2005.** effects of spinosad-based fruit fly bait GF-120 on tephritid fruit fly and aphid parasitoids.- *Biological Control*, 35: 155-162.
- Wang, D., Wang, Y.M., Liu, H.Y., Xin, Z. & Xue, M. 2013.** Lethal and sublethal effects of spinosad on *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Econ Entomol.* 106(4): 1825-1831.
- Wang, H., Lai, D., Yuan, M. & Xu, H. 2014.** Growth inhibition and differences in protein profiles in azadirachtin-treated *Drosophila melanogaster* larvae. *Electrophoresis.* 35(8): 1122-1129.
- Warren. J. T., Sakurai. S ., Rountree. D. B., Gilbert L I., Lee.S. S., and Nakanishi. K . 1988.** Regulation of the ecdysteroid titer of *Manduca sexta*: reappraisal of the role of the prothoracic glands. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Issue.* vol. 85 no. 3. 958–962.
- Wattiez C. & Beys B., 1999.** Pas de pesticides à la maison solution sans danger pour le contrôle de Bestioles indésirables. *Pest. Action. Network (Pan) Belgium. Yip.*
- Weisberg S., 1985.** Mintab reference manuel PA. States College. Minitab, p. 232.
- Wen Z., 2000.** Cloning of five novel cytochrome P450 and related pseudogenes from German cockroaches, *Blattella germanica*: implication for function, nomenclature, expression studies and molecular evolution. *PhD. Dissertation. Cornell University, Ithaca, NY.*

- Wen Z. & Scott., 2001.** Cloning of two novel P450 cDNAs from German cockroaches, *Blattella germanica* (L.): CYP6K1 and CYP6J1. *Insect. Molecular. Biology.*, 10 (2): 131-137.
- White, N.J., Pukrittayakamee S., Hien T.T., Faiz M.A., Mokuolu O.A, & Dondorp, A.M. 2014.** paludisme. *Lancet.* 383(9918): 723-735.
- Wiens, A.W., & Gilbert, T. 1967.** Regulation of carbohydrate mobilization and utilization in *leucophaeo maderae*. *J. Insect physiol.* **13**: 779-794.
- Wing K D, Schnee M E, Sacher M, Connair M, Scott M T, Rhodes B G, Ryan D L, Li Y, Gaddamidi V, Brown A M. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 1998,** 37(1):91–103 .
- Wing K. D., Andaloro J. T., McCann S. F., Salgado V. I., 2005.**-Indoxacarb and the sodium channel blocker insecticides: chemistry, physiology and biology in insects, pp. 30- 53. In: *Comprehensive insect science. Insect control. Vol 6.*
- Wing K. D., Schnee M. E., Sacher M., Connair M., 1998.-** A novel oxadiazine insecticide is bioactivated in Lepidopteran larvae.- *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 37: 91-103.
- Wing K.D. & Ramsay J.R. 1989.** other hormonal agencies: ecdysone agonists. Inprog. Prospect. Insect. Control. BCPC Monogr. 43: 107-117.
- Wing K.D., Sacher M., Kagaya Y., Tsurubuchi Y., Mulderig L., Connair M. and Schnee M., 2000.** Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects.. *Crop Protection.* 19:537-545.
- Wing KD, Andaloro JT, McCann SF, Salgado VL 1998.** Indoxacarb and the sodium channel blocker insecticides: chemistry, physiology and biology in insects. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill SS, editors. *Comprehensive molecular insect science.* Oxford: Elsevier; 2004. 31–53.
- Wigglesworth V.B., 1972.** The principles of insect physiology. Seven/h Edition. Chapman and Hall, 827 p.
- Woodruff . L.C, 1938:** The normal growth rate of *Blattella germanica* . *Journal of Experimental Zoology*, 1938 - Wiley Online Library Einstein, Phys. Rev. 47, 777-780.

Wyss-Huber M. & Lischer M., 1972. *In vitro* synthesis and release of proteins by fat Body and ovarian tissue of *Leucophale maderae* during the sexual cycle. *J. Insect. Physiol.*, 18: 689-710.



Yamanaka, N., Rewitz, K. F. & O'Connor, M. B. 2013. Ecdysone Control of Developmental Transitions: Lessons from *Drosophila* Research. *Annu. Rev. Entomol.* 58 :497-516.

Yang Y., Wu Y., Chen S., Devine G.J., Denholm I., Jewess P. & Moores G.D., 2004. The involvement of microsomal oxidases in pyrethroid resistance in *Helicoverpa amigera* from Asia. *Insect. Bioch. Molecul. Biol.*, 34: 763-773.

Yen J.L., Batterham P., Gelder B. & Mckenzie J.A., 1996. Predicting resistance and managing susceptibility to cyromazine in the Australian sheep blowfly *Lucilia cuprina*. *Aust. J. Exp. Agri.*, 36: 413-420.

Yezli-Touiker, S. & Soltani-Mazouni, N. 2011. Profil des ecdysteroïdes durant la métamorphose et rapport avec le cycle cuticulaire chez *Ephestia kuehniella* (Insecta, Lepidoptera, Pyralidae). *Synthèse.* 22: 49-55.

Yin CM. 1994. Juvenile hormone III bisepoxide: new member of insect juvenile hormone family. *Zool. Stud.* 33: 237-245.

Yu S.J. & Nguyen S.N., 1992. Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the diamondback moth. *Pestic. Biochem. Physiol.* 44: 74-81.

Yu S. J., Nguyen S. N. & Abo-Elghar G. E., 2003. Biochemical characteristics resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) *Pestic. Biochem, Physiol.* 77:1-11.

Yu S.J., 2004. Induction of detoxification enzymes by triazine herbicide in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pestic. Biochem. Physiol.*, 80: 113-122.

Yu S.J., 2006. Insensitivity of acetylcholinesterase in a field strain of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) *Pestic. Biochem. Physiol.*, 84 (2): 135-142.



