

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار – مختار

Annaba عنابة



FACULTÉ DES SCIENCES
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE
LABORATOIRE D'ECO-BIOLOGIE DES MILIEUX MARINS ET
LITTORAUX

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

Domaine : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : **Ecologie Environnement**

Spécialité : **Biologie et écologie animale**

Intitulé

« Effets différés des extraits de plantes aromatiques sur le
comportement alimentaire et sexuel de *Drosophila melanogaster*
(Diptera ; Drosophilidae) ».

Presentée par : Mme AMRANI Saliha

Directrice de thèse : HABBACHI Wafa (Pr, Université Badji Mokhtar - Annaba)

Devant un jury composé de :

Pr. BAIRI Abdelmadjid	Président	Professeur	Univ - Annaba
Pr. DJEMLI Samir	Examineur	Professeur	Univ – Annaba
Pr. GRARA Noudjoud	Examinatrice	Professeur	Univ - Guelma
Dr. MESBAHI SALHI Amina	Examinatrice	MCA	Univ- Annaba
Dr. MASNA Fatiha	Examinatrice	MCA	ENS- Laghouat

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Je remercie, en premier lieu, **Mr. BAIRI Abdelmadjid** Professeur à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, pour avoir accepté de présider le jury mais aussi pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire de Neuroendocrinologie appliquée, pour son ouverture d'esprit et sa gentillesse.

Je voudrais également remercier les examinateurs de cette thèse pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail et d'avoir accepté de juger cette thèse : **Mr. DJEMLI Samir** Professeur à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, **Mme. GRARA Noudjoud** Professeur à l'Université de Guelma, **Mme. MESBAHI SALHI Amina** Maître de Conférences à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, **Mme. MASNA Fatiha** Maître de Conférences à l'Ecole National Supérieur de Laghouat.

Je remercie chaleureusement ma directrice de thèse **Mme. HABBACHI Wafa** Professeur à l'Université Badji Mokhtar Annaba, qui a assuré convenablement mon encadrement pour les conseils prodigués, la patience, ceci est déterminant dans la réalisation de ce travail. Je vous remercie **MADAME** aussi pour votre confiance, votre gentillesse et vos qualités humaines... c'était très agréable de travailler avec vous !

Mes hommages et mon gratitude vont aussi à **Mr. BENSOUILAH Mourad** Professeur à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, pour avoir toujours été présent à chaque fois quand j'avais besoin d'aide, ainsi qu'à **DOCTEUR CHENIKI Rachid** Médecin chef du service d'Anatomopathologie à l'Etablissement Hospitalier Spécialisé ElBouni, Annaba de m'avoir permis de travailler au sein de son laboratoire lors de la réalisation des coupes histologiques.

J'associe à ces remerciements toute l'équipe du Département de Biologie, les enseignants-chercheurs, les techniciens, et mes collègues doctorants, pour tous les échanges techniques, scientifiques et pour leur sympathie pendant les années de la thèse.

MERCI à ma famille; **PAPA, MAMAN**, Voilà, on y est, voici enfin le résultat de ces longues années d'études. Vous m'avez donné envie de travailler, d'être fière de moi, et toujours indépendante. Je n'aurais rien accompli de tel sans votre présence et votre soutien. Je vous aime très fort!

Mes chères sœurs et mes chers frères, sans vous je n'aurais pas pu supporter la pression et le stress...Merci pour tout !

Mes très chers enfants **AMINA, RYM, INES** et **NAZIM** c'est avec vous que j'ai partagé mes joies, mes peines, vous m'avez soutenu grâce à votre présence, à votre sourire, votre tendresse...vous êtes adorables mes amours.

A mon cher mari **RADOUENE**, Merci d'avoir toujours accepté mes choix et de m'avoir soutenue à tout moment pour que je puisse réaliser mon rêve... Ta présence dans ma vie m'a donné beaucoup de courage et de joie !

Résumé

A travers les siècles, les traditions humaines ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes. Aujourd'hui le développement d'une conscience collective plus écologique a mené à la lutte biologique qui semble une alternative écologique aux pesticides chimiques. Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales méditerranéennes et en particulier les plantes aromatiques et médicinales d'Algérie, nous avons mené une étude sur *Ruta chalepensis*, une plante aromatique qui appartient à la famille des *Rutacées*, appelée aussi « Fijel » en arabe et « Awernii » en berbère et qui présente une grande diversité des substances à activité antioxydants comme les composés phénoliques et les alcaloïdes, sa présence éloigne les vipères et elle repousse les insectes.

Cette thèse a pour but de contribuer à la connaissance des effets insecticides de l'extrait aqueux et éthanolique de *Ruta chalepensis* sur la mouche de vinaigre *Drosophila melanogaster*.

Dans la première partie de notre thèse nous avons étudié l'impact toxicologique des extraits aqueux et éthanolique de la plante sur la mortalité et le développement de la mouche. Les résultats montrent qu'il existe une forte corrélation positive entre les taux de mortalité et les temps d'exposition aux deux extraits de la plante utilisée, ainsi qu'entre la mortalité et les concentrations préparées. En utilisant la concentration de 150 µg/ml pour l'extrait aqueux de *Ruta chalpensis* on obtient 96,3% de mortalité au bout de 15 jours de traitement, alors que pour l'extrait éthanolique de cette plante provoque un taux de mortalité de 68,75% pour la concentration 1 µg/ml. Nous avons enregistré que Le traitement des larves L2 par ingestion agit aussi sur le développement des mouches, il perturbe la durée et le nombre d'individus.

La seconde partie de notre thèse est d'évaluer les effets différés de différentes concentrations sublétales pour chaque extrait (aqueux et éthanolique) sur le comportement alimentaire des larves de 3^{ème} stade, d'une part et sur le comportement sexuel et le choix d'oviposition des femelles de *D. melanogaster* d'une autre part. Nous avons pu montrer que ces composés avaient un fort impact sur le phénomène d'attraction et l'acuité olfactive d'insectes (larves et femelles de *D. melanogaster*). Elles perdent la faculté de détection d'odeurs d'alimentation ou du site de ponte ; leurs choix est aléatoire. Ses effets, répulsifs ou attractifs, ont également été déterminés. Comme, ils agissent sur le nombre d'œufs pondus. Ce qui signifie que ces bioinsecticides agissent probablement comme des perturbateurs d'information en modifiant la communication chimique, réduisant ainsi les chances de reproduction des insectes cibles. Nous avons aussi réalisé des coupes histologique chez les drosophiles males et femelles (témoins, traités), On a remarqué une destruction plus au moins importante au niveau des tissus des différentes parties de *D. melanogaster* tête, thorax et abdomen.

Mots clés : *Drosophila melanogaster*, *Ruta chalpensis*, insecticide, mortalité, comportement alimentaire, comportement sexuel, comportement de l'ovipostion.

Abstract

Through the centuries, human traditions have developed the knowledge and use of plants. Today, the development of a more ecological collective conscience has led to the biological fight which seems an ecological alternative to chemical pesticides. Within the framework of the development of the Mediterranean plant species and in particular the aromatic and medicinal plants of Algeria, we carried out a study on *Ruta chalepensis*, an aromatic plant which belongs to the family of *Rutaceae*, also called "Fijel" in Arabic and "Awernii" in Berber and which presents a great diversity of substances with antioxidant activity like phenolic compounds and alkaloids, its presence moves away the vipers. It repels insects.

This study aims to contribute to the knowledge of the insecticidal effects of the aqueous and ethanolic extract of *Ruta chalepensis* on the vinegar fly *Drosophila melanogaste*.

In the first part of our thesis we studied the toxicological impact of aqueous and ethanolic extracts of the plant on the mortality and development of the fly. The results show that there is a strong positive correlation between the mortality rates and the exposure times to the two extracts of the plant used, as well as between the mortality and the prepared concentrations. Using the concentration of 150 µg/ml for the aqueous extract of *Ruta chalpensis* we obtain 96.3% mortality after 15 days of treatment, while for the ethanolic extract of this plant causes a mortality rate of 68.75% for the concentration 1 µg/ml. We have recorded that the treatment of L2 larvae by ingestion also acts the development of flies, it disrupts the duration and the number of individuals.

The second study of our thesis is to evaluate the delayed effects of different sublethal concentrations of each extract (aqueous and ethanolic) on the feeding behavior of 3rd instar larvae, on the one hand, and on the sexual behavior and oviposition choice of *D. melanogaster* females, on the other hand. We were able to show that these compounds had a strong impact on the phenomenon of attraction and olfactory acuity of insects (larvae and females of *D. melanogaster*). They lose the ability to detect odors of food or egg-laying site; their choice is random. Its effects, repulsive or attractive, have also been determined. As, they act on the number of eggs laid. This means that these bioinsecticides probably act as information disruptors by altering chemical communication, thus reducing the reproductive chances of target insects. We also performed histological sections in male and female *Drosophila* (control, treated). We noticed a more or less important destruction of the tissues of the different parts of *D. melanogaster* head, thorax and abdomen.

Keywords: *Drosophila melanogaster*, *Ruta chalpensis*, insecticide, mortality, feeding behavior, sexual behavior, oviposition behavior.

المخلص

على مر القرون ، تمكنت التقاليد البشرية من تطوير المعرفة واستخدام النباتات. اليوم ، أدى تطوير وعي جماعي أكثر إيكولوجياً إلى التحكم البيولوجي ، والذي يبدو أنه بديل بيئي لمبيدات الآفات الكيميائية. كجزء من تطوير أنواع نباتات البحر الأبيض المتوسط ولا سيما النباتات العطرية والطبية في الجزائر ، أجرينا دراسة على نبات *Ruta chalepensis* ، وهو نبات عطري ينتمي إلى عائلة *Rutaceae* ، ويسمى أيضاً "Fijel" باللغة العربية و "Awernii" في البربرية والتي تقدم تنوعاً كبيراً في المواد ذات النشاط المضاد للأكسدة مثل المركبات الفينولية والفلويدات ، فإن وجودها يبقى الأفاعي بعيداً. يصد الحشرات.

تهدف هذه الدراسة إلى المساهمة في معرفة التأثيرات المبيدات الحشرية للمستخلص المائي والإيثانولي لنبات *Ruta chalepensis* على ذبابة الخل *Drosophila melanogaster*.

درسنا في الجزء الأول من أطروحتنا التأثير السمي للمستخلصات المائية والإيثانولية للنبات على موت وتطور الذبابة. بينت النتائج أن هناك علاقة ارتباط موجبة قوية بين معدلات النفوق وأوقات التعرض لمستخلصي النبات المستخدم ، وكذلك بين معدل النفوق والتركيزات المحضرة. باستخدام تركيز 150 ميكروغرام / مل للمستخلص المائي من *Ruta chalepensis* ، يتم الحصول على 96.3% من النفوق بعد 15 يوماً من العلاج ، بينما بالنسبة للمستخلص الإيثانولي لهذا النبات ، يتسبب معدل وفيات قدره 68 ، 75% في 1 ميكروغرام / مل. تركيز. لقد سجلنا أن علاج يرقات L2 عن طريق الابتلاع يؤثر أيضاً على نمو الذباب ، فهو يعطل مدة وعدد الأفراد.

الدراسة الثانية لأطروحتنا هي تقييم التأثيرات المتأخرة لتركيزات مختلفة تحت قاتلة لكل مستخلص (مائي وإيثانولي) على سلوك تغذية يرقات المرحلة الثالثة ، من ناحية ، وعلى السلوك الجنسي واختيار وضع البيض. إناث *D. melanogaster* من ناحية أخرى. تمكنا من إثبات أن هذه المركبات كان لها تأثير قوي على ظاهرة الجذب والحدة الشمية للحشرات (يرقات وإناث *D. melanogaster*). يفقدون القدرة على اكتشاف روائح الطعام أو مكان وضع البيض ؛ اختياراتهم عشوائية. كما تم تحديد آثاره ، مثيرة للاشمئزاز أو جاذبة. مثل ، يتصرفون على عدد البيض الموضوعة. مما يعني أن هذه المبيدات الحشرية الحيوية ربما تعمل على إعاقة المعلومات عن طريق تغيير الاتصال الكيميائي ، وبالتالي تقليل فرص تكاثر الحشرات المستهدفة. أجرينا أيضاً أقساماً نسيجية في ذكور وإناث ذبابة الفاكهة (الضوابط ، المعالجة). لقد لاحظنا تدميرًا كبيرًا إلى حد ما على مستوى أنسجة الأجزاء المختلفة من *D. melanogaster* في الرأس والصدر والبطن.

كلمات المفتاح *Drosophila melanogaster*, *Ruta chalepensis* مبيد حشري ، وفيات ، سلوك التغذية ، السلوك الجنسي ، سلوك التبييض .

Sommaire

1. Introduction	01
2. Matériel et Méthodes	11
2.1. <i>Drosophila melanogaster</i>	11
2.2. Elevage de masse	15
2.3. <i>Ruta chalapensis</i>	17
2.4. Extraction de la plante <i>R. chalapensis</i>	22
2.4.1. Préparation des extraits aqueux	22
2.4.1. Préparation des extraits éthanoliques	22
2.5. Effet de <i>R. chalapensis</i> sur la mortalité et le développement de <i>D. melanogaster</i>	23
2.5.1. Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalapensis</i> la mortalité et le développement de <i>D. melanogaster</i>	23
2.5.2. Effet de l'extrait éthanoliques de <i>R. chalapensis</i> la mortalité et le développement de <i>D. melanogaster</i>	24
2.6. Effet de <i>R. chalapensis</i> sur l'attractivité alimentaire des larves de <i>D. melanogaster</i> (L3)	24
2.7. Effet de l'extrait aqueux et éthanolique de <i>R. chalapensis</i> sur le comportement sexuel des adultes de <i>D. melanogaster</i>	27
-Description du comportement sexuel de <i>D. melanogaster</i>	27
2.8. Effet des extraits aqueux et éthanolique de <i>R. chalapensis</i> sur le choix d'oviposition chez les femelles	31
2.9. Effet des extraits aqueux et éthanolique de <i>R. chalapensis</i> sur les coupes histologiques chez les adultes (male et femelles) de <i>D. melanogaster</i>	31
2.10. Analyse statistique des données	33
3. Résultats	35

3.1. Effet de <i>R.chelpensis</i> sur la mortalité et le développement chez les larves L2 de <i>D.melanogaster</i>	35
3.1.1. Effet de l'extrait aqueux	35
3.1.1.1. Effet des différentes concentrations d'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur la mortalité des L2 de <i>D. melanogaster</i>	35
3.1.1.2. Les paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i>.....	36
3.1.2. Effet de l'extrait éthanolique.....	37
3.1.2.1. Effet des différentes concentrations d'extraits éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur la mortalité des L2 de <i>D. melanogaster</i>.....	37
3.1.2.2. Les paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i>.....	38
3.2. Effet de <i>R. chalpensis</i> sur le comportement alimentaire des larves L3 de <i>D. melanogaster</i>.....	39
3.2.1. Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml)	39
3.2.1.1. Attractivité des larves	39
3.2.1.1.1. Le premier choix.....	39
3.2.1.1.2. Attractivité des larves vis-à-vis les différentes odeurs testées en fonction du temps	40
3.2.1.2. Temps de détection	42
3.2.1.3. Le temps passé dans chaque milieu	44
3.2.1.5. Pupation des larves témoins	45
3.2.1.6. Pupation des larves traitées	45
3.2.1.7. Indice d'attraction.....	46
3.2.2. Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml)	47
3.2.2.1. Attractivité des larves	47
3.2.2.1.1. Le premier choix	47
3.2.2.1.2. Attractivité des larves vis-à-vis les différentes odeurs testées en fonction du temps	48