- Zhao, P. M.D., Berry R J., Zhu Li., Erickson D, Song Li, M.D., Wang, H.M.D., Lee-Yang C. Wong, M.S., Jacqueline Gindler, M.D., Shi-Xin Hong, M.D., Ling Hao, M.D., M.P.H. 1999.** Prevention of Neural-Tube Defects with Folic Acid in China. *The New England Journal Of Medicine. Engl J Med* 1999; 341:1485-149.
- Zhao HL, Zhao XY, Zhou RL, Zhang TH, Drake S. 2005.** Desertification processes due to heavy grazing in sandy rangeland, Inner Mongolia. *J Arid Environ* 62(2):309–319.
- Zhang GL, Zhang YJ, Dong JW, Xiao X. 2013.** Green-up dates in the Tibetan Plateau have continuously advanced from 1982 to 2011. *P Natl Acad Sci USA* 110(11):4309–4314.
- Zhou B., Hiruma K., Jindra M., Shinoda T., Segraves W.A., Mlone F. & Riddiford L.M., 1998.** Regulation of the transcription factor E 75 by 20-hydroxyecdysone and juvenile hormone in the epidermis of the tobacco *Manduca sexta*, during larval and metamorphosis *Dev. Biol.*, 193: 127-138.
- Zhou, G. & Miesfeld, R. L. 2009.** Energy metabolism during diapause in *Culex pipiens* mosquitoes. *J. Insect Physiol.* 55: 40-46.
- Zhou K. Y., Gao J. R. & Starkey S. R., 2000.** Organophosphate resistance Mediated by Alteration of acetylcholinesterase in a resistant clone of the Greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). *Pestic. Bioche. Physiol.*, 68: 138-147.
- Zhou W, Chung I, Liu Z, Goldin AL, Dong K.A 2004.** voltage-gated calcium selective channel encoded by a sodium channel-like gene. *Neuron* 2004;42:101–12.
- Zhou, G. & Miesfeld, R. L. 2009.** Energy metabolism during diapause in *Culex pipiens* mosquitoes. *J. Insect Physiol.* 55: 40-46.

Annexes : étude statistique

Tableau 1 : Toxicité d'indoxacarbe (%) après 10 jours de traitement administre par ingestion dès l'émergence à l'égard des adultes de *B. germanica*: Anova à un critère de classification et test de tukey($m \pm s$; $n = 4$ répétition comportant chacune 13 individus).

Source	DL	SC	CM	F	P
C2	6	13923,8	2320,6	28,67	0,000
Erreur	14	1133,3	81,0		
Total	20	15057,1			

Niveau	N	Moyenne	EcartType	IC individuel à 95% pour la moyenne Basé sur Ecart-type groupé
1	3	16,67	5,77	(---*--)
2	3	33,33	5,77	(---*---)
3	3	46,67	5,77	(---*---)
4	3	66,67	15,28	(--*---)
5	3	70,00	10,00	(--*---)
6	3	80,00	10,00	(---*---)
7	3	96,67	5,77	(--*---)

Ecart-type groupé = 9,00

Comparaisons deux à deux de Tukey

Taux d'erreur famille = 0,0500
Taux d'erreur individuel = 0,00418

Valeur critique = 4,83

Intervalles pour (moyenne des niveaux par colonne) - (moyenne des niveaux par ligne)

	1	2	3	4	5	6
2	-41,76 8,42					
3	-55,09 -4,91	-38,42 11,76				
4	-75,09 -24,91	-58,42 -8,24	-45,09 5,09			
5	-78,42 -28,24	-61,76 -11,58	-48,42 1,76	-28,42 21,76		
6	-88,42 -38,24	-71,76 -21,58	-58,42 -8,24	-38,42 11,76	-35,09 15,09	
7	-105,09 -54,91	-88,42 -38,24	-75,09 -24,91	-55,09 -4,91	-51,76 -1,58	-41,76 8,42

Tableau 2 : Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30 = 0,127%), administré par ingestion, sur le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B. germanica*: (m ± s ; n = 4). Anova à deux critères de classification.

Source	DFSeq	SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C2	1	114,286	114,286	114,286	44,04	0,000
C3	6	390,179	390,179	65,030	25,06	0,000
C2*C3	6	113,964	113,964	18,994	7,32	0,000
Error	42	109,000	109,000	2,595		
Total	55	727,429				

S = 1,61097 R-Sq = 85,02% R-Sq(adj) = 80,38%

Tableau 3 : Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30 = 0.127%), administré par ingestion, sur le poids frais (mg) des ovocytes par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B.germanica* : Anova à deux critères de classification.

Source	DFSeq	SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C2	6	99,0169	99,0169	16,5028	39,70	0,000
C3	1	3,5502	3,5502	3,5502	8,54	0,006
C2*C3	6	2,9604	2,9604	0,4934	1,19	0,332
Error	42	17,4587	17,4587	0,4157		
Total	55	122,9863				

S = 0,644736 R-Sq = 85,80% R-Sq(adj) = 81,41%

Tableau 4 : Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30 = 0.127%), administré par ingestion, sur la largeur d'ovocyte basal (µm) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B.germanica*. Anova à deux critères de classification.

Source	DFSeq	SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C2	6	326171	326171	54362	28,54	0,000
C3	1	140000	140000	140000	73,50	0,000
C2*C3	6	69600	69600	11600	6,09	0,000
Error	42	80000	80000	1905		
Total	55	615771				

Tableau 5: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30 = 0.127%), administré par ingestion, sur La longueur de l'ovocyte basal (µm) par paire d'ovaires chez les femelles adultes de *B.germanica* .Anova à deux critères de classification.

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C2	6	1802171	1802171	300362	17,77	0,000
C3	1	460829	460829	460829	27,26	0,000
C2*C3	6	362971	362971	60495	3,58	0,006
Error	42	710000	710000	16905		
Total	55	3335971				

S = 130,018 R-Sq = 78,72% R-Sq(adj) = 72,13%

Tableau 6: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30 = 0,127%), administré par ingestion, sur le volume (mm³) de l'ovocyte basal chez les femelles adultes de *B. germanica*. Anova à deux critères de classification.

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C2	6	0,470252	0,470252	0,078375	75,29	0,000
C3	1	0,240516	0,240516	0,240516	231,06	0,000
C2*C3	6	0,262297	0,262297	0,043716	42,00	0,000
Error	42	0,043719	0,043719	0,001041		
Total	55	1,016784				

S = 0,0322632 R-Sq = 95,70% R-Sq(adj) = 94,37%

Tableau 7: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DI 30=0.127), administré par ingestion, sur le contenu de vitellines (µg/paire d'ovaires) chez les femelles adultes de *B. germanica*. Anova à deux critères de classification.

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
C2	1	43,497	43,497	43,497	6,87	0,016
Erreur	22	139,317	139,317	6,333		
Total	23	182,814				

Tableau 8: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DI 30=0.127), administré par ingestion, sur le contenu de vitellines (µg/paire d'ovaires) chez les femelles témoin adultes de *B. germanica*. Anova à un seul critère de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
ages tem	6	36631,9	6105,3	70,29	0,000
Error	14	1216,0	86,9		
Total	20	37847,9			

S = 9,320 R-Sq = 96,79% R-Sq(adj) = 95,41%

Tableau 9: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DI 30=0.127), administré par ingestion, sur le contenu de vitellines (µg/paire d'ovaires) chez les femelles traité adultes de *B. germanica*.

Anova à un seul critère de classification

Source	DF	SS	MS	F	P
ages ind	6	28461,4	4743,6	286,85	0,000
Error	13	215,0	16,5		
Total	19	28676,4			

S = 4,067 R-Sq = 99,25% R-Sq(adj) = 98,90%

Tableau 10 :Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DI 30=0.127), administré par ingestion, sur le contenu de vitellogénines ($\mu\text{g/paire d'ovaires}$) chez les femelles témoins adultes de *B. germanica*. Anova à un seul critère de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
ages cor	6	151126,5	25187,8	323,01	0,000
Error	14	1091,7	78,0		
Total	20	152218,2			

S = 8,831 R-Sq = 99,28% R-Sq(adj) = 98,98%

Tableau 11:Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DI 30=0.127), administré par ingestion, sur le contenu de vitellogénines ($\mu\text{g/paire d'ovaires}$) chez les femelles traités adultes de *B. germanica*. Anova à un seul critère de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
AGES DL	6	85132,9	14188,8	331,68	0,000
Error	14	598,9	42,8		
Total	20	85731,8			

S = 6,541 R-Sq = 99,30% R-Sq(adj) = 99,00%

Tableau 12:Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DI 30), administré par injection, sur le contenu en protéines ovariennes chez les deux femelles adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; n = 8).Anova à deux critères de classification.

Source	DFSeq	SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C2	1	436,88	436,88	436,88	54,27	0,000
C3	6	9481,82	9481,82	1580,30	196,32	0,000
C2*C3	6	209,26	209,26	34,88	4,33	0,003
Error	28	225,39	225,39	8,05		
Total	41	10353,35				

S = 2,83717 R-Sq = 97,82% R-Sq(adj) = 96,81%

Tableau 13: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DI 30), administré par injection, sur le contenu en protéines ovariennes chez les adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à deux critères de classification.

Source	DL	SC séq	SC ajust	CM ajust	F	P
C2	1	11,99	11,99	11,99	0,77	0,000
C3	6	8241,68	8241,68	1373,61	88,02	0,000
C2*C3	6	11,87	11,87	1,98	0,13	0,992
Erreur	28	436,97	436,97	15,61		
Total	41	8702,51				

Tableau 14: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30), administré par injection, sur le contenu en glucides chez les femelles témoins des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à un seul critère de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
ages	6	3721,8	620,3	42,92	0,000
Error	14	202,3	14,5		
Total	20	3924,1			

S = 3,802 R-Sq = 94,84% R-Sq(adj) = 92,63%

Tableau 15: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30), administré par injection, sur le contenu en glucides chez les femelles traités des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à un seul critère de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
ages_1	6	2913,8	485,6	47,69	0,000
Error	14	142,6	10,2		
Total	20	3056,3			

S = 3,191 R-Sq = 95,34% R-Sq(adj) = 93,34%

Tableau 16: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30), administré par injection, sur le contenu en glucides chez les femelles des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à deux critères de classification.

Source	DFSeq	SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C2	1	99,0169	16,5028	16,5028	150,99	0,000
C3	6	3,5502	3,5502	3,5502	114,35	0,006
C2*C3	6	2,9604	0,4934	0,4934	16,39	0,032
Error	42	17,4587	0,4157	0,4157		
Total		55122,9863				

S = 1,42191 R-Sq = 97,14% R-Sq(adj) = 95,81%

Tableau 17: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30), administré par injection, sur le contenu en glucides chez les mâles témoins des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à un seul critère de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
ages tem	6	1219,080	203,180	237,59	0,000
Error	14	11,972	0,855		
Total	20	1231,052			

S = 0,9247 R-Sq = 99,03% R-Sq(adj) = 98,61%

Tableau18: Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30), administré par injection, sur le contenu en glucides chez les males traité des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$).

Anova à un seul critère de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
ages in	6	399,56	66,59	49,07	0,000
Error	14	19,00	1,36		
Total	20	418,56			

S = 1,165 R-Sq = 95,46% R-Sq(adj) = 93,52%

Tableau19: Effets *in vivo* de l'indoxacarbe (DL30), administré par injection, sur le contenu en glucides chez les males des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à deux critères de classification.

Source	DFSeq	SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C2	1	330,63	305,28	305,28	150,99	0,000
C3	6	1394,15	1387,19	231,20	114,35	0,000
C2*C3	6	198,85	198,85	33,14	16,39	0,000
Error	28	56,61	56,61	2,02		
Total	41	1980,24				

S = 1,42191 R-Sq = 97,14% R-Sq(adj) = 95,81%

Tableau 20: Effets *in vivo* de l'indoxacarbe (DI30), administré par ingestion, sur le contenu en lipides chez les femelles témoins des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à deux critères de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
ages	6	24492,41	4082,07	447,52	0,000
Error	14	127,70	9,12		
Total	20	24620,12			

S = 3,020 R-Sq = 99,48% R-Sq(adj) = 99,26%

Tableau 21: Effets *in vivo* de l'indoxacarbe (DI30), administré par ingestion, sur le contenu en lipides chez les femelles traités des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à deux critères de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
ages	6	5536,11	922,68	331,83	0,000
Error	14	38,93	2,78		
Total	20	5575,04			

S = 1,668 R-Sq = 99,30% R-Sq(adj) = 99,00%

Tableau 22: Effets *in vivo* de l'indoxacarbe (DI30), administré par ingestion, sur le contenu en lipides chez les femelles des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à deux critères de classification.