3.2.2.2. Temps de détection	50
3.2.2.3. Le temps passé dans chaque milieu	51
3.2.1.5. Pupation des larves témoins	53
3.2.2.7. Indice d'attraction.....	54
3.3.1.2. Effet sur les séquences comportementales.....	56
3.3.2. Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml)	65
3.3.2.1. Effet sur le taux des réussites d'accouplement	65
3.3.2.2. Effet sur les séquences comportementales.....	66
3.4. Effet de <i>R. chalpensis</i> sur le comportement d'oviposition des femelles fécondées de <i>D.melnogaster</i>	74
3.4.1. Effet d'une concentration sub létale de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50µg/ml).....	74
3.4.1.2. Calcul d'indice de préférence d'ovipostion (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> d'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml).....	75
3.4.2. Effet d'une concentration sub létale de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50µg/ml) sur l'oviposition des femelles de <i>D. melanogaster</i>	76
3.4.2.2. Calcul d'indice de préférence d'ovipostion (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> d'extrait éthanolique de <i>R.chalpensis</i> (0,5 µg/ml)	77
3.5.Effet de <i>R. chalpensis</i> sur la fécondité et la fertilité des femelles de <i>D. melanogaster</i>	78
3.5.1. Effet des l'extrait aqueu de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml)	78
3.6. Effet de <i>R. chalpensis</i> (extrait aqueu et éthanolique) sur l'histologie des adultes mâles et femelles de <i>D.melanogaster</i>	83
4. Discussion.....	89
5. Conclusion.....	103
6. Références Bibliographiques.....	105

7. Annexes.....126

LISTE DES TABLEAUX

N	Titre	page
01	Tableau 1 : Taux de mortalité causé par différentes concentrations d'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> en fonction du temps.	36
02	Tableau 2: Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de <i>R.chalpensis</i> à l'égard des larves L2 de <i>D. melanogaster</i> : Calcul des temps létaux.	36
03	Tableau 3: Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux <i>R. chalpensis</i> à l'égard des larves L2 de <i>D. melanogaster</i> : Calcul des Concentrations létales.	36
04	Tableau 4: Taux de mortalité causé par différentes concentrations d'extraits éthanolique de <i>R. chalpensis</i> en fonction du temps.	37
05	Tableau 5: Paramètres toxicologiques de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> à l'égard des larves L2 de <i>D. melanogaster</i> : Calcul des temps létaux.	38
06	Tableau 6: Paramètres toxicologiques de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> à l'égard des larves L2 de <i>D. melanogaster</i> : Calcul des concentrations létaux.	38
07	Tableau 7: Le premier choix des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs des milieux testées (milieu témoin et milieu traité avec l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i>)	39
08	Tableau 8: Le premier choix des larves traitées vis-à-vis les différentes odeurs des milieux testées (milieu témoin et milieu traité avec l'extrait aqueux de <i>R.chalpensis</i>)	40
09	Tableau 9: Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (N=40)	41
10	Tableau 10: Attractivité des larves traitées vis-à-vis les différentes odeurs testées.	42
11	Tableau 11: Temps de détection (secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs du milieu testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait aqueu de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml)].	43
12	Tableau 12: Temps de détection (secondes) des larves traitées en réponse aux différentes odeurs du milieu testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait aqueu de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml)].	43
13	Tableau 13 : Temps passé (secondes) des larves témoins dans les différentes milieux testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml)].	44
14	Tableau 14 : Temps passé (secondes) des larves traitées dans les différentes milieux testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml)].	45

15	Tableau 15: Pupation des larves témoins (choix entre l'odeur du milieu témoin et le milieu traité avec l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml))	45
16	Tableau 16: Pupation des larves traitées (choix entre l'odeur du milieu témoin et le milieu traité avec l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml))	46
17	Tableau 17: Le premier choix des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs des milieux testées (milieu témoin et milieu traité avec l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i>)	47
18	Tableau 18: Le premier choix des larves traitées vis-à-vis les différentes odeurs des milieux testées (milieu témoin et milieu traité avec l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i>)	48
19	Tableau 19: Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (N=40)	49
20	Tableau 20 : Attractivité des larves traitées vis-à-vis les différentes odeurs testées.	50
21	Tableau 21: Temps de détection (secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs du milieu testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml)]	51
22	Tableau 22: Temps de détection (secondes) des larves traitées en réponse aux différentes odeurs du milieu testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml)].	51
23	Tableau 23: Temps passé (secondes) des larves témoins dans les différents milieux testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml)].	52
24	Tableau 24: Temps passé (secondes) des larves témoins dans les différents milieux testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml)].	53
25	Tableau 25: Pupation des larves témoins (choix entre l'odeur du milieu témoin et le milieu traité avec l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml))	53
26	Tableau 26: Pupation des larves traitées (choix entre l'odeur du milieu témoin et le milieu traité avec l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml))	54

28	Tableau 28: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur le temps (Secondes) de la première orientation.	56
29	Tableau 29: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur le nombre (Secondes) d'orientation.	57
30	Tableau 30: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur le temps (Secondes) de première vibration.	58
31	Tableau 31: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur le nombre (Secondes) de vibrations	59
32	Tableau 32: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur le temps (Secondes) du premier attouchement	59
33	Tableau 33: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur le nombre (Secondes) d'attouchement.	60
34	Tableau 34: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur le temps (Secondes) du premier léchage	61
35	Tableau 35: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur le nombre (Secondes) de léchage	62
36	Tableau 36: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur le temps (Secondes) de première tentative d'accouplement	62
37	Tableau 37: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur le nombre (Secondes) de tentatives d'accouplement.	63
39	Tableau 39: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> sur la durée (Secondes) d'accouplement.	65
40	Tableau 40: Effets de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml) sur le pourcentage de réussite des accouplements de <i>D. menlanogaster</i>	65
41	Tableau 41 : Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le temps (Secondes) de la première orientation.	66
42	Tableau 42: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le nombre d'orientation.	67
43	Tableau 43: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le temps (Secondes) du premier attouchement.	68
44	Tableau 44: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le nombre d'attouchements.	68

45	Tableau 45: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le temps (Secondes) de la première vibration	69
46	Tableau 46: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le nombre de vibration.	70
47	Tableau 47: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le temps (Secondes) du premier léchage.	70
48	Tableau 48: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le nombre de léchage.	71
49	Tableau 49: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le temps (Secondes) de la première tentative d'accouplement.	72
50	Tableau 50: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le nombre de tentatives d'accouplement.	73
51	Tableau 51: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur le temps d'accouplement.	73
52	Tableau 52: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> sur la durée d'accouplement.	74
53	Tableau 53 : Effet d'une concentration sublétale de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50µg/ml) sur l'oviposition des femelles fécondées de <i>D. melanogaster</i>	75
54	Tableau 54: Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> d'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (35 µg/ml)	76
55	Tableau 55 : Effet d'une concentration sublétale de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50µg/ml) sur l'oviposition des femelles de <i>D. melanogaster</i>	77
56	Tableau 56: Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> d'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i>	77
57	Tableau 57: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml) sur le nombre total des œufs pondus dans deux milieux par les femelles.	79
57	Tableau 58: Effet de l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml) sur le nombre total des larves pondus dans deux milieux par les femelles	80
58	Tableau 58: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml) sur le nombre total des œufs pondus dans deux milieux par les femelles	81
59	Tableau 59: Effet de l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,50 µg/ml) sur le nombre total des larves pondus dans deux milieux par les femelles	82

60	Tableau 60 : Effets sur les femelles ; comparaison entre les coupes histologiques des femelles témoins et traitées par l'extrait aqueux et éthanolique de <i>R. chalpensis</i>.	85
61	Tableau 61 : Effets sur les Mâles; comparaison entre les coupes histologiques des Mâles témoins et traités par l'extrait aqueux et éthanolique de <i>R. chalpensis</i>.	86

LISTE DES FIGURES

N	Titre	page
01	Figure 1. Adulte de <i>D. melanogaster</i>	11
02	Figure 2. Adultes de <i>D. melanogaster</i> (A gauche : mâle ; A droite : femelle)	12
03	Figure 3. Organes sexuelles de <i>D. melanogaster</i> (A gauche : plaque génitale femelle ; A droite : pénis mâle)	12
04	Figure 4. Présentation schématique du Cycle de vie de <i>D. melanogaster</i>	15
05	Figure 5. Élevage de masse initiale	16
06	Figure 6. Préparation du milieu artificiel	16
07	Figure 7. Tubes d'élevage	17
08	Figure 8. <i>Ruta chalpensis</i> (source: flora vascular.com)	18
09	Figure 9. Situation géographique des sites étudiés dans la wilaya de M'sila.	18
10	Figure 10. <i>Ruta chalepensis</i>	19
11	Figure 11. Présentation schématique de l'extraction par décoction.	22
12	Figure 12. Présentation schématique de l'extraction par macération	23
13	Figure 13. Schéma du protocole de traitement des L2	24
14	Figure 14. Schéma de l'arène de test (boîte de pétri, diamètre 100mm)	25
15	Figure 15. Préparation du milieu gélosé à base d'agar et de l'eau	26
16	Figure 16. Présentation schématique des différents milieux de cultures testés.	27
17	Figure 17. Séparation individuel des adultes nouvellement émergés par sexe	28
18	Figure 18. Présentation schématique qui illustrent les différentes séquences de la parade de <i>D. melanogaster</i>	30
19	Figure 19. Présentation schématique de la chambre d'oviposition	31
20	Figure 20: Blocs de paraffine.	32
21	Figure 21: Les lames prêtes à être observées au MO.	33
22	Figure 22. Automate imprégnation / Microtomes à paraffine / Stréréomicroscope	33
23	Figure 24. Représentation graphique de l'indice d'attraction (IA) des larves de <i>D. melanogaster</i> (témoins et traitées) envers les différents milieux testés par l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50 µg/ml).	46
24	Figure 25. Représentation graphique de l'indice d'attraction (IA) des larves de <i>D. melanogaster</i> (témoins et traitées) envers les différents milieux testés par l'extrait éthanolique de <i>Ruta chalpensis</i> (0,50 µg/ml).	55

25	Figure 26 : Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> d'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i> (50µg/ml)	76
26	Figure 27 : Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> d'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i> (0,5µg/ml)	78
27	Figure 28: Présentation schématique de l'anatomie générale de <i>Drosophila melanogaster</i>	83

Introduction

INTRODUCTION :

Les Insectes surpassent de loin par le nombre d'espèces et la variété de formes qu'ils présentent tous les autres groupes d'organismes vivants. Environ un million d'insectes différents ont été décrits jusqu'à maintenant, mais ce chiffre représente seulement une fraction de ceux qui existent réellement car de nombreuses espèces nous sont encore inconnues. Les insectes sont les seuls invertébrés terrestres ailés, ils peuplent en effet tous les habitats et ils sont associés à de très nombreux autres organismes vivants, que ce soient des plantes ou des animaux. La majorité des insectes mènent, au moins à l'état adulte, une vie aérienne, mais certains sont endogés (vivant dans le sol), ou souterrains (dans les grottes), d'autres vivent à la surface de l'eau, certains sont complètement aquatiques (**Delvare & Aberlenc, 1989**).

De nombreuses espèces d'insectes sont indispensables à la pollinisation des plantes cultivées (**Delvare & Aberlenc, 1989**), la décomposition de la matière organique des sols cultivés, et également la régulation des populations de ravageurs (**Messéan et al., 2010**). Alors qu'un grand nombre consomment la matière végétale (feuilles, tiges ou bois) et certains constituent à ce titre des espèces d'insectes nuisibles aux plantes cultivées. On trouve également des insectes hématophages (*Hémiptères Reduviidae*, *Diptères Culicidae*, *Simuliidae*, *Glossinidae*, etc.) et souvent vecteurs de graves maladies humaines ou du bétail (paludisme, onchocercose, trypanosomiase, etc) (**Delvare & Aberlenc, 1989**), D'autres sont porteurs de maladies destructrices et les disséminent de végétaux en végétaux (**ANSES ; 2015**).

Les insectes nuisibles ont une large gamme d'ennemis, de prédateurs et de parasitoïdes qui les maintiennent en dessous des seuils économiques. Toutefois, en utilisant des insecticides, les insectes bénéfiques vulnérables peuvent être tués plus rapidement que l'insecte nuisible ciblé. Suite à une application de pesticide synthétique, dans un premier temps la population de l'insecte parasite visé décroît, puis dans un deuxième temps elle croît exponentiellement car elle peut alors se développer sans la contrainte des attaques des insectes bénéfiques (**Heinrichs & Mochida, 1984**).

La quantité d'insecticide qui n'atteint pas l'organisme cible fait problème à cause des effets potentiels sur l'homme et son environnement, C'est pourquoi les réglementations relatives aux insecticides exigent la présentation de renseignements sur le sort potentiel des insecticides dans l'environnement ainsi que sur leur toxicité pour diverses espèces non visées.

(Alexandre, 1973). L'impact négatif des pesticides est d'autant plus important dès lors qu'il affecte les populations d'insectes auxiliaires des cultures **(Colignon et al., 2003)**.

Les pesticides sont un facteur majeur d'incidence sur la diversité biologique, de même que la perte d'habitat et le changement climatique. Ils peuvent avoir des effets toxiques sur le court terme sur les organismes qui y sont directement exposés, ou des effets sur le long terme. Il en a résulté un déclin marqué des populations de nombreuses espèces vivant dans les zones agricoles **(Boatman et al., 2007)**.

Les insecticides peuvent entrer dans la chaîne alimentaire de l'homme de nombreuses façons, mais il n'y a pas que l'homme qui soit menacé mais aussi l'environnement ainsi que les ressources naturelles, telles que le sol et l'eau **(Alexandre, 1973)**.

L'exposition aux insecticides se caractérise par plusieurs voies. L'exposition de la population générale se produit principalement par la consommation d'aliments et l'eau potable contaminée par des résidus de pesticides **(Christos & Eleftherohorinos, 2011)**. Il existe trois voies de contamination, la voie cutanée et les muqueuses; c'est la plus fréquente, la voie digestive et la voie respiratoire. Les risques d'intoxication pour les individus dépendent des substances actives, en effet la toxicité peut être aiguë ou chronique. Les pesticides peuvent causer plusieurs maladies selon leurs toxicités, tel que des problèmes de santé au niveau de l'ADN, des maladies neurodégénératives (maladies de Parkinson et d'Alzheimer), les perturbations endocriniennes, et de différents types de cancers comme le cancer des testicules, de la prostate, du sein et de la peau **(Batsch, 2011)**. À la lumière des connaissances actuelles, on ne peut plus désormais dissocier la santé humaine de la santé des écosystèmes **(Lauren, 2007)**.

Révélés toxiques ou cancérigènes pour l'homme, bon nombre de pesticides ont été interdits. Malgré cela, certains se retrouvent encore actuellement dans l'environnement de nombreuses années après leur interdiction (DDT, dieldrine, chlordécone, triazine) **(Band et al., 2011 ; Hellou et al., 2013)**. Dans les pays dits « sous-développés » même les produits très toxiques, dont l'usage a été interdit dans les pays industrialisés sont encore largement utilisés, et avec beaucoup moins de précautions. Selon un communiqué de presse de l'Organisation pour l'alimentation et l'agriculture **(FAO, 2001)**.

En outre, on signale la perte massive de biodiversité liée à l'usage des insecticides à large spectre **(Hallmann et al., 2017)**, ainsi que l'impact sur les organismes auxiliaires **(Stark**

& Banks, 2003 ; Desneux et al., 2007). L'usage intensif de ces produits provoque également le développement de formes résistantes de ravageurs vis à vis de différents types d'insecticides limitant ainsi leur efficacité (**Toma et al., 2011 ; Carvalho et al 2013 ; Harrop et al., 2014 ; Sparks & Nauen, 2015**).

Face à cette situation, Les écologistes lancent continuellement des cris d'alarme (**Barthelmy, 1974**). Depuis des décennies, la plus part des travaux en Algérie convergent vers l'utilisation des extraits de plantes comme moyen de lutte contre divers ravageurs (**Aouinty et al., 2006 ; Kemassi, 2008 ; Lebouz, 2010 ; Bounechada & Arab, 2011 ; Habbachi et al., 2013 ; Habbachi et al., 2014 ; Merabti et al., 2015 ; Benhissen, 2016**). La lutte intégrée est une stratégie multidisciplinaire de contrôle des ravageurs qui incluent plusieurs approches comme par exemple la lutte biologique, Cette méthode considère l'écosystème dans son ensemble, dont les interactions entre les organismes. Le but ultime est de réduire les dommages aux cultures économiquement, avec le moins de menaces à l'environnement et à la santé humaine possible (**EPA, 2009b**).

Le développement des nouvelles techniques a permis également l'apparition de nouveau pesticides à partir de produit naturels ou biopesticides qui sont de plus en plus mis à l'avant pour une lutte propre et efficace. Ces molécules possèdent des actions insecticides fongicides ou herbicides, provenant des composés végétaux ou animaux pouvant être utilisés dans la lutte contre les insectes nuisibles. Les biopesticides désignent, en gros, les produits de lutte contre les ennemis des cultures qui proviennent de matières naturelles, comme les animaux, les plantes, les bactéries et les minéraux. Ils peuvent être microbiens (l'ingrédient actif est alors un microorganisme bénéfique) ou biochimiques, auquel l'ingrédient actif est dérivé d'une substance naturelle qui permet de lutter contre les ennemis des cultures de façon différente (**Mehaoua, 2014**).

Certaines familles agissent sur la croissance en perturbant la mue des insectes (famille des diacylhydrazines), d'autres comme les benzoylurées perturbent leurs développements. Les insecticides interviennent également dans la respiration cellulaire ou encore au niveau des muscles pour une toute petite partie d'entre eux. Certaines bactéries comme *Bacillus thuringiensis* peuvent être aussi utilisées car elles produisent des endotoxines, délétères pour l'insecte. Cependant une classe reste largement majoritaire de part son efficacité élevée, elle correspond aux neurotoxiques. Ils agissent au niveau du système nerveux et renferment plusieurs familles d'insecticides comme les organochlorés ou les néonicotinoïdes. D'autres

insecticides sont également utilisés mais la cible et le mode d'action restent incertains ou méconnus comme le bifénazate. Toutes ces familles d'insecticides agissent donc au niveau de cibles bien distinctes (**Louat, 2013**).

Parmi les moyens les plus célèbres dans ce domaine et qui respectent la nature on a l'usage rationnel de leurs ennemis naturels (appartenant soit au règne animal, soit au règne végétal). (**Barthelmy, 1974**), les enjeux pour la recherche sont considérable ; cependant, l'industrie phytosanitaire a développé des molécules plus sélectives, ces molécules présentent des profils de sécurité humaine et environnementale améliorée (**Guedes et al., 2016**) dégradables et moins toxiques pour les organismes non visés (**Kostyukovsky et al., 2000**) ou encore, plus spécifiques ciblant les paramètres biologiques, physiologiques et biochimiques des organismes vivants, tant à l'échelle du simple individu que des écosystèmes entiers. Ces alternatives permettront un fonctionnement équilibré et durable des écosystèmes (**Ramade, 2011**).

Récemment, depuis la découverte du pouvoir pathogène de certaines bactéries, tout d'abord dans le domaine agricole, puis dans le domaine médical, les insecticides d'origine biologique connaissent un essor tel qu'ils semblent constituer de plus en plus une alternative raisonnable aux insecticides chimiques (**Sparks et al., 1998**),

Dés le XIX^{ème} siècle, plusieurs molécules allélochimiques ont été extraites des plantes pour lutter contre les insectes nuisibles (**Regnaud-Roger & Hamraoui, 1997**). La valorisation des plantes à effet insecticide prend de plus en plus de l'ampleur au niveau des programmes de recherches dans le monde entier et particulièrement en Afrique. Ces plantes sont exploitées sous plusieurs formes, soit sous forme de poudres végétales, d'huiles essentielles, d'huiles végétales ou d'extraits végétaux (**Masna, 2016**).

Les plantes sont également utilisées pour leur propriété antibactérienne et antifongique. Cependant, en tant que sources de médicaments, les plantes restent encore sous exploitées surtout dans le domaine de la microbiologie médicale. Il est certain que la plupart des antibiotiques prescrits dérivent des microorganismes. Aujourd'hui, le potentiel thérapeutique des produits végétaux est reconsidéré et les études qui leurs sont consacrées abondent dans la littérature scientifique. Un grand nombre de ces composés sont de très bons agents antifongiques. Les études in vitro ont démontré que les substances bioactives provenant de diverses espèces végétales présentent un spectre large d'activité sur une gamme de flore fongique dont inclus les champignons toxigènes (**Mohammedi, 2013**).

Les plantes constituent donc une source intéressante de nouveaux composés dans la recherche de molécules bioactives. Plusieurs travaux ont montré que les huiles essentielles des plantes sont biologiquement actives contre les ravageurs des denrées stockées par contact direct ou par inhalation. Le spectre d'action des huiles essentielles est très diversifiées, elles jouent un rôle de régulateur de croissance et possèdent des propriétés antimicrobiennes et antioxydantes (**Goudoum, 2010**).

L'Algérie couvre une surface de 2381741 km² ; elle est dotée d'un patrimoine floristique très diversifié, notamment dans le domaine des plantes aromatiques. Deux chaînes montagneuses importantes, l'Atlas tellien au nord et l'Atlas saharien au sud, séparent le pays en trois types de milieux qui se distinguent par leur relief, leur morphologie et leur climat, donnant lieu à une importante biodiversité écologique. De ce fait, on distingue le littoral et la zone tellienne qui bordent la mer méditerranée, les hauts plateaux et la steppe au centre et enfin l'Atlas saharien au Sud. Du Nord au Sud de l'Algérie, des forêts, maquis et matorrals aux steppes semi-arides et arides puis vers les écosystèmes désertiques, suivant une variabilité des tranches pluviométriques (**Hammiche et al.,1990 ; Hammiche et al.,2006**)

Plusieurs espèces sont connues pour leurs propriétés thérapeutiques remarquables. Les plantes médicinales et toxiques sont considérées comme l'une des ressources phytogénétiques qui présentent un intérêt agronomique, économique, écologique mais aussi stratégique. La possibilité d'utiliser les substances secondaires des plantes contre les insectes nuisibles s'est révélé promoteur, et a suscité beaucoup de travaux récents (**Krief, 2003**).

Les plantes médicinales sont à la fois un produit fini destiné à la consommation et une matière première pour l'obtention de substances bioactives (**Bouزيد., et al., 2011**). Les plantes aromatiques sont des sources inépuisables de substances naturelles douées de propriétés biologiques présentant un intérêt réel (**Alloun, 2013**). Les *Rutaceae* sont généralement arbres ou arbustes, parfois à épines ou aiguillons, à composés amers triterpéniques, alcaloïdes, et composés phénoliques avec des lacunes sécrétrices disséminées (points translucides) contenant des huiles essentielles aromatiques (**Wiert, 2006**). De son côté, le criblage phytochimique a révélé d'une part la richesse de cette espèce en alcaloïdes et les huiles essentielles (**Daoudi, 2015**).

Les *Rutaceae* sont très utilisées à des fins diverses ; Fébrifuge antivenimeux local, contre les nausées et les vomissements, dans les constipations, dans le paludisme, pour soigner les anémies (**Merad, 1973**). Aussi contre le rhumatisme, les douleurs gastriques, les

vers intestinaux (**Baba, 1999**) dans les accouchements difficiles, les maux des yeux et des oreilles et les névroses (**Merad, 1973**). Les huiles essentielles n'existent quasiment que chez les végétaux supérieurs. Les genres capables d'élaborer les constituants qui composent les huiles essentielles sont repartis dans un nombre limité de familles tel que *Rutaceae* (**Bruneton, 1999**).

Ruta chalepensis est une plante aromatique, appartenant à la famille des *Rutacées*, appelée communément par la population locale « Fidjel ». Elle est spontanée, largement répandue en Afrique du nord, particulièrement en Algérie. On la rencontre fréquemment dans les rocailles, pelouses et coteaux secs (**Beniston, 1984**). *Ruta chalepensis* est une plante médicinale encore utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays comme Afrique (**Merghache et al., 2009**) laxatif, anti-inflammatoire, analgésique, antipasmodique, abortif, antiépileptique, emménagogue et pour le traitement de pathologies cutanées (**Jonson, 1999**). Des investigations pharmacologiques ont montré que l'extrait éthanoïque de la plante de la partie aérienne de *Ruta chalepensis* possède une activité anti-inflammatoire et une activité antipyrétiques (**Mansour et al., 1981**). Des screening phytochimiques ont mis en évidence la présence de coumarines (chalepensin, chalpin, rutamarin...etc) et d'alcaloïdes (kokusagine, skimmianine, arborinine, etc) (**Ulubelene et al., 1986**). Ainsi ces huiles essentielles destinées à la parfumerie et l'industrie agroalimentaire (**Amra, 1991**).

Les huiles essentielles sont des produits parfumés et volatiles composé de molécules secrétées par certaines plantes qui lui confèrent un parfum spécifiques, le terme volatile s'explique par le fait que les huiles essentielles s'évaporent très rapidement (**Moro, 2008**), synthétisés et stockés dans certains tissus végétaux spécialisés. Elles sont responsables de l'odeur caractéristique de la plantes (**Eberhard et al., 2005**).

Les principaux constituants des huiles essentielles appartiennent de manière quasi exclusive à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes et le groupe des composés aromatiques dérivés du phényle-propane (**Baudoux, 2001**). Les terpénoïdes peuvent agir dans la défense directe envers les bactéries, les champignons, les insectes ou les herbivores comme des toxines, des antibiotiques ou des répulsifs. Ils peuvent également constituer des obstacles chimiques et physiques à l'alimentation ou à l'oviposition, ou agir comme des analogues des hormones d'insectes, (**Turlings et al., 1990**)

Les insectes ont développé des systèmes de communication avec leur environnement, indispensables à leur survie et leur reproduction. Les systèmes chimiosensoriels gustatifs et olfactifs détectent et transmettent au niveau central les informations chimiques de l'environnement, afin que l'insecte distingue les sources alimentaires des substances toxiques, reconnaisse ses proies de ses congénères et sélectionne ses partenaires sexuels (Coelho, 2014). Ce système se décompose en deux parties: le système olfactif pour la détection des molécules volatiles et le système gustatif pour la détection des molécules solubles. Le système gustatif est composé des neurones des récepteurs gustatifs, au niveau des membranes de leurs dendrites. Ces dendrites baignent dans l'hémolymphe à l'intérieur d'un poil percé appelé sensille gustative (Raad, 2013).

Chez les Drosophiles, les hydrocarbures cuticulaires (CHCs) protègent les organismes des pertes en eau en imperméabilisant la cuticule, aussi ils interviennent comme signaux de reconnaissance et comme phéromones sexuelles. Ils sont peu volatiles et vont être perçus à faible distance par les organes olfactifs de la tête (antennes et palpes maxillaires) et/ou par contact par les organes gustatifs des tarse et du proboscis (Stocker, 1994; Boll et Noll, 2002; Bray et Amrein, 2003).

Les drosophiles sont connues partout dans le monde sous des noms divers : mouches du vinaigre ou petites mouches des fruits. Ces insectes très communs vivent souvent à proximité des activités humaines (Delbac *et al.*, 2014). La drosophile, bien qu'étant un petit insecte, est un animal à part entière qui permet aussi d'appréhender des questions scientifiques à bien d'autres niveaux biologiques: le comportement, la reproduction, le développement, les relations avec les autres espèces ou bien encore l'adaptation à l'environnement (Joly *et al.*, 2003).

Drosophila melanogaster est l'espèce la plus répandue dans le monde, est considérée comme une nuisance redoutée tant pour le désagrément causé par les maladies parasitaires qu'elles peut inoculer (Jolivet, 1980 ; Joly *et al.*, 2003 ; Habbachi *et al.*, 2013). Elle représente également un vecteur important de divers microorganismes infectieux, comprenant des levures et des bactéries phytopathogéniques qui s'attaquent non seulement aux cultures maraîchères et fruitières mais aussi aux cultures de céréales ou de tournesol (Kloepper *et al.*, 1979 ; Corby-Harris *et al.*, 2007 ; Nadarajah & Stavrinides, 2011 ; Becher *et al.*, 2012). Les drosophiles adultes peuvent devenir gênantes par leur pullulation. Les larves ingérées

avec des fruits infestés ou des liquides conservés dans des récipients malpropres causent une diarrhée et parfois des myiases intestinales (**Rageau, 1958 ; Joly, 2006 ; Delbac et al., 2014**).

L'organisation du système gustatif chez les drosophiles diverge de celle des mammifères (**Raad 2013**). La drosophile, bien qu'étant un petit insecte, est un animal à part entière qui permet aussi d'appréhender des questions scientifiques à bien d'autres niveaux biologiques : le comportement, la reproduction, le développement, les relations avec les autres espèces ou bien encore l'adaptation à l'environnement (**Bensafi, 2015**).

Au contraire des mammifères pour lesquels le goût est restreint à un seul organe, le système gustatif chez *Drosophila melanogaster* est disséminé sur plusieurs zones du corps (proboscis, pattes, bordure extérieure des ailes et ovipositeur). La sensille est l'organe de structure de base de ce système sensoriel. Chaque sensille contient entre 7 et 9 cellules dont 2 à 4 neurones gustatifs, 1 neurone mécanosensoriel et 3 cellules non neuronales accessoires (une cellule trichogène, une cellule tormogène et une cellule thocogène). Chaque neurone gustatif projette une dendrite vers le sommet du poil au niveau de l'ouverture (pore) et de l'autre côté il projette son axone vers les ganglions thoraciques (**Coelho, 2014**).