Source	DFSeq	SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C2	1	560,77	560,77	560,77	274,48	0,000
C3	6	5549,16	5549,16	924,86	452,69	0,000
C2*C3	6	237,29	237,29	39,55	19,36	0,000
Error	28	57,21	57,21	2,04		
Total	41	6404,43				

Tableau 23: Effets *in vivo* de l'indoxacarbe (DI30), administré par ingestion , sur le contenu en lipides chez les males témoins des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à un seul critère de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
Ages	6	2776,43	462,74	183,61	0,000
Error	14	35,28	2,52		
Total	20	2811,71			

S = 1,588 R-Sq = 98,75% R-Sq(adj) = 98,21%

Tableau 24: Effets *in vivo* de l'indoxacarbe (DI30), administré par ingestion , sur le contenu en lipides chez les males traités des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à un seul critère de classification.

Source	DF	SS	MS	F	P
ages	6	3010,02	501,67	320,36	0,000
Error	14	21,92	1,57		
Total	20	3031,95			

S = 1,251 R-Sq = 99,28% R-Sq(adj) = 98,97%

Tableau 25 : Effet *in vivo* de l'indoxacarbe (DI30), administré par ingestion , sur le contenu en lipides chez les males des adultes de *B. germanica* ($m \pm s$; $n = 8$). Anova à deux critères de classification.

Source	DFSeq	SS	Adj SS	Adj MS	F	P
C2	1	560,77	560,77	560,77	274,48	0,000
C3	6	5549,16	5549,16	924,86	452,69	0,000
C2*C3	6	237,29	237,29	39,55	19,36	0,000
Error	28	57,21	57,21	2,04		
Total	41	6404,43				

Tableau 26: Epaisseur d'épithélium folliculaire (μm) des ovocytes pendant le cycle de développement ($n = 3$). Anova à un seul critère de classification chez les séries témoins. One-way ANOVA: mou1 versus age1

Source	DF	SS	MS	F	P
ages	3	6,6916	2,2305	31,77	0,000
Error	8	0,5617	0,0702		
Total	11	7,2533			

S = 0,2650 R-Sq = 92,26% R-Sq(adj) = 89,35%

Grouping Information Using Tukey Method

ages	N	Mean	Grouping
4	3	3,1100	A
6	3	2,6700	A
2	3	1,6633	B
0	3	1,2533	B

Tableau 27: Epaisseur d'épithélium folliculaire (μm) des ovocytes pendant le cycle de développement (n = 3). Anova à un seul critère de classification chez les series traites.

One-way ANOVA: moy trai1 versus ages

Source	DF	SS	MS	F	P
ages	3	6,3007	2,1002	208,13	0,000
Error	8	0,0807	0,0101		
Total	11	6,3814			

S = 0,1005 R-Sq = 98,73% R-Sq(adj) = 98,26%

Grouping Information Using Tukey Method

ages	N	Mean	Grouping
4	3	2,7300	A
2	3	1,3867	B
6	3	1,3067	B
0	3	0,7613	C

Tableau 28: Epaisseur d'épithélium folliculaire (μm) des ovocytes pendant le cycle de développement (n = 3). Anova à un deux critères de classification.

Analysis of Variance for moy av2, using Adjusted SS for Tests

Source	DF	Seq SS	Adj SS	Adj MS	F	P
ages av2	3	11,8760	11,8760	3,9587	98,59	0,000
traitment	1	2,3663	2,3663	2,3663	58,93	0,000
ages av2*traitment	3	1,1162	1,1162	0,3721	9,27	0,001
Error	16	0,6425	0,6425	0,0402		
Total	23	16,0010				

S = 0,200384 R-Sq = 95,98% R-Sq(adj) = 94,23%

PRODUCTION SCIENTIFIQUE

1. Publications

Amel Djemaoun & Dahbia Habes, Nouredine Soltani., 2015. Effects of ingested indoxacarb (Oxadiazine) on biochemical composition of ovaries in *Blattellagermanica* (Dictyoptera, Blattellidae), Journal of Entomology and Zoology Studies 2015; 3 (3): XX-XX.

2. Communications

Communications internationales (3)

- 1- Amel DJEMAOUN & HABES DAHBIA, Nouredine Soltani., 2012. Evaluation d'un insecticide, sur la reproduction d'un modèle à intérêt médicale *Blattella germanica*. Le 3^{ème} Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie et d'Ichtyologie.6 -10 Novembre 2012 - Marrakech – Maroc (Affiché).**

- 2- Amel DJEMAOUN & HABES DAHBIA, Nouredine Soltani., 2013. Effets de l'indoxarbe (oxadiazine) sur la biochimie des testicules de *Blattellagermanica* (Dictyoptera, Blattellidae). La deuxième édition du Congrès International de la Bio-Surveillance de l'Environnement Les 24, 25 et 26 Octobre 2013 à Casablanca-Maroc (Affiché)**

- 3- HABES DAHBIA &Amel DJEMAOUN, Nouredine Soltani., 2013. Effets de l'indoxacarbe (oxadiazine) sur les métabolites ovariens de *Blattellagermanica* (Dictyoptera, Blattellidae) insecte à intérêt médical. La deuxième édition du Congrès International de la Bio-Surveillance de l'Environnement Les 24, 25 et 26 Octobre 2013 à Casablanca-Maroc (Orale).**



E-ISSN: 2320-7078
P-ISSN: 2349-6800
JEZS 2015; 3(3): 362-366
© 2015 JEZS
Received: 28-04-2015
Accepted: 30-05-2015

Amel Djemaoun

Laboratory of Applied Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University Badji Mokhtar, Annaba, 23000-Annaba, Algeria.

Dahbia Habes

Laboratory of Applied Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University Badji Mokhtar, Annaba, 23000-Annaba, Algeria.

Noureddine Soltani

Laboratory of Applied Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University Badji Mokhtar, Annaba, 23000-Annaba, Algeria.