Des études menées par **Colomb et al., (2007)** ont montrés l'existence de quatre régions du ganglion sous-oesophagien chez la larve dans lesquelles les neurones des récepteurs gustatif se projettent. Les projections neuronales et connections avec les interneurons sont organisées chez la larve de la même façon que chez l'adulte bien qu'un nombre réduit de cellules soit mis en jeu.

Le système olfactif chez la drosophile, contrairement au système gustatif, est spatialement restreint. Ce système est constitué de deux organes: l'antenne et le palpe maxillaire. Ces deux organes olfactifs sont couverts de sensilles abritant les récepteurs olfactifs, On distingue trois types des sensilles olfactives qui diffèrent au niveau de la forme et de la fonction. Ces sensilles contiennent en général de 1 à 4 neurones olfactifs accompagnés des cellules accessoires. L'activation de ces récepteurs au niveau des organes olfactifs de la drosophile (troisième segment antennaire et palpes maxillaires) génère un signal qui va être transmit dans un centre nerveux appelé Lobe Antennaire, composé de glomérules. Les neurones exprimant les mêmes récepteurs olfactif se projettent vers des glomérules identiques (**Fishilevich et al., 2005**). Des études ont montré l'existence d'une carte de glomérules qui dépend de la nature chimique des odeurs (signale), tels les composés aliphatiques et aromatiques (**Couto et al., 2005**).

Tous les neurones des récepteurs olfactifs chez la larve de drosophile ciblent une structure appelée Lobe Antennaire Larvaire. Chaque neurone exprimant un récepteur olfactif se projette dans un seul glomérule spécifique au niveau du lobe antennaire larvaire. Comme pour la drosophile adulte, les projections neuronales chez la larve relient les glomérules aux calyx des corps pédonculés et aux cornes latérales (**Python and Stocker, 2002; Marin et al., 2005; Gerber and Stocker, 2006**).

La bordure antérieure des ailes de *Drosophila melanogaster* est tapissée de cellules nerveuses qui ont été décrites comme relevant des organes du goût sans pour autant que la preuve de la fonctionnalité de ces structures ait été faite (**Stocker, 1994**). De plus, ces cellules sensorielles expriment des récepteurs gustatifs au même titre que ceux existants dans le proboscis alors que des récepteurs olfactifs pour le captage des odeurs en vol eut été en toute logique plus évident et attendu. Ces cellules sensorielles organisées en sensilles sont par ailleurs alternées avec des sensilles spécialisées dans la perception mécanique. Ces mécanorécepteurs ont été très peu étudiés et sont méconnus quant à leur mode d'action. Plus étonnant encore, les axones de ces deux entités sensorielles séparées forment un nerf unique ce qui renforce l'hypothèse d'un système de coïncidence et de simultanéité, et donc d'un fonctionnement dual et intégré. L'idée est que la bordure antérieure de l'aile fortement innervée est impliquée dans le contrôle du vol, l'équilibre de l'insecte, le changement de direction en vol en même temps que dans la capture des informations chimiques sur l'environnement (**Raad, 2013**).

Les sensilles de l'ovipositeur seraient impliquées dans le choix du site de ponte. Le rôle des récepteurs du goût au niveau du proboscis et des pattes peut être facilement illustré toutefois, le rôle des récepteurs du goût au niveau de la marge des ailes reste encore énigmatique. Une hypothèse a été avancée concernant un rôle éventuel de ces récepteurs dans le nettoyage de l'animal et l'exploration de l'environnement (**Amrein & Thorne 2005, Stocker 1994**).

Chez les invertébrés comme notre model *Drosophila melanogaster*, et chez les vertébrés, la communication entre organes se fait par l'intermédiaire des systèmes nerveux et endocrinien. Le système nerveux est particulièrement bien adapté pour la communication rapide en contrôlant les organes à travers des neurotransmetteurs tandis que le système endocrinien, par l'intermédiaire d'hormones, exerce un contrôle sur des processus à plus long terme comme la reproduction, la croissance et le développement. Les deux systèmes de

communication, nerveux et endocrinien, ne sont ni fonctionnellement, ni anatomiquement séparés mais au contraire sont étroitement liés comme cela apparaît dans les systèmes qualifiés de neuroendocriniens car constitués de neurones produisant des hormones (Terhzaz, 2003).

Les systèmes neuronaux chimiosensoriels composés des organes olfactifs et gustatifs permettent le guidage et repérage des sources de nourritures et/ou des partenaires sexuels. Un fait marquant chez les insectes et en particulier chez *Drosophila melanogaster* réside dans le fait que les organes gustatifs sont disséminés sur le corps. Ces systèmes sont très importants dans l'adaptation à leur écosystème (Raad, 2013).

C'est dans ce but que nos travaux de recherche testent la réponse des larves et des adultes chez ce modèle de référence, la mouche *D. melanogaster*. Nous avons, donc, initié un protocole qui a pour l'objectif d'évaluer l'effet toxique direct et indirect des extraits aqueux et éthanoliques de *Ruta.chalpensis*, sur la mouche de vinaigre. Ainsi, plusieurs aspects ont été envisagés envers ces extraits, cette étude traitera les points suivants :

Nous avons commencé par l'évaluation de la toxicité d'extraits aqueux et éthanolique de la plantes sur les larves du 2^{ème} stade de *D. melanogaster*.

Nous voulions étudier quelques facteurs biologiques sous-jacents à la modulation de leur réponse on à réaliser une étude comportementale pour déterminer les effets différés de la plante sur l'attractivité alimentaire des larves de la mouche, le comportement sexuel, le choix d'oviposition et la fécondité et la fertilité des adultes.

Enfin, dans une dernière partie c'est la réalisation des coupes histologiques chez les adultes de *D. melanogaster* males et femelles témoins et traités pour déterminer l'effet de la plante (extrait aqueux et éthanolique de notre plante *Ruta. chalpensis*).

Matériel et méthodes

2. Matériel et Méthodes :

2.1. *Drosophila melanogaster*

La drosophile s'est imposée au fil des dernières années comme un excellent modèle d'étude; c'est un organisme facile à élever, robuste, tolérant, peu encombrant; sur lequel un grand nombre de questions scientifiques peuvent être abordées. On rencontre cette petite mouche sur les fruits mûrs ou sur d'autres matières humides ou en fermentation car les œufs, les larves et les pupes des drosophiles se développent dans ces milieux. C'est un insecte hygrophile qui vit dans les lieux humides et lucicole aime la lumière (Baudry, 1998 ; Joly, 2006) ; de plus c'est un animal prolifique, une femelle peut pondre de 200 à 300 œufs (Goudey-Perrière & Perrière, 1974). En tant qu'holométabole, son développement est indirect, ce qui signifie qu'elle subit une métamorphose complète au cours du stade nymphal, de telle manière que l'œuf éclot en une larve qui a une structure assez différente de l'adulte (Slack, 2004 ; Gilbert, 1996).



Figure 1. Adulte de *D. melanogaster*.

Sa reproduction est très rapide; Au laboratoire, elle se reproduit toute l'année, sans interruption, avec une nouvelle génération tous les 12 jours à une température de 25 °C et on obtient en moyenne 25 génération par an, (Griffiths *et al*, 2002 ; Tavernier & Lizeaux, 2002) en comparaison, l'homme donne une génération tous les 25 ans (Joly *et al.*, 2003). Il est donc très facile de conserver sous forme de stocks des individus qui proviennent soit de lignées sauvages qui sont prélevées directement dans la nature, soit de lignées mutantes sélectionnées au laboratoire à partir des souches sauvages ou induites.

La drosophile présente un dimorphisme sexuel avec des mâles un peu plus petits que les femelles et dont la partie arrière de leur corps est plus foncée (Fig. 2). Cet insecte suit le type de reproduction des hexapodes qui est le plus souvent de type sexuée (Heusser & Dupuy, 2004). Disposant d'une taille minuscule, ce moucheron de 3 à 4 mm de long se reconnaît facilement à

son corps jaune et brunâtre, relativement massif, avec des anneaux transversaux noirs au travers de l'abdomen.

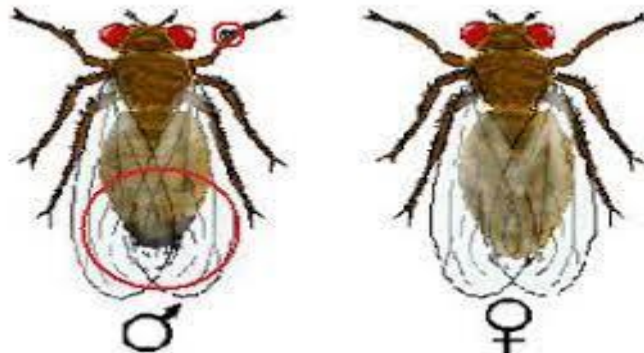


Figure 2. Adultes de *D. melanogaster* (A gauche : mâle ; A droite : femelle)

Lorsque la mouche est sur le dos, on peut observer chez le mâle le pénis très coloré situé à l'extrémité de l'abdomen alors que la plaque vaginale située au même endroit chez la femelle n'est pas colorée (**Fig. 3**).



Figure 3. Organes sexuelles de *D. melanogaster* (A gauche : plaque génitale femelle ; A droite : pénis mâle)

La drosophile adulte nommée aussi imago suit le plan général des insectes, elle présente un corps en trois parties bien distinctes ; une tête de forme générale globuleuse, qui porte des yeux composés rouge vif, qui contiennent 800 unités de vision ou ommatidia, ce qui en fait d'eux les plus développés parmi les insectes. Chaque ommatidium contient 8 cellules photoréceptrices (R1-8), des cellules de support, des cellules de pigment et une cornée, Son vol est assuré par deux larges ailes ovales bien développées qui peuvent battre jusqu'à 250 fois par seconde. Les mouches volent par des séquences directes de mouvement alternant avec de rapides rotations appelées saccades ; Au cours de ces rotations, une mouche peut effectuer une rotation de 90 degrés en moins de 50 millisecondes (**Baudry, 1998 ; Heusser & Dupuy, 2004 ; Joly, 2006 ; DDEP, 2008**).

On trouve aussi sur sa tête, des organes sensoriels, des pièces buccales de type lécheur et une paire d'antennes courtes dont l'extrémité est plumeuse (**Baudry, 1998**). Dans la région post céphalique, il y a formation d'un thorax bien distinct de forme quadrangulaire, divisé en trois segments sur lesquels s'articulent les organes locomoteurs, les trois paires de pattes articulées et deux paires d'ailes ovales. Le thorax est suivi d'un abdomen plutôt court et rayé de bandes sombres, contenant les organes respiratoires, reproducteurs et excrétoires. Des amas de soies tactiles, dispersés sur tout le corps, sont autant d'organes sensoriels comme cellules olfactives qui sont situées sur les antennes. Alors que, les organes auditifs qui sont disposés sur le corps (poils sensoriels), sur les pattes ou sur l'abdomen (organe tympanique) et d'autres soies, les organes gustatifs sont situés sur les palpes (**Baudry, 1998 ; Lecointre & Le Guyader, 2001**).

Le système gustatif chez les insectes est complexe et n'est pas restreint à un seul organe. Les sensilles renfermant les récepteurs du goût sont distribuées sur plusieurs organes incluant la partie externe et interne du proboscis ainsi que les pattes, la marge de l'aile et l'organe ovipositeur de la femelle. La partie externe du proboscis est constituée de deux labella, également appelés palpes labiaux, qui fusionnent au niveau de la partie proximale du proboscis (**Stocker 1994 ; Vosshall & Stocker 2007**)

Des sensilles gustatives ont été identifiées dans le pharynx formant 3 organes distincts et alignés le long de la paroi du pharynx: l'organe sensitif du labre et les organes cibariaux ventraux et dorsaux. Ces organes seraient impliqués dans l'ingestion et la régurgitation des substances toxiques (**Stocker, 1994**). Les sensilles de l'ovipositeur seraient impliquées dans le choix du site de ponte. Le rôle des récepteurs du goût au niveau du proboscis et des pattes peut être facilement illustré toutefois, le rôle des récepteurs du goût au niveau de la marge des ailes reste encore énigmatique. Une hypothèse a été avancée concernant un rôle éventuel de ces récepteurs dans le nettoyage de l'animal et l'exploration de l'environnement (**Amrein & Thorne 2005 ; Stocker 1994**).

Le cycle de vie de *D. melanogaster* comprend l'embryogénèse, trois stades larvaires, un stade pupal qui se termine par l'émergence d'une mouche qui est capable de voler et de se reproduire (**Bouharmont et al., 2007**). Après l'accouplement, la femelle pond sur le milieu, en général des fruits, des centaines d'œufs allongés et blanchâtres d'environ 0,5 millimètre de long, de la forme d'un ballon de rugby (**Joly, 2006**). Ces œufs présentent de minuscules poils d'un côté, le micropyle qui apparaît comme une petite excroissance sur la coque rigide qui entoure l'œuf, et par lequel entreront les spermatozoïdes (**Gehring, 1999 ; Wolpert, 2004**).

Après la segmentation et la gastrulation, le corps de l'embryon se segmente, et à l'éclosion de l'œuf, la drosophile, comme de nombreux autres insectes, apparaît sous forme d'une larve blanchâtre appelée aussi asticot. Elle est dépourvue de tête, acéphale et d'appendice locomoteur, apode. Cet asticot respire par de petits orifices, les stigmates, situés à l'arrière de son corps (**Heusser & Dupuy, 2004 ; Wolpert, 2004**).

La larve libérée est capable de se nourrir de la pupe du fruit en creusant des galeries ou de levures qui croissent sur divers matériaux sucrés ou fermentés à l'aide de son appareil buccal. Alors que, les adultes s'alimentent plutôt des fruits mûrs ou avariés, des végétaux, des champignons en décomposition ainsi que des liquides fermentés. Les larves présentent un aspect et une écologie fort différente de celles des adultes (**Lecointre & Le Guyader, 2001 ; DDEP, 2008**). Cette larve présente une segmentation thoracique et abdominale ; les disques imaginaux, ensembles de cellules ayant conservé des caractères embryonnaires, à l'origine des structures adultes. Lors de la métamorphose, leur développement donne naissance aux antennes, aux yeux, aux ailes, aux balanciers, aux pattes, aux pièces génitales alors que les autres appareils sont profondément modifiés (**Heusser & Dupuy, 2004**). Ces disques assurent le passage de la larve à l'adulte, ainsi la morphologie larvaire est très différente de celle de l'adulte.

Le développement passe par une succession de stades larvaires séparés d'une série de mues, en effet, les larves de troisièmes stade rampent jusqu'à une portion sèche des aliments pour se transformer en pupes. C'est le stade intermédiaire entre le stade larvaire et celui d'adulte, caractéristique des insectes à métamorphose complète ; ainsi nommées en raison de l'épaississement considérable de l'enveloppe, ou puparium, formée par la dernière mue larvaire durcie. Alors que la pupa est enfermée dans un cocon, elle ne se nourrit pas et est généralement quiescente, c'est à l'intérieur de ce cocon qu'aura lieu la métamorphose qui va donner le jour à un insecte adulte ailé (**Baudry, 1998**) (**Fig. 4**).

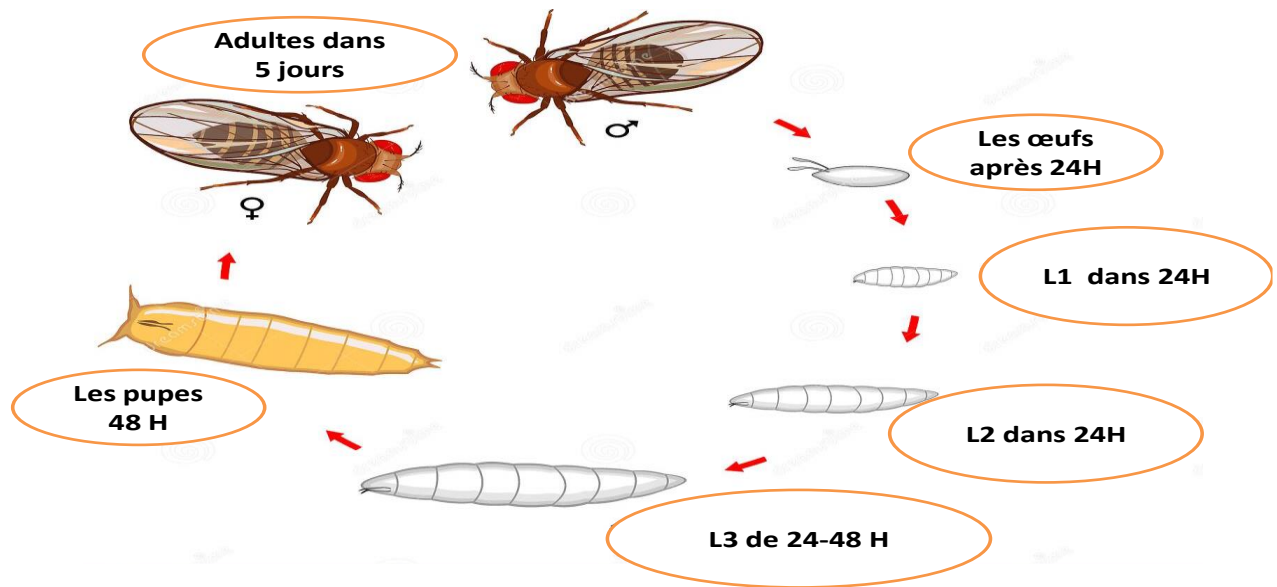


Figure 4. Présentation schématique du Cycle de vie de *D. melanogaster*

Position Systématique :

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

2.2. Elevage de masse :

Pour l'élevage de masse initiale, des pommes murs ont été coupés en petits morceaux et mis dans des boîtes en plastiques pour accélérer la fermentation (Fig. 5). Dès que les fruits se décomposent, on remarque de petits asticots qui se déplacent sur le milieu, ils représentent des

larves du premier stade. Ces derniers sont aussitôt déplacés sur un autre milieu artificiel préparé au laboratoire. (fig. 5).



Figure 5. Élevage de masse initiale (Photo originale)

Le substrat artificiel est un milieu gélosé à base de farine de maïs et de l'agar-agar. Pour ce milieu de culture, on met, dans une casserole, 33.3 g de maïs avec 33.3g de levure de bière et 4.8 g de l'agar-agar puis on ajoute l'eau distillée jusqu'à avoir un mélange homogène.

Le mélange a été chauffé on remuant sans arrêt pour ne pas accrocher au fond de la casserole, Puis on le porte à ébullition pendant 3 à 5 minutes et on cesse de chauffer. On laisse refroidir quelques minutes en rajoutant 25 ml de l'antifongique (solution d'acide benzoïque dans de l'éthanol à 70 %). Ce milieu est gardé au réfrigérateur pendant environ un ou deux mois (Fig. 6).



Figure 6. Préparation du milieu artificiel (Photo originale)

La mise en œuvre du milieu d'élevage est réalisée en répartissant à chaud le milieu préparé dans des tubes en verre prévus pour l'élevage ou dans des Erlenmeyers de 250 ml

(Fig. 7) . L'élevage est conduit au laboratoire à une température de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, une humidité de 70 à 80 % et une scotophase de 12:12.



Figure 7. Tubes d'élevage (Photo originale)

2.3. *Ruta chalepensis* :

Ruta chalepensis est une plante aromatique médicinale qui appartient à la famille des *Rutacées*, encore utilisée dans la médecine traditionnelle de nombreux pays comme anti-inflammatoire, et pour le traitement de pathologies cutanées (Merghache et al., 2009). Plante originaire du Sud-est de l'Europe (Ukraine, Albanie, Bulgarie et ex-Yougoslavie). Elle est largement ré pondue dans toute l'Europe et en Afrique du Nord. *Ruta chalepensis* est une espèce méditerranéenne bien connue en toute l'Algérie septentrionale, qui existe à l'état spontané dans les rocailles et les endroits secs du Tel (Eberhard et al., 2005 ; Jaque & Paltz, 1995). Cette plante est aussi cultivée en Algérie dans les jardins (Merghache et al., 2009).

Ruta vient du grec « rhyté » qui signifie sauvé, prévenir, ou de « reô » qui signifie qui coule faisant certainement référence à ses vertus emménagogues (Doerper, 2008). Ce genre comprend 8 espèces d'arbustes, de sous-arbrisseaux et de vivaces herbacées à souche ligneuse, caducs ou persistants, vivants dans les lieux secs et rocaillieux, de la région méditerranéenne, et du nord-est de l'Afrique jusqu'au sud-ouest de l'Asie. Les fleurs et le feuillage aromatiques, sont le principal attrait des rues. Les feuilles sont alternes, parfois opposées, ovales, larges, arrondies et pennatiséquées ou pennées. Les fleurs, jaunes, fimbriées ou dentées, à quatre ou cinq pétales, s'épanouissent en cymes terminales (Mioulane, 2004).

Le feuillage a parfois un usage médicinal. Ne consommer aucune partie de la rue, la plante entière étant toxique. Eviter de toucher le feuillage, sous peine de provoquer une réaction cutanée, se traduisant par des taches brunes (indolores) qui foncent au soleil (DODT, 1996). (Figure 8)



Figure 8. *Ruta chalpensis* (source: flora vascular.com)

La récolte a été faite à M'sila, Algérie elle est située à 422 mètres d'altitude. Les coordonnées géographiques sont 35°19'60" N et 4°19'60" E en DMS (degrés, minutes, secondes) ou 35.3333 et 4.33333 (en degrés décimaux) (fig. 9).

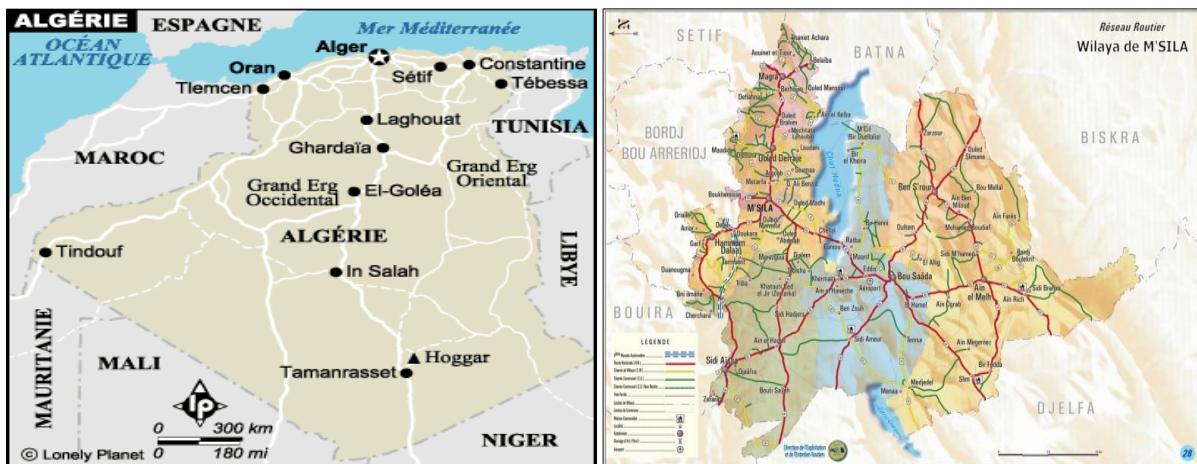


Figure 9. Situation géographique des sites étudiés dans la wilaya de M'sila.

R. chalepensis ou « Fidjel » est une plante connue par sa forte odeur et ses composés puissants utilisée dans les milieux agricoles pour contrôler les ravageurs, notamment les insectes (Duval, 1992). Plante vivace, les fruits de la plante sont aigus acuminés de 6 à 9 mm de diamètre, grappes fructifères et étalées. La période de floraison est de février à juin (Beniston, 1984). (Fig. 10)



Figure 10. *Ruta chalepensis*

Ruta chalepensis « la rue », est largement exploitée pour ces huiles essentielles destinées à la parfumerie et l'industrie agroalimentaire (Merghache *et al.*, 2009), sert aussi à aromatiser des boissons alcoolisées, la bière mais aussi le vin blanc dont elle rehausse le bouquet. Les feuilles fraîches ou séchées sont utilisées en petites quantités pour assaisonner les sauces et les plats de viande à cause du goût amer et les risques de toxicité. C'est un répulsif pour les insectes, notamment les pucerons (Eberhard *et al.*, 2005).

Bien que *R. chalepensis* soit reconnue comme plante vénéneuse, elle est utilisée en médecine traditionnelle comme emménagogue, antispasmodique, antiépileptique, vermifuge et sud d'Arifque (Ait, 2006). Son mode d'utilisation en usage interne est l'infusion de plante entière ou de sommités fleuries à raison de 1 à 2 g au maximum par tasse d'eau bouillante. En usage externe, elle est utilisée comme antirhumatismale et surtout comme antiseptique sur les plaies et les ulcérations, de même qu'en bains de bouche pour soigner les affections gingivales (Ait, 2006). Cette plante est très utilisée à des fins diverses : Fébrifuge, antivenimeux local, contre les nausées et les vomissements, dans les constipations, dans le paludisme, pour soigner les anémies (Merad, 1973), le rhumatisme, contre les douleurs gastriques, les vers intestinaux (Baba Aissa, 1999), dans les accouchements difficiles, les maux des yeux et des oreilles, dans l'asthme, les névroses (Merad, 1973).

Suite aux effets nocifs de la plante, son utilisation est vivement déconseillée aux femmes enceintes et aux enfants en bas âge. Du reste, son emploi en général n'est indiqué qu'en dose très réduite (1 à 2 g. par tasse d'eau). A forte dose, elle provoque de graves empoisonnements et elle risque d'être toxique. L'usage interne de la plante est à contrôler car elle a un certain degré de toxicité et a déjà été utilisée comme abortif (Ait, 2006).

L'étude de la composition chimique des parties aériennes de *R. chalepensis*, a conduit à la mise en évidence des alcaloïdes, des glycosides cardiotoniques, des flavonoïdes, des tannins, des coumarines, des anthraquinones, des saponines, des composés volatiles, des glycosides cyanogènes, et des stérols/tri-terpènes (Günaydin & Savci, 2005 ; Mejri et al., 2010). Les acides gras insaturés (AGI) représentent 80,74% des acides gras totaux des feuilles de *Ruta chalepensis* avec l'acide linoléique (C18 :2) et linoléique (C18 :3) comme des composés majoritaires. Par contre dans les tiges, les fleurs, et les fruits les AGI représentent un faible pourcentage (Tounsi et al., 2011)

Plusieurs alcaloïdes ont été isolés à partir des parties aériennes et/ou des racines de *Ruta chalepensis* L. et identifiés (Mohr et al., 1982 ; Ulubelen et al., 1986 ; Ulubelen & Terem, 1988 ; Ulubelen & Tan, 1990 ; El Sayed et al., 2000). On distingue plusieurs groupes : Furoquinoléines (skimmianine, gamma-fagarine, dictamnine, la 5-méthoxydictamine, kokusaginine, ptéléine, etc.) (Vaquette et al., 1976 ; Bhoga et al., 2004), Furoquinolones (taifine, isotaifine, 8-méthyltaifine) (Mohr et al., 1982), Acridones (rutacridone, citusamine, choloridone; arborinine, 1-hydroxy-N-méthylacridone) (Giridhar et al., 2010), Quinazolones (arborine) (Farediah et al., 1996), 4-Quinolones (graveoline, rutamine) (Grundon & Okley, 1979 ; Megally et al., 2009), et Quinoléines (graveolinine) (Waterman, 1975).

Pour les composés terpéniques de *R. chalepensis*. sont généralement sous forme de mono-terpènes, sesquiterpènes, et di-terpènes dont la majorité sont des cétones, des aldéhydes, des alcools, des acétates, ou des acides rencontrés dans son huile essentielle (Mejri et al., 2010 ; Fakhfakh et al., 2012).

Cependant la composition de l'huile essentielle varie selon le climat, la période de la récolte, les caractéristiques du milieu géographique, la technique d'extraction, (Tounsi et al., 2011 ; Fakhfakh et al., 2012), et la partie de la plante (Ben Bnina et al., 2010). Ce composé constitue le composé majoritaire de l'huile essentielle des différentes parties de *Ruta chalepensis* poussant spontanément en Algérie (38.38%- 68.95%) (Merghache et al., 2009).

Classification Systématique de *R. chalepensis* :

(Wiart, 2006; Bonnier, 1999; Takhtajan, 2009)

- **Règne :** **Plantae**
- **Sous règne :** **Tracheobionta (plantes vasculaires)**
- **Super division :** **Spermatophyta (plantes à graine)**
- **Division :** **Magnoliophyta (plantes à fleurs)**
- **Sous division :** **Angiospermae**
- **Classe :** **Magnoliopsida (dicotylédons)**
- **Sous classe :** **Rosidae Super**
- **Ordre :** **Rutanae**
- **Ordre :** **Sapindales**
- **Famille :** ***Rutaceae***
- **Genre :** ***Ruta***
- **Espèce :** ***chalepensis***

2.4. Extraction de la plante *R. chalepensis*:

2.4.1. Préparation des extraits aqueux :

L'extrait aqueux de *R. chalepensis*, se fait par décoction. 250 g de la plante sont mises à bouillir dans 500 ml d'eau distillée jusqu'à l'obtention de 250 ml de solution. Le mélange obtenu est filtré. Le filtrat récupéré représente une solution stock initiale à 1000 µg/ml. Après des essais préliminaires, quatre concentrations sont étudiées (25, 50, 100, 150 µg/ml) (Fig. 11).