Effects of ingested indoxacarb (Oxadiazine) on biochemical composition of ovaries in *Blattella germanica* (Dictyoptera, Blattellidae)

Amel Djemaoun, Dahbia Habes, Noureddine Soltani

Abstract

Cockroaches are generally controlled by conventional insecticides such as organochlorines, organophosphates and carbamates. However, these conventional neurotoxins possess strong secondary effects on the environment. In this context, the efficacy of a commercial formulation of indoxacarb (30% WG) was evaluated on *Blattella germanica* L. (Dictyoptera, Blattellidae), the most common species in Algeria. In a first series of experiment, the compound was applied by ingestion incorporated into the diet at different doses (0.125, 0.25, 0.50, 0.75, 1 and 2%) on adult females during a exposure period of 10 days under laboratory conditions. In a second series of experiment, the insecticide was tested by ingestion at the dose LD₃₀= 0.127 %, on newly emerged adult females. Its effect was investigated on ovarian contents of proteins, carbohydrates and lipids. Results showed that treatment caused disoriented movements followed by tremors and paralysis. Moreover, biochemical analyzes revealed that the insecticide at the sublethal dose decreased the ovarian levels of proteins, carbohydrates and lipids. These biochemical modifications observed in *B. germanica* ovaries suggested an interference of indoxacarb with the reproductive process.

Keywords: *Blattella germanica*, Indoxacarb, Toxicity, Ovaries, Biochemical components.

1. Introduction

Cockroaches are generally associated with grossly unsanitary conditions ^[1] and are considered as the most important pests in the urban environment ^[2]. Several species of cockroach are known to carry pathogenic or potentially pathogenic bacteria on or within their body and are important for medical and public health points of view ^[3, 4]. In fact, infestations are frequently associated with human sensitization to cockroach allergens and the development of allergic respiratory diseases ^[3, 4] and its ability to build up large infectious populations. Neurotoxic insecticides, such as organophosphates carbamates and pyrethroids, are commonly used to control cockroach infestations ^[5] but these compounds have led to the development of insect resistance ^[8]. In Algeria, the German cockroach, *Blattella germanica* L., is the most common domiciliary cockroach species and conventional insecticides were widely used for many years to control their infestations ^[6, 7]. Because secondary effects of these conventional insecticides in environment, alternative new insecticides were searched for controlling domestic cockroaches ^[8] such as boric acid ^[6, 7], ecdysteroid agonists and tebufenozide ^[9, 10] or indoxacarb ^[11, 12]. Indoxacarb belongs to a new class of insecticides, the oxadiazole. It is reported to act via blockage of the sodium channels in the insect nervous system resulting in paralysis and dead ^[13] and to exhibit insecticidal activity against a wide range of insect pests with low ectotoxicological risks ^[14, 15]. Indoxacarb was found toxic when applied orally ^[14] and also by topical application ^[14, 11, 12]. The objective of the present work is to evaluate the efficacy of Indoxacarb as a chemical control by applied orally and its effect on some biological and biochemical aspects and the most toxic mode of application of adult females of *B. germanica*.

2. Material and methods

2.1. Animals

The present study was carried out from September 2013 to December 2014 at laboratory of Applied Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Badji-Mokhtar of Annaba, Algeria. Colonies of *B. germanica* were reared in plastic containers (30 x 30 x 30 cm) and maintained at 27 ± 1 °C, under a 12h dark regime and 80 ± 1%

Correspondence:

Dahbia Habes

Laboratory of Applied Animal Biology, Department of Biology, Faculty of Science, University Badji Mokhtar, Annaba, 23000-Annaba, Algeria.

relative humidity. The cockroaches were provided ad libitum with water and dog food pellets (France) as described previously [9].

2.2. Insecticide and treatment

Indoxacarb a commercial 30WG formulation (water dispersible granule, 30% active ingredient) was obtained from DuPont, Wilmington, DE, USA). The compound was incorporated (w/w) into the diet and given as food to the tested insects. Control cockroaches were provided with untreated diet. Different concentrations (0.125, 0.25, 0.50, 0.75, 1 and 2%) were orally administered to newly emerged male and female adults. The bioassay was conducted with three replicates each containing 13 insects per dose. Mortality was observed at 10 days follow-up treatment to sublethal concentration (LD₃₀) and lethal (LD₉₀) were estimated.

2.3. Collection of samples and extraction of ovarian biochemical components

An extra series of newly molted adult females was treated orally with indoxacarb at its LD₃₀ (0.127 % = W/W) as determined above. The extraction of principal biochemical components of the ovaries from *B. germanica* adult females was carried out by the method of Shibko *et al.* [16]. Paired ovaries were sampled at different times during the first gonadotrophic cycle in control and treated series and homogenized in trichloro acid acetic (TCA, 20%). After homogenization with ultrasound (Sonifier B-30) and centrifugation (5000 g / min for 10 min), the first supernatant is got back and will be of use to the dosage of carbohydrates. In the base 1, we add 1 ml of mixture ether / chloroform (V/V) and the second centrifugation (5000 g / min for 10 min), the base 2 will then be taken back in 1 ml of water distilled for the estimation of total proteins and the second supernatant is got back and will be of use to the quantification of lipids.

Table 1: Corrected mortality (%) as function of the concentration of indoxacarb (0.125,0.25, 0.5,0.75,1,2.) at the duration of treatment (10 days) after oral application on newly emerged *B. germanica* adults(Means± SD: established on three replicates each containing 13 cockroaches).

Doses (%)	0.125	0.25	0.5	0.75	1	2
Corrected mortality (%)	33.33±5.77	46.67±5.77	66.67±15.28	73.33±5.77	83.33±5.77	96.66±5.77

Table 2: Lethal and sublethal doses of indoxacarb when the compound was orally applied on newly emerged adults of *B. germanica*. The data are expressed as lethal LD50 and sublethal LD30 doses together with the corresponding 95 % fiducial limits (95 % FL) determined at day 10 following treatment.