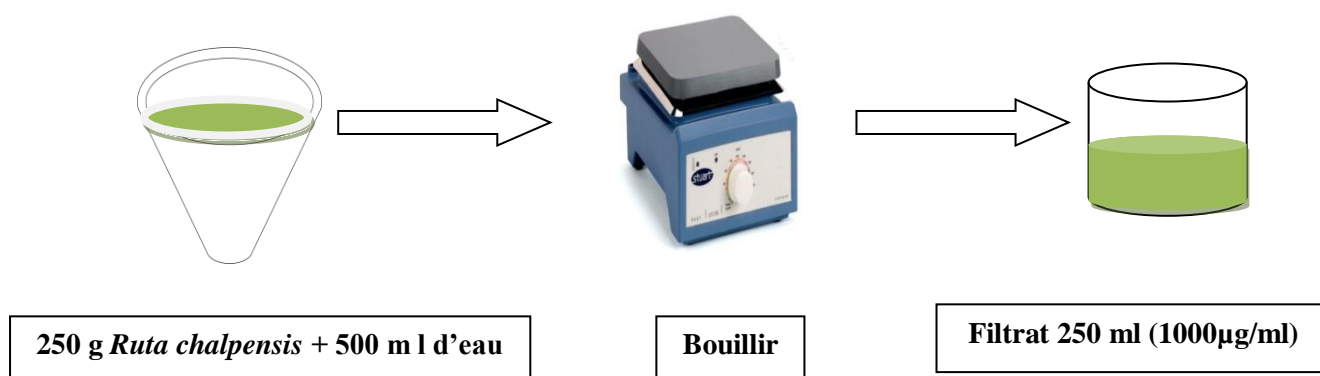


Figure 11 : Présentation schématique de l'extraction par décoction.(Photo originale)

2.4.1. Préparation des extraits éthanoliques : Pour l'extraction des feuilles de *R. chalepensis* nous avons macéré 84,70 g en poudre dans 200 ml d'éthanol à 70% pendant 24h à température ambiante et à l'ombre. Après filtration, le filtrat obtenu a fait l'objet d'une évaporation en utilisant un Rotavapor à une température de 50°C avec vitesse numéro 2, On doit placer un agitateur (un barreau) pour éliminer le solvant éthanol. La patte récupérée après macération pèse 1.34 g de la patte, ce qui fait une solution mère de 6,7 µg/ml qui a été conservée à 4°C jusqu'à utilisation. Cinq concentrations sont étudiées (0,25 µg/ml, 0,50 µg/ml, 1 µg/ml, 1,5µg/ml, 2 µg/ml, 2,5 µg/ml) (Fig. 12).

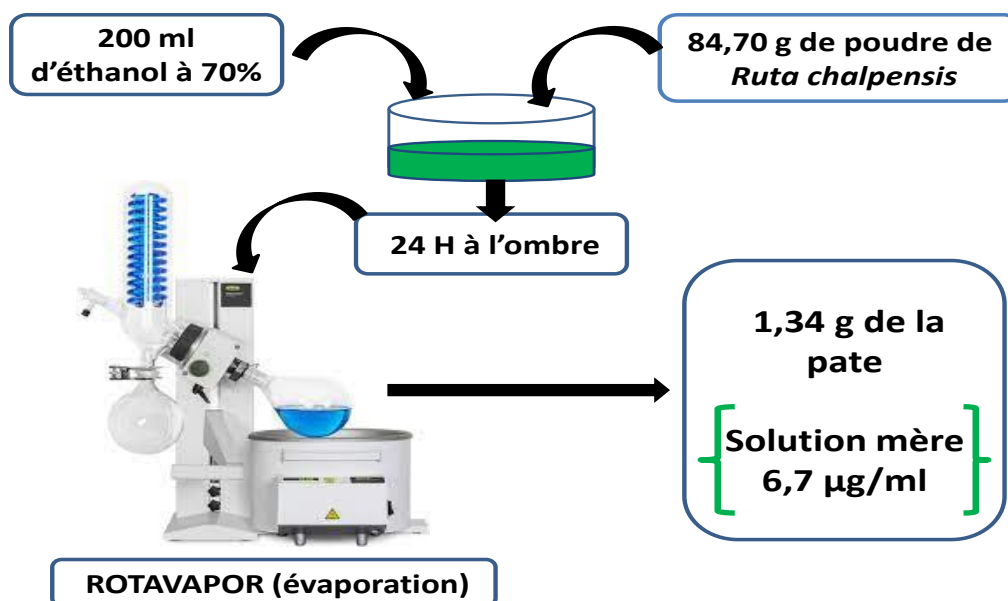


Figure 12 : Présentation schématique de l'extraction par macération (Photo originale)

2.5. Effet de *R. chalpensis* sur la mortalité et le développement de *D. melanogaster* :

2.5.1. Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* la mortalité et le développement de *D. melanogaster* :

Le test de toxicité consiste à exposer ou à administrer (par ingestion) de différentes concentrations d'extraits aqueux aux larves du 2^{ème} stade de la drosophile, dans des conditions bien contrôlées du laboratoire.

Nous avons préparé quatre concentrations différentes de 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml et 150 µg/ml. Les extraits sont ingérés; chaque concentration est mélangée à 40 g de nourriture sera divisé en quatre tubes différents. Dans chaque tube, 20 des larves de deuxième stade sont placées. Un tube de contrôle contient 20 larves de deuxième stade et non traitées par *R. chalpensis* extraits aqueux. Le suivi de la mortalité et du développement des larves se fait pendant 15 jours (temps nécessaire pour terminer le développement).

2.5.2. Effet de l'extrait éthanoliques de *R. chalpensis* la mortalité et le développement de *D. melanogaster* :

Nous avons préparé différentes concentrations de l'extrait éthanoliques de *R. chalpensis* (0,25 µg/ml, 0,5 µg/ml, 1 µg/ml, 1,5 µg/ml, 2 µg/ml et 2,5 µg/ml). Les extraits sont ingérés; chaque concentration est mélangée à 40 g de nourriture sera divisé en quatre tubes différents. Dans chaque tube, 20 des larves de deuxième stade sont placées. Un tube de contrôle contient 20 larves de deuxième stade et non traitées par *R. chalpensis* extraits éthanoliques. Le suivi de la mortalité et du développement des larves se fait pendant 15 jours (temps nécessaire pour terminer le développement). (Fig. 13).

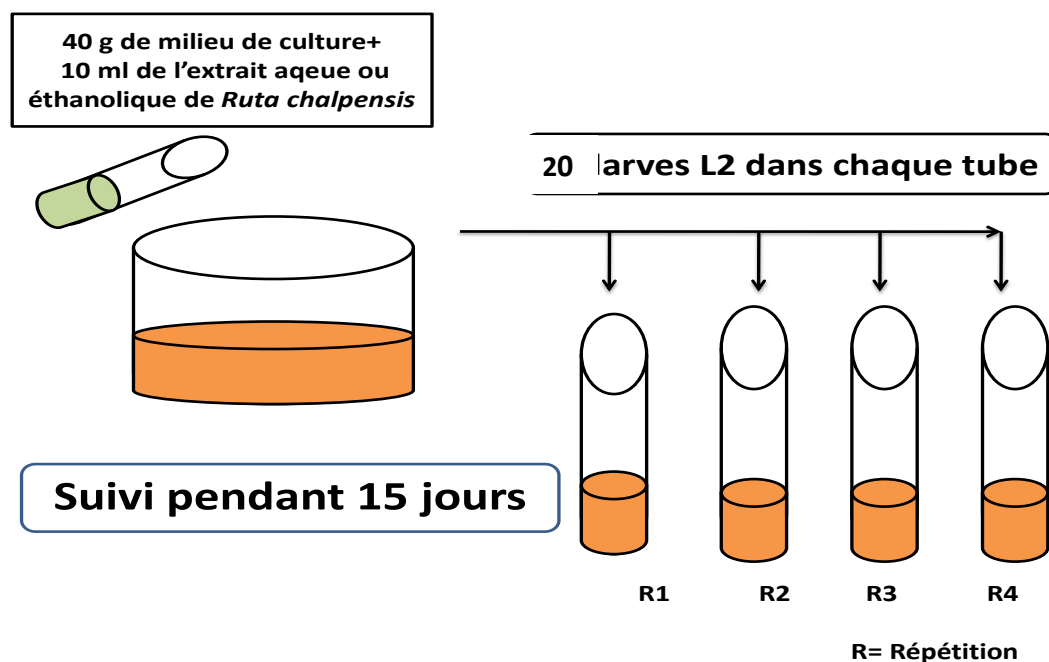


Figure 13. Schéma du protocole de traitement des L2 (Photo originale)

2.6. Effet de *R. chalpensis* sur l'attractivité alimentaire des larves de *D. melanogaster* (L3) :

Les larves du troisième stade (L3) issues du traitement ont fait l'objet des tests du comportement alimentaire par deux extraits aqueux et éthanoliques de *R. chalpensis* à des concentrations sublétales (50 µg/ml, 0,5 µg/ml) respectivement. Ces larves, sont faciles à manipuler. 40 larves non traitées sont utilisées pour l'observation des témoins.

Le principe des tests d'attraction porte sur les larves de 3^{ème} stade de *D. melanogaster* c'est pour mieux comprendre l'acuité olfactive chez les larves et comment peuvent-elles détecter la présence de la nourriture.

Afin de réaliser ces tests on utilise le matériel suivant : boîtes de pétri en plastique (diamètre de 100 mm), papiers filtre Whatman (diamètre 15 mm), pinces fines, petites aiguilles (longueur environ 10 mm), spatules inox, chronomètres, coupelles en verre.

L'arène de test utilisée est une boîte de Pétri en plastique (diamètre de 100 mm) contenant de l'agar à 2% dont le fond est recouvert d'un papier sur lequel on a dessiné au crayon de papier 2 zones circulaires (Zone « A » et « B ») disposées ligne ; chacune des zones représente 10% de la surface totale de l'arène. (Fig. 14).

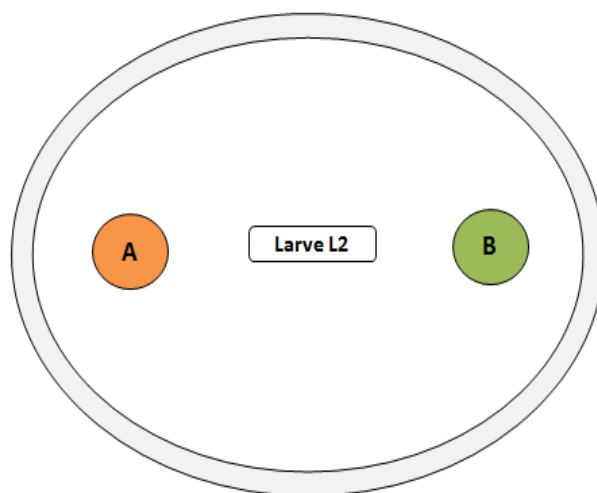


Figure 14 : Schéma de l'arène de test (boîte de pétri, diamètre 100mm) (Photo originale)

Le milieu artificiel utiliser assure le déplacement des larves et constitue une surface lisse qui facilite le mouvement des larves. Au laboratoire, on a préparé le milieu à base d'agar et de l'eau. Pour préparer 8 boîtes, on dissoudre 5 g d'agar avec 250 ml d'eau, puis on délaye la casserole sur la plaque chauffante en agitant sans arrêt pour assurer que le produit d'agar se dissocier complètement dans l'eau. Le mélange est porté à ébullition jusqu'à l'apparition d'une couche dense sous le mélange. La quantité préparée est distribué sur les boîtes de pétrie à une épaisseur d'environ 5 mm et on laisse environ 3 heures afin que le milieu refroidit et pour que la surface devient lisse. (Fig. 15).



Figure 15: Préparation du milieu gélosé à base d'agar et de l'eau (Photo originale)

Ensuite on introduit les papiers filtre (déjà préparé) dans des tubes contenant le milieu de culture témoin et mélangé avec l'extrait aqueux ou éthanolique de *R. chalpensis* et on laisse 2 heures pour que les papiers filtre garde l'odeur de la nourriture. Après 2 heures, on retire les papiers et on enlève le milieu en frottant avec une spatule les deux côtés des papiers filtre. Ces papiers sont ensuite mis dans les boîtes de pétri dans la zone A et la zone B. On note le choix de chaque larve et le temps qu'elle met pour atteindre la zone choisie. Le suivi de test se fait pendant 30 minutes.

Les larves sont transvasées des tubes d'élevage vers une coupelle en verre avec de l'eau distillé puis elles sont prélevées avec des pinces dans une autre coupelle en verre contenant, aussi, de l'eau déminéralisée. Les papiers filtre imbibés de milieu nutritionnel sont introduits dans la boîte de pétri contenant l'agar (2%). Ils sont manipulés uniquement avec des pinces. Chaque papier filtre est fixé avec une petite aiguille (**Fig.16**).

On prélève une larve (avec une pince) et on la dépose au centre (point « L ») de la boîte de pétri contenant les papiers filtre. A ce moment, on déclenche de chronomètre et on note le choix de larve ainsi que le temps qu'elle met pour faire son choix. Les tests se font avec des larves témoins et des larves traitées (N= 40) et on a testé le choix des entre les milieux : traité vs traité, témoin vs traité et témoin vs témoin. (**Fig. 16**).