LD ₃₀ (95%FL) (%)	LD ₅₀ (95%FL) (%)	LD ₉₀ (95%FL) (%)	Slope
0.127 (0.07-0.20)	0.262 (0.19-0.35)	1.720 (0.92-3.21)	1.151 (0.75-1.59)

These symptoms of poisoning can be explained by the neurotoxic activity of indoxacarb following a blockage of neuronal voltage dependent sodium channels in muscle and nerves cells [15]. These symptoms were also observed and described previously in *B. germanica* after treatment with boric acid [6, 7], or after topical application of indoxacarb, spinosad [10, 12], and also after topical application tebufenozide [9]. In *B. germanica*, indoxacarb was more efficacious than boric acid [7], spinosad and Tebufenozide [11, 9]. Indoxacarb was more toxic by topical application (LC 50= 17.2 ppm at 6 days) than oral application (LD50= 0.262% at 10 days) against *B. germanica*. This insecticide was also toxic after topical

2.4. Quantification of biochemical components

Ovarian proteins were quantified using the method of Bradford [17] in an aliquot (100 µl) using the Coomassie Brilliant Blue G 250 (BBC) as a reagent and bovine serum albumin (BSA) as standard (Sigma). The reading of absorbance was performed at a wavelength of 595 nm. The determination of carbohydrates was performed on an aliquot (100µl) according to Duchâteau and Florkin [18]. This method uses anthrone as a reagent and glucose (Sigma) as standard. The absorbance was estimated with a spectrophotometer at a wavelength of 620 nm. Lipid amounts were estimated based on the vanillin method of Goldsworthy *et al.* [19]. Data on ovarian biochemical components were expressed in µg/ mg ovaries.

2.5. Statistical Analysis

Results are represented as the mean ± S.E.M. The toxicity was performed using Graph-Pad prism version 5.00 for Windows Software, La Jolla California, U.S.A., www.Graphpad.com [20]. The percentages of mortality were analyzed using non-linear sigmoid curve fitting. The effect of treatment on biochemical parameters was assessed using Student's *t*-tests at *P* < 0.05. Statistical analysis was performed using MINITAB version 16 software [21].

3. Results and Discussion

3.1. Insecticidal activity

Treated adults showed symptoms of poisoning by inhibition of the insect locomotory activity followed by paralysis and death. Our data also revealed that the mortality varied from 33.33 ± 5.77 % at a dose of 0.125% to 96.66±0.00% at a dose of 2% (Table 1). No mortality was recorded in the control series. The LD₃₀ and LD₉₀ values (95% fiducial limits, R2=0.96) are given in Table 2. The insecticide effects are correlated to the concentration of indoxacarb and the time of exposure (*p* < 0.001). One-way ANOVA followed by a Tukey test revealed 5 groups of concentrations.

application against Hemiptera like *Lygus lineolaris* and *Geocoris punctipes* [22] and Lepidoptera *Ostrinia nubilalis* [23]. This compound exhibits also strong activity against lepidopteran pests [23]. Thus, many conventional pesticides have been replaced by newer low risk insecticides with different mode of action like biopesticides [24] or insect growth regulators [11].

3.2. Effect on amounts of carbohydrates, total proteins and lipids in the ovaries

Indoxacarb was applied *in vivo* by ingestion at the dose LD30 =0.127%, on newly emerged adult females of *B. germanica*. The effect of this insecticide was evaluated at different ages (0, 1, 2, 3,4,5 and 6 days) after emergence on ovarian content of proteins, carbohydrates and lipids. Indoxacarb was reported to be more effective following ingestion than after topical treatment [11, 12]. This was correlated with its action as a sodium channel blocker insecticide. It is observed that indoxacarb affects the rate of proteins, carbohydrates and lipids (Figure.1). In the control, the contents of main components of ovaries (proteins, carbohydrates and lipids) increased and showed a peak at day 4 after adult emergence related with the vitellogenesis process. The ovarian protein

content was affected in the treated series at 1.2 and 4.5.6 ($p=0.000$) (Figure 1A). Treatment reduced significantly also the ovarian carbohydrates and lipids content with a dose-response relationship at all ages (one, two, three, four, five and six days) with the LD30 ($p=0.004, 0.006, 0.012, 0.001, 0.000$ and 0.0009 respectively) as compared to the controls (Figure 1B and 1C). These effects were dose-dependent. ANOVA showed a significant effect of the compound ($P < 0.001$) as function of the dose ($p=0.001$) and the different ages ($p=0.001$) for all ovarian components.

In *B. germanica*, the vitellogenesis and maturation of oocyte depends on juvenile hormone III synthesized by the corpora allata [24]. The relative activity of corpora allata in adult female is dependent and modulated by intrinsic signals that originate in the brain and ovaries, which can be influenced by the social status of the female [10,11]. Yolk or growth phase is the accumulation of various materials and energy (proteins, carbohydrates and lipids). The yolk proteins are formed from exogenous proteins from the hemolymph or endogenous proteins synthesized by the oocyte itself. The yolk platelets are composed of mucoproteins or glycoproteins, and other reserves that are in the form of glycogen. Vitellogenin is a yolk precursor protein in oocytes of insects [23] and is synthesized in fat and secreted in the hemolymph and then sequestered by endocytosis in developing oocytes [24]. Oocyte maturation depends on metabolites collected from the hemolymph and *in situ*, materials synthesized by the ovary [25], but depend mainly on the protein, a major component of yolk [7]. The quantity of lipids available for the reserves seems to be the result of a balance between the catch of food and the requests for reserves by processes such as reproduction, maintenance and growth, and this balance is disturbed by any toxic product [26, 24]. The lipids represent the independent source of energy in insects and are transported via the haemolymph; from their synthesis site of storage, to be used at the time of vitellogenesis [26]. Carbohydrates are mobilized mainly from glycogen reserves in the fat body, under neuropeptide induction, resulting in increased level of soluble carbohydrates in haemolymph [27] and as energy elements play a crucial role in the physiology of the insects [29]. The biochemical composition of the ovaries of adult female *B. germanica* was assessed at different ages during sexual maturity. It was reported that Indoxacarb at sublethal concentration caused feeding deterrent activity of *S. litura* (F.) larvae [30].

The results show a change in the concentrations of protein, carbohydrates and lipids during the first four days of adult correlated with vitellogenesis [28, 31].

Our results show that indoxacarb test at the LD30, affected the vitellogenesis by a reduction of ovarian contents of proteins, carbohydrates and lipids. Furthermore, inhibition of vitellogenesis in *B. germanica* was also observed during treatment with other types of insecticides such as boric acid [7], the benfuracarb, a carbamate and acetamiprid imidacloprid a neonicotinoid and azadiractin [24, 28, 31].