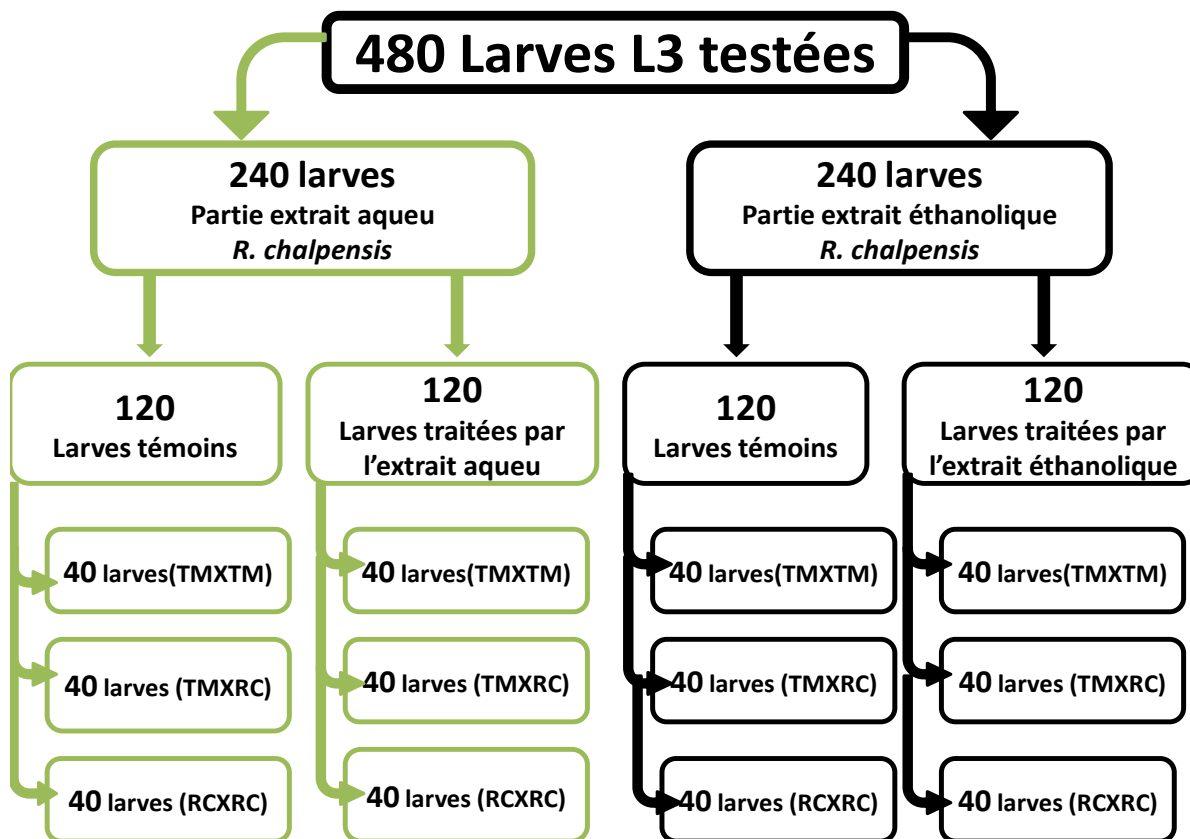


Figure 16 : Présentation schématique des différents milieux de cultures testés. (Photo originale)

2.7. Effet de l'extrait aqueux et éthanolique de *R. chalpensis* sur le comportement sexuel des adultes de *D. melanogaster* :

. Description du comportement sexuel de *D. melanogaster* :

La parade sexuelle chez les drosophiles est un comportement riche en événements (Clynen *et al.* 2011 ; Chardonnet, 2013), passe par six étapes essentielles, prédéterminées et invariables (Terhzaz, 2003 ; Dickson, 2008 ; Revadi *et al.* 2015) et requiert de nombreux signaux sensoriels dont les signaux chimiques (les phéromones des hydrocarbures cubiculaires) tiennent une place importante (Greenspan & Ferveur, 2000 ; Sokolowski, 2001). Et c'est le mâle qui procède les différentes séquences.

Après avoir déterminé la concentration sublétaled de l'extrait de *R. chalpensis*, nous avons établi des tests de comportement sexuel afin de mesurer l'effet de ces molécules sur la parade sexuelle des mouches. Pour cette étude, le traitement a été réalisé avec l'utilisation des

centrations 50 µg/ml pour l'extrait aqueux et 0,5µg/ml pour l'extrait éthanolique. Le traitement se fait sur des larves de troisième stade et quotidiennement on isole les adultes émergés. Dès l'émergence, les adultes survivants sont isolés (pendant 48 heures) jusqu'au moment des tests du comportement sexuel.

Les tests de comportement sexuel sont effectués suivants quatre croisements :

- Mâle traité X femelle traitée
- Mâle témoin X femelle témoin
- Mâle traité X femelle témoin
- Mâle témoin X femelle traitée

L'observation se fait pendant une heure du temps et le test commence dès l'introduction des mouches dans les tubes prévus pour ces tests. Durant ce temps les principaux comportements stéréotypés de parade des mâles sont analysés : la poursuite, le contact des mouches avec les premières paires de pattes, la vibration alaire, le léchage et la tentative d'accouplement et même l'accouplement. (**Fig. 17**).



Figure 17: Séparation individuel des adultes nouvellement émergés par sexe.

Le comportement reproducteur chez la drosophile présente une grande diversité que ce soit dans les ressources utilisées, l'utilisation du sperme, leur capacité à se réaccoupler et la mise en place de la parade (**Markow & O'Grady, 2005**). Ce comportement a été décrit en 1915 par Sturtevant chez *D. melanogaster* avant d'être observé chez les autres espèces du genre *Drosophila*. La parade sexuelle est constituée d'étapes stéréotypées mais non linéaires qui

constituent un véritable dialogue entre les partenaires (**Spieth, 1952; Hall, 1994; Greenspan & Ferveur, 2000**). La chorégraphie classique de la cour se décrit ainsi lorsqu'un mâle rencontre une partenaire potentielle, il s'oriente face à elle et touche son abdomen avec l'une de ses pattes avant pour percevoir son identité phéromonale. Si la femelle lui convient, il la suit pendant qu'elle se déplace tout en faisant vibrer ses ailes, produisant ainsi un signal acoustique appelé chant d'amour (**Bennet-Clark & Ewing, 1970; Von Schilcher, 1976**). Il va également faire trembler son abdomen, créant des vibrations qui vont être transmises à la femelle via le substrat (**Fabre et al., 2012**).

Si la femelle est réceptive, le mâle lèche ses genitalia avec son proboscis et tente une copulation en recourbant son abdomen pour accoler son appareil génital à celui de la femelle. En fonction de la réceptivité de la femelle, ce comportement peut être répété plusieurs fois avant d'aboutir à une copulation effective. La femelle transmet au mâle des signaux d'acceptation ou de rejet (**Sturtevant, 1915; Connolly & Cook, 1973**) tout au long de la parade. Une femelle réceptive ralentit ses déplacements, augmente la fréquence de nettoyage de son abdomen et extrude partiellement son ovipositeur tout en émettant une gouttelette qui va exciter le mâle (**Lasbleiz et al., 2006**). A l'inverse, une femelle non réceptive donne des coups de pattes au mâle, lève et descend son abdomen, fuit ou extrude totalement son ovipositeur (**Spieth, 1952; Lasbleiz et al., 2006**) et n'écarte pas ses ailes, empêchant le mâle de se positionner correctement pour l'accouplement. L'accouplement entraîne des modifications physiologiques et comportementales chez chacun des deux partenaires qui vont, entre autre, altérer temporairement leur attractivité (**Bontonou, 2014**).

a/ Orientation et poursuite du mâle : Lorsque les deux partenaires sont réunis dans la chambre du test, le mâle commence par explorer le lieu. Après quelques secondes, c'est toujours le mâle qui va détecter la femelle en premier et commence à la courtiser rapidement et le premier contact avec les pattes antérieures s'établit. La femelle est plus discrète, elle secrète des substances odorantes aphrodisiaques qui sont des phéromones. Elle indique sa réceptivité en ralentissant son activité locomotrice pour faciliter l'accouplement (**I.N.A.P.G, 1997**) (**Fig.18**).

b/ Contact : Les attouchements se font par les mâles, le mâle arrive près de la femelle et l'explore et la tapote par ses pattes antérieures. Au cours de ces contacts, il la suit et lui tourne autour (**Fig. 18**).

c/ Le chant ou la vibration : Au cours de la parade des mouches de *D. melanogaster*, le mâle déploie une de ses ailes à la verticale de son corps, et il l'a fait vibrer produisant ainsi un

chant caractéristique qui ne dure que quelques secondes. Le chant se répète plusieurs fois pendant la parade et seuls les mâles qui font les vibrations. Le circling c'est une sorte de chant, dans lequel le mâle tourne autour de la femelle (**Fig. 18**).

d/ Léchage des plaques génitales de la femelle par le mâle : Après une sollicitation continue du mâle, la femelle réceptive s'immobilise, le mâle étend sa trompe et commence par lécher les plaques génitales de la femelle. Le léchage des mâles de *D. melanogaster* se répète plusieurs fois et ne dure que quelques secondes (**Fig. 18**).

e/ Tentative d'accouplement : La première tentative d'accouplement suit immédiatement l'étape de léchage des génitales de la femelle. Le mâle tente une copulation en incurvant son abdomen. Si la tentative d'accouplement échoue, le mâle répète sa tentative plusieurs fois jusqu'à la réussite de l'accouplement. Si la femelle refuse de s'accoupler il cesse sa cour. Cette séquence ne dure que quelques minutes (maximum 10 minutes) (**Fig. 18**).

f/ Accouplement : Après stimulation de la femelle durant la parade, elle ralentit son activité locomotrice pour favoriser l'accouplement. L'accouplement se fait dès que le mâle est sur le dos de la femelle, il étend à ce moment, et progressivement, son pénis dans les génitales de la femelle. L'accouplement dure environ 20 minutes pendant lesquels, le mâle reste immobile tandis que la femelle manipule et écarte ses plaques génitales. Le décrochage des deux partenaires annonce la fin de l'accouplement (**Fig. 18**).

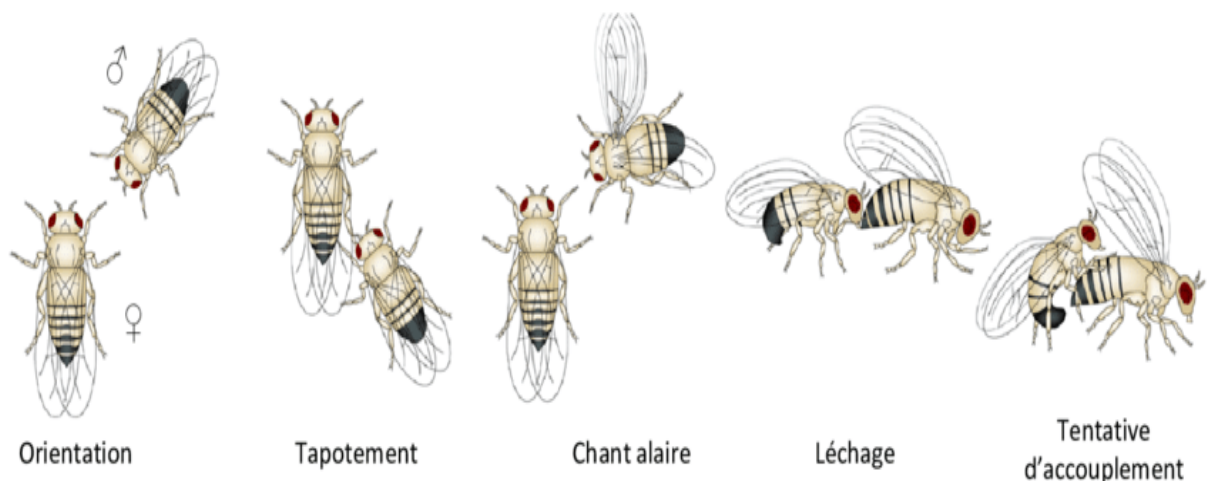


Figure 18 : Présentation schématique qui illustre les différentes séquences de la parade de *D. melanogaster*

2.8. Effet des extraits aqueux et éthanolique de *R. chalpensis* sur le choix d'oviposition chez les femelles:

Dans le but de déterminer le choix du site de ponte chez *D. melanogaster*, les femelles fécondées pendant le test précédant (seulement qui ont abouti à un accouplement réussi) sont séparées individuellement dans des boîtes en plastique. Deux verres de montre contiennent un milieu de culture sain et un autre traité par une concentration sub létale (selon le produit testé), sont placés au fond de chaque boîte. Ces derniers vont être récupérés après 48 heures afin de compter les œufs pondus sous un stéréoscope, avec la précision de la nature du milieu sélectionné (**Fig. 19**).

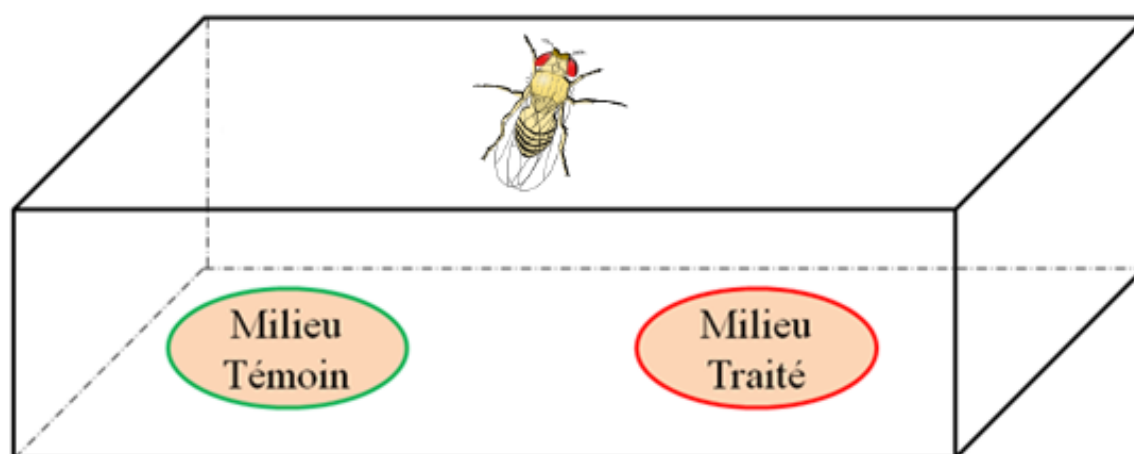


Figure 19. Présentation schématique de la chambre d'oviposition

2.9. Effet des extraits aqueux et éthanolique de *R. chalpensis* sur les coupes histologiques chez les adultes (male et femelles) de *D. melanogaster* :

Pour mieux comprendre l'effet des extraits aqueux et éthanolique de *R. chalpensis* sur la mouche de vinaigre *D. melanogaster* on a réalisé des coupes histologique au niveau de CHU ABDALLAH NOUWOUYIA à ELBOUNI, ANNABA, l'ALGERIE au niveau du laboratoire d'ANNAPATHE.

Pour cela on a séparé des adultes males et femelles de *D. melanogaster* témoin dont on a traité un nombre par l'extrait aqueux et l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* et on les a émerger dans un volume de liquide fixateur (éthanol 70%).

Pour rendre visible ce que l'on veut observer, il est nécessaire de mettre en œuvre des techniques diverses (préparation des échantillons) :

La fixation : par l'éthanol 70% La durée de la fixation varie selon le volume des prélèvements (de quelques heures pour un petit fragment à plusieurs semaines).

L'inclusion : a pour but de permettre la réalisation de coupes fines et régulières. On a utilisé la paraffine. Les mouches doivent d'abord subir une déshydratation (par immersion dans des bains d'alcool de degré croissant puis dans des bains de toluène) avant d'être coulé dans un moule contenant de la paraffine fondue par chauffage et devenue liquide, qui infiltre alors toute la pièce. Après refroidissement, on se trouve en présence d'un bloc de paraffine, dur, à l'intérieur duquel les mouches sont incluses. (**Fig. 20**).



Figure 20: Blocs de paraffine (Photo originale).

Les coupes : du bloc de paraffine sont faites avec un microtome permettant de réaliser des tranches de section (coupes) de 2 à 5 μm d'épaisseur. Les coupes sont recueillies sur des lames de verre.

Les colorations : réalisées sur lames, accentuent les contrastes pour mieux reconnaître les différents éléments de la préparation. Comme les colorants sont en solution aqueuse, les coupes doivent d'abord subir une réhydratation. Celle-ci est effectuée après déparaffinage des coupes (par la chaleur et des bains de toluène) en immergeant les lames dans des bains d'alcool de degré décroissant puis dans l'eau distillée.

Le montage : Après avoir subi une déshydratation (par bains d'alcool de degré croissant puis bains de toluène), les coupes colorées sont montées entre lame et lamelle avec une résine synthétique dont l'indice de réfraction est voisin de celui du verre. On dispose alors d'une « préparation microscopique » (simplement appelée « lame » dans le langage courant) prête à être observée au MO. (**Fig. 21**).