Maiza *et al.* [11] also reported that the application of indoxacarb in *B. germanica* reduced the ovarian contents and that the tebufenozide, imidacloprid affected the reproduction of the German cockroach [9, 31]. Ecdysteroids are synthesized by the follicle cells in the ovaries and are available to develop embryos and pre-hatching larvae [26]. The application of an analogue of the molting hormone, halofenozide, affects the ovarian content of protein and carbohydrates in *B. germanica* [10].

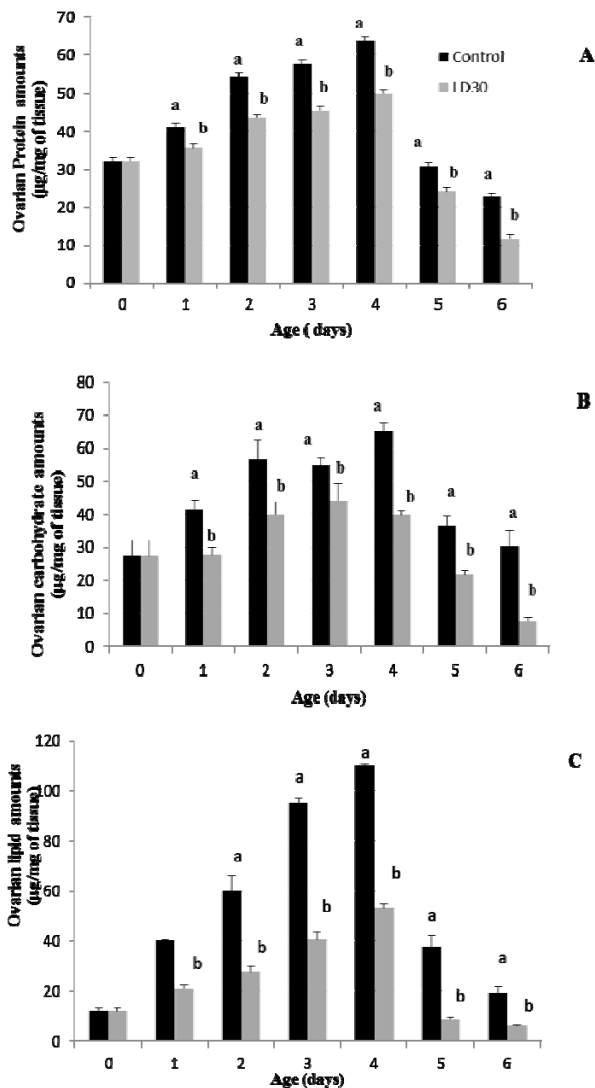


Fig 1: Effect of indoxacarb applied by ingestion (LD₃₀=0.127%) on newly emerged female adults of *B. germanica*, on the ovarian content ($\mu\text{g}/\text{mg}$ of tissue) of proteins (A) and carbohydrates (B). Values are presented by the (Mean \pm SD; $n=6-8$; values of the same age followed by different letters are significantly different $p < 0.05$).

Captropril applied topically on newly emerged adult females of *T. molitor* was found to reduce significantly both carbohydrate, lipid, protein and RNA amounts of ovaries [32]. Similarly, these biochemical modifications also observed in *Ephestia kuehniella* suggested an interference with the reproductive events probably *via* the vitellogenesis process and/or its endocrine regulation [33]. This is supported by the reduction of both vitellogenin titers in *N. bullata* and oviposition in *S. littoralis* [32].

The reduction rates of these various metabolites in the ovaries of *B. germanica* after treatment with indoxacarb can be probably explained by its neurotoxic action and an interference with the HJ and ecdysteroids that can lead to a disruption of the endocrine regulation controlling vitellogenesis. The decline in juvenile hormone interferes with synthesis and release of vitellogenin by the fat body in the hemolymph and their incorporation into the oocytes [34]. Although the activation metabolism of indoxacarb was proven in lepidopteran insects, different resistance levels to indoxacarb might be observed because of the presence of various resistance mechanisms in *Plutella xylostella* [35].

4. Conclusion

Indoxacarb exhibited insecticidal activity against *B. germanica*. It was found more toxic by topical application than oral application. The current biochemical study revealed that this compound at the tested dose (LD₃₀= 0.127%) also affected reproduction as evidenced by a reduction in ovarian constituents with. The overall data suggested an interference of indoxacarb with the vitellogenesis process.

5. Acknowledgements

This work was supported by the National Fund for Scientific Research to Pr. N. Soltani and the Ministry of High Education and Scientific Research of Algeria (CNEPRU and PNR projects).

6. References

- Ebelling W. Ecological and behavioural aspects of Cockroach management, MR. Gorham ed, Ecology and management of food- Industry pests. FA Technical Bulletin 4. Association of official Analytical chemist, Arlington, VA, 1991, 85-113.
- Cloarec A, Rivault C, Fontaine F, Le Guyader A. Cockroaches as carrier of bacteria in multi-family dwelling. Epidemiol. Infect 1992; 109: 483-490.
- Mindykowski B, Jaenicke E, Tenzer S, Cirak S, Schweidardt T, Schild H *et al.* Cockroach allergens Per a 3 are oligomers. Dev Comp Immunol 2010; 34(7):722-33.
- Nejati J, Keyhani A, Moosa-kazemi SH, Mohammadi M, Mahjoob M, Boostan Bakhsh A. Cockroaches' bacterial infections in wards of hospitals, Hamedancity. Asian Pacific Journal of Tropical Disease 2012; 2(5):381-384.
- Rust MK, Owens JM, Reiersen DA. Understanding and controlling the German cockroach. New York-Oxford. Oxford University Press, 1995, 265.
- Habes D, Morakchi S, Aribi N, Farine JP, Soltani N. Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione Stransferase activity. Pestic. Biochem. Physiol 2006; 84:17-24.
- Habes D, Messiad R, Gouasmia S, Grib L. Effects of an inorganic insecticide (boric acid) against *Blattella germanica*: Morphometric measurements and biochemical composition of ovaries. Afr. J. Biotechnol 2013; 12(18):2492-2497.
- Valles SM, Koehler PG, Brenner RJ. Comparative insecticide susceptibility and detoxification enzyme activities among pestiferous Blattodea Comp. Biochem. Physiol. Part C124, 227, 1999.
- Kilani-Morakchi S, Badi A, Aribi N, Farine JP, Soltani N. Toxicity of tebufenozide, an ecdysteroid agonist, to *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae). African Entomology 2014; 22(2):337-342
- Kilani-Morakchi S, Aribi N, Farine JP, Smagghe G, Soltani N. Effects of tebufenozide on ovarian growth and sexual behaviour in the German cockroach (*Blattella germanica*). Comm. Appl. Biol. Sci. Ghent Univ 2009; 74(2): 429-436.
- Maiza A, Aribi N, Soltani N. Effect of an oxadiazine indoxacarb, on the biochemical composition of ovaries in the german cockroach. Commun. Appl. Biol. Sci. Ghent Univ 2010; 75(3):359- 366.
- Maiza A, Aribi N, Smagghe G, Kilani morakchi S, Bendjedid M, Soltani N. Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroaches *Blattella germanica*. Bulletin of Insectology 2013; 66 (1):11-20.
- Nehare S, Moharil MP, Godki BS, Lande GK, Bisane KD, Thkare AS *et al.* Biochemical analysis and synergist suppression of indoxacarb resistance in *Plutella xylostella* L. J. Asia-Pacifique Entomol 2010; 13:91-95.
- Mahmoudvand M, Abbasipour H, Garjan AS, Bandani AR. Sublethal effects of indoxarb on the diamondback moth, *Plutella xylostella* (L) (Lepidoptera: Yponomeutidae). Appl Entomol Zool 2011; 46:75-80.
- Wing KD, Sacher M, Kagaya Y, Tsurubuchi Y, Mulderig L, Connair M *et al.* Bioactivation and mode of action of the oxadiazine indoxacarb in insects. Crop Protection 2000; 19:537-545.
- Shibko S, Koivistoinen P, Tratnyek CA, Newhall AR, Friedman L. A method for sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid, and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. Analytical Biochemistry 1966; 19:514-528.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for quantitation of microgram quantities on protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 1976 ; 72:248-254.
- Duchâteau G, Florin M. Sur la trehalosemie des insectes et sa signification. Archives Internationales de Physiologie et Biochimie 1959 ; 67(2):306-314.
- Goldsworthy J, Mordue W, Guthkelch J. Studies on insect adipokinetic hormones. General and Comparative Endocrinology 1972; 18:545-551.
- GraphPad Prism version 5.00 for Windows, GraphPad Software, San Diego California USA, www.graphpad.com.
- MINITAB statistical software standard version 13, 2003 (Penn State College, PA, USA) S. Weisberg. Minitab reference manual PA. States College. Minitab, 1985, 232.
- Tillman PG, Hammes GG, Sacher M, Connair M, Brady EA, wing KD. Toxicity of a formulation of the insecticide indoxacarb to the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae), and the big-eyed bug, *Geocoris punctipes* (Hemiptera: Lygaeidae). Pest Management Science. 2001; 58:92-100.
- Alves AP, Allgeier WJ, Siegfried BD. Effects of the synergist S,S,S-triphosphorothioate on indoxacarb toxicity and metabolism in the European *Ostrinia nubilalis* (Hübner). Pesticide Biochemistry and Physiology 2008; 90:26-30.
- Tine S, Aribi N, Soltani N. Laboratory evaluation of azadiractin against the oriental cockroach, *Blatta orientalis* L. (Dictyoptera, Blattellidae): Insecticidal activity and reproductive effects. Afr. J. Biotechnol 2011; 10(85):19816-19824.
- Raikhel AS, Dhadialla TS. Accumulation of yolk proteins in insect oocytes. Ann. Rev. Entomol 1992; 37:217-251.
- Lafont R, Dauphin- Villemant C, Warren JT, Rees H. Ecdysteroid chemistry and biochemistry. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill SK, editors. Comprehensive molecular insect science. Oxford: Elsevier 2005; 3:125-195.
- Gäde G. Regulation of intermediary metabolism and water balance of insects by neuropeptides. Annual Rev. Entomol 2004; 49:93-113.
- Maiza A, Kilani-Morakchi S, Farine JP, Smagghe G, Aribi N, Soltani N. Reproductive effects in german cockroaches by ecdysteroid agonist RH-0345, juvenile hormone analogue methoprene and carbamate benfuracarb. Commun. Appl. Biol. Sci. Ghent Uni 2004; 69:257-266.
- Kaufmann C, Brown MR. Regulation of carbohydrate

- metabolism and flight performance by a hypertrehalosaemic hormone in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Journal Insect Physiol* 2008; 54:367-377.
30. Vishal M, Rahman SMA, Kuldeep S, Nayak SK. Antifeedant effects of sub-lethal concentrations of some novel insecticides against tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* (Fab.). *J.Plant Protect. Environ* 2005; 2:118-122.
 31. Messiad R, Habes D, Soltani N. Reproductive effects of a neonicotinoid insecticide (Imidacloprid) in the German Cockroaches *Blattella germanica* L. (Dictyoptera, Blattellidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies* 2015; 3(2):01-06
 32. Soltani-Mazouni N, Hami M, Gramdi H. Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller. *Invertebrate Reproduction & Development* 2012; 56(2):157-163.
 33. Soltani- Mazouni N, Bouteldja D, Lemeire E, Smagghe G. *In vivo* effect of ACE inhibiting in mealworms on ovarian composition and ecdysteroid amounts. *Commun. Agric. Appl. Biol Sci* 2007; 72(3):623-627.
 34. Belles X. Vitellogenesis directed by juvenile hormone, *in: Reproductive Biology of Invertebrates, Part B: Progress in Vitellogenesis*, A.S. Raikhel (Ed), Science Publishers, Enfield, USA/Plymouth, UK 2005; 12:157-197.
 35. Fu-Gen LI, Guo-Min AI, Dong-Yun ZOU, Ying JI, GU Bao-Gen, Xi-Wu GAO. Characterization of Activation Metabolism Activity of Indoxacarb in Insect s by Liquid chromatography - Triple Quadrupole Mass Spectrometry. *Chinese Journal of Analytical Chemistry* 2014; 42(4):463-468.