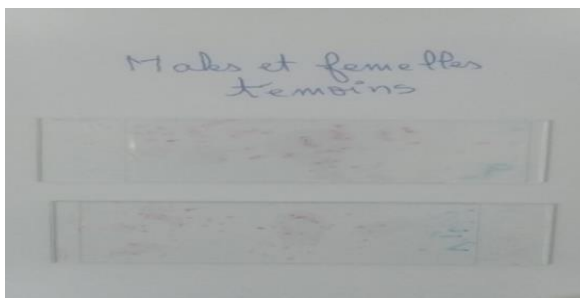


Figure 21: Les lames prêtes à être observées au MO (Photo originale)

On les à observer au niveau de laboratoire re recherche de neuroscience au niveau de l'univesité BADJI MOKHTAR, ANNABA, ALGERIE (**Fig.22**).



Figure22. Automate imprégnation / Microtomes à paraffine / Stréréomicroscope.

2.11. Analyse statistique des données :

Test de mortalité:

En ce qui concerne les résultats obtenus pour cette étude toxicologique, on a calculé les concentrations létales (CL50% et CL90%) pour l'insecticide utilisé selon les procédés mathématiques de Finney.

Pendant les 15 jours d'exposition à l'insecticide, la variable mesurée est le nombre des individus morts quotidiennement. Le taux de mortalité observé est corrigé par la formule d'Abott qui permet de connaître la toxicité réelle des insecticides. Les différents taux subissent une transformation angulaire d'après les tables de Bliss. Les donnés sont ainsi normalisés et font l'objet d'une analyse de variance sur XLStat 2009 puis ils sont transformés en probits ce qui permet d'établir une droite de régression en fonction des logarithmes décimaux des concentrations utilisées, et le test χ^2 permet un bon ajustement de la droite (**Finney, 1971**). A partir de cette droite on a calculé les concentrations létales.

La même analyse statistique a été utilisée pour calculer les temps létaux de chaque concentration utilisée (TL50% et TL90%) (de chaque produit utilisé). Le taux de mortalité observé pour chaque concentration est corrigé par la formule d'Abott, puis transformé d'après les tables de Bliss, ce qui nous permet de comparer les variances sur XLStat 2009. Ces taux sont aussi transformés en probits afin d'établir une droite de régression en fonction des logarithmes décimaux des temps d'exposition, un test Chi2 permettant un bon ajustement de la droite (**Finney, 1971**). A partir de cette droite, on peut alors calculer les temps létaux.

Test d'attractivité alimentaire:

En ce qui concerne les résultats obtenus des tests du comportement alimentaire des larves, Les différents temps obtenus ont été analysés par des méthodes métriques descriptives donnant la moyenne, l'écart-type, le minimum et le maximum ainsi que la variance. Les résultats obtenus sont alors comparés en utilisant une analyse des variances (ANOVA) sur XLSTAT 2014 software (Addinsoft, New York, NY).

Un Indice d'attraction (IA) est calculé selon **Honda et al. (2014)** comme suit : $IA = (\text{nombre de larves présentes sur un milieu traité} - \text{nombre de larves présentes sur un milieu témoin}) / (\text{nombre de larves présentes sur un milieu traité} + \text{nombre de larves présentes sur un milieu témoin})$. Théoriquement il varie entre -1 (grande aversion pour le produit) et +1 (grande attraction pour le produit).

Test de comportement sexuel :

Les différents paramètres mesurés dans cette étude ont été analysés statistiquement par des méthodes métriques descriptives donnant la moyenne, l'écart-type, le minimum, le maximum et la variance. Puis on a analysé les résultats en utilisant un test paramétrique : ANOVA (comparaison des variances de k échantillons) sur XLStat 2009 software (**Addinsoft NY**).

Test d'oviposition :

Les différents paramètres mesurés dans cette étude ont été analysés statistiquement par des méthodes métriques descriptives donnant la moyenne, l'écart-type, le minimum, le maximum et la variance. Puis on a analysé les résultats en utilisant un test paramétrique : ANOVA (comparaison des variances) sur XLStat 2009 software (**Addinsoft NY**).

Résultats

3. Résultats :

3.1. Effet de *R.chelpensis* sur la mortalité et le développement chez les larves L2 de *D.melanogaster* :

3.1.1. Effet de l'extrait aqueux :

3.1.1.1. Effet des différentes concentrations d'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur la mortalité des L2 de *D. melanogaster* :

Nous avons enregistré dans le tableaux (01) l'évolution des taux de mortalité chez *D. melanogaster* en fonction du temps d'exposition en utilisant les différentes concentrations des extraits issus de la décoction de *R .chalpensis*,

Pour la concentration 25µg/ml après correction des taux de la mortalité observée, nous avons enregistré une moyenne des taux de mortalité allant de 2,5% au 5^{ème} jour du traitement jusqu'à 17,5 % après 15 jours de traitement, nous avons enregistré que le taux de mortalité pour cette concentration est nul au 2^{ème} du traitement et augmente progressivement au bout du 5^{ème} jour (**Tab. 1**). Quand on traite les larves de *D. melanogaster* en augmentant la concentration à 50 µg/ml de l'extrait aqueux de *R. chalpensis*, la moyenne des taux de mortalité des quatre répétitions testés enregistrés arrive à 27,5% au 15^{ème} jour de traitement et reste nul (0%) au 5^{ème} d'observation (**Tab. 1**).

Au bout du 15^{ème} jour de traitement des larves L2 de *D. melanogaster*, la mortalité atteint un taux de 85% pour la concentration 100 µg/l, par contre on enregistre aucune mortalités au bout du 2^{ème} et 5^{ème} jour pour la même concentration.

Pour la dernière concentration testée (150 µg/ml), on n'observe aussi aucune mortalité des larves au bout de 2^{ème} jour (0%) comme le cas des premières concentrations (25µg/l, 50µg/l, 100µg/l), Mais cette mortalité augmente progressivement et arrive jusqu'à 96,3% au 15^{ème} jour (**Tab. 1**).

Tableau 1 : Taux de mortalité causé par différentes concentrations d'extrait aqueux de *R. chalpensis* en fonction du temps.

Moyenne des mortalités Corrigées %				
	2j	5j	10j	15j
25µg/ml	0	2,5	16,3	17,5
50µg/ml	0	5	16,25	20
100µg/ml	0	0	12,5	85
150µg/ml	0	5	20	96,3

3.1.1.2. Les paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de *R. chalpensis*:

Le tableau (02) illustre les différents paramètres toxicologiques des extraits aqueux de *R. chalpensis*, les résultats montrent qu'il existe une forte corrélation entre les taux de mortalité et les concentrations utilisées. Se sont respectivement 18,20, 24,55, 14,45, 12,02 jours la TL50, et 33,88, 43,65, 21,87, 17,78 jours la TL90. On a enregistré une augmentation des temps létaux TL50 et TL90 (24,55 et 43,65) dans la concentration 50 µg/ml, après plus les concentrations de l'extrait aqueux augmentent plus les temps létaux diminuent (Tab.2).

Tableau 2: Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* à l'égard des larves L2 de *D. melanogaster*: Calcul des temps létaux.

Concentrations	Droite de Régression	R	TL50% (jours)	TL90% (jours)
25 µg/ml	$Y=-0,99+4,75X$	0,95	18,20	33,88
50 µg/ml	$Y=-2,24+5,21X$	0,90	24,55	43,65
100 µg/ml	$Y=-3,12+7,04X$	0,90	14,45	21,87
150 µg/ml	$Y=-3,48+7,83X$	0,90	12,02	17,78

(Y: probits des taux de mortalités, X: le logarithme décimal des concentrations)

Les concentrations létales obtenues 10 et 15 jours après traitement, sont respectivement de $1,41 \times 10^6$ µg/ml et 56,23 µg/ml pour la CL50 et $1,20 \times 10^{11}$ µg/ml 128,82 µg/ml pour la CL90 (Tab.3). Ces calculs montrent que plus les temps d'exposition augmente plus les concentrations diminuent (Tab. 3).

Tableau 3: Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux *R. chalpensis* à l'égard des larves L2 de *D. melanogaster* : Calcul des Concentrations létales.

Jours	Droite de Régression	R	CL50% (jours)	CL90% (jours)
10jours	$Y=3,40+0,26X$	0,29	$1,41 \times 10^6$ µg/ml	$1,20 \times 10^{11}$ µg/ml
15jours	$Y=-1,35+3,62X$	0,94	56,23 µg/ml	128,82 µg/ml

(Y: probits des taux de mortalités, X: le logarithme décimal des temps)

3.1.2. Effet de l'extrait éthanolique:

3.1.2.1. Effet des différentes concentrations d'extraits éthanolique de *R. chalpensis* sur la mortalité des L2 de *D. melanogaster* :

Les résultats de l'effet direct des différentes concentrations de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* administré par ingestion chez les larves de 2^{ème} stade de *D. melanogaster* est enregistré dans le tableau 4. Après la correction des taux de la mortalité obtenue, nous avons enregistré une moyenne des taux de mortalité allant de zéro à 37,5% durant les 15 jours de suivi du traitement pour la concentration 0,25µg/ml (**Tab. 4**).

Quand on traite les larves de L2 de *D. melanogaster* en augmentant la dose à 0,50µg/ml de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis*, les taux de mortalité enregistrés arrivent à 58,75% au 15^{ème} jour de traitement. À 2 jour on enregistrés déjà 1,25%, ce taux augment progressivement à 5 et 10 jour (**Tab. 4**). Au bout du 15^{ème} jour de traitement des larves de *D. melanogaster*, la mortalité atteint un taux de 68,75% pour la concentration 1µg/l dont le minimum est de 3,75% enregistré au deuxième jour du test (**Tab. 4**).

Quand on augmente la concentration à 1,5 µg/ml, les taux de mortalité enregistrés sont 53,75% au 15^{ème} jour de traitement et nul au cours des 2 jours d'exposition. Pour la concentration la plus forte (2,5µg/ml) de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis*, nous avons enregistré une moyenne des taux de mortalité qui varié entre 8,75% allant jusqu'a 62,5% de mortalité pendant 15 jours de traitement (**Tab. 4**).

Tableau 4: Taux de mortalité causé par différentes concentrations d'extraits éthanolique de *R. chalpensis* en fonction du temps.

Moyenne des mortalités Corrigées %				
	2j	5j	10j	15j
0,25µg/ml	0	2,5	7,5	37,5
0,50µg/ml	1,25	3,75	6,25	58,75
1µg/ml	3,75	5	12,5	68,75
1,50µg/ml	0	6,25	11,25	53,75
2µg/ml	0	3,75	3,75	53,75
2,50µg/ml	0	8,75	8,75	62,5

3.1.2.2. Les paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de *R. chalpensis*:

Les résultats consignés dans le tableau (05) résument les différents paramètres toxicologiques des extraits éthanolique de *R. chalpensis*. Ces derniers montrent qu'il existe une forte corrélation positive entre le taux de mortalité et le temps d'exposition à l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (R= 0,82 à 0,97) (**Tab. 5**). Nos résultats indiquent que le TL50% est de 22,91 jours pour les faibles concentrations et de 13,80 jours pour la concentration la plus élevée. Le TL90% atteint 77,62 jours pour la concentration 0,50 µg/ml (**Tab.5**).

Tableau 5: Paramètres toxicologiques de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* à l'égard des larves L2 de *D. melanogaster*: Calcul des temps létaux.

Concentrations	Droite de Régression	R	TL50% (jours)	TL90% (jours)
0,25 µg/ml	Y=-1,20+5,07X	0,97	16,59	29,51
0,50 µg/ml	Y=1,77+2,38X	0,84	22,91	77,62
1 µg/ml	Y=2,19+2,24X	0,82	17,78	66,07
1,50 µg/ml	Y=-1,23+5,43X	0,96	13,80	13,99
2 µg/ml	Y=-1,27+5,22X	0,95	15,13	28,18
2,50 µg/ml	Y=-1,26+5,51X	0,94	13,80	23,44

(Y: probits des taux de mortalités, X: le logarithme décimal des concentrations)

Les résultats montrent aussi qu'il existe une très faible corrélation positive entre le taux de mortalité et les concentrations de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* au bout de 10 jours de traitement (R=0,12) (**Tab. 6**). Alors qu'on a enregistré une corrélation entre la mortalité et concentrations utilisée a partir du 5^{ème} jour jusqu'à la fin du traitement (**Tab. 6**).

Au bout de 15 jours de traitement la concentration létale CL50% est de 0,57 µg/ml alors que la CL90% de 208,93 µg/ml (**Tab. 6**).

Tableau 6: Paramètres toxicologiques de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* à l'égard des larves L2 de *D. melanogaster*: Calcul des concentrations létaux.

JOURS	Droite de régression	R	CL50% (µg/ml)	CL90% (µg/ml)
2	Y=1,01-0,52X	0,12	2,1x10 ⁻⁸ µg/ml	7,41x10 ⁻¹¹ µg/ml
5	Y=3,29+0,41 X	0,78	1,48x10 ⁴ µg/ml	1,95x10 ⁷ µg/ml
10	Y=3,82+0,89X	0,42	20,89µg/ml	575,43 µg/ml
15	Y=5,12+0,50X	0,66	0,57µg/ml	208,93 µg/ml

(y: probits des taux de mortalités, X: le logarithme décimal des concentrations)

3.2. Effet de *R. chalpensis* sur le comportement alimentaire des larves L3 de *D. melanogaster*:

3.2.1. Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml) :

3.2.1.1. Attractivité des larves :

3.2.1.1.1. Le premier choix :

Chez les larves témoins :

Afin d'étudier les effets différés de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml) sur l'attractivité des larves L3 de *D. melanogaster* on a commencé par l'observation des comportements des larves L3 témoins (non traitées) vis-à-vis les différents paramètres, pour pouvoir les comparer par les résultats des larves après traitement par nos extraits (aqueux et éthanolique) de *R. chalpensis* (Tab. 7).

À la présence de deux odeurs différentes (témoin vs traitée), nous avons remarqué que 52,5% des larves témoins sont attirées par l'odeur du milieu traité par l'extrait aqueux de *R. chalpensis* et 42,5% de ces asticots sont attirés par l'odeur du milieu témoin, par contre 5% de ces derniers ne font pas leur choix (Tab. 7).

Une fois les larves témoins sont en exposition aux mêmes sources odorantes (témoin vs témoin ou traitée vs traitée), l'attraction est plus importante aussi pour le milieu traité, on enregistre 97,5%, Cependant, 92,5% des larves qui sont attirées en premier choix par l'odeur provenant du milieu témoin (Tab. 7).

Tableau 7: Le premier choix des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs des milieux testés (milieu témoin et milieu traité avec l'extrait aqueux de *R. chalpensis*)

N=40	Premier choix		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	92,5%	42,5%	/
Milieu Traité	/	52,5%	97,5%
Aucun choix	7,5%	5%	2,5%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

Chez les larves traitées :

Quant aux larves traitées avec l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml), nous avons observé que 47,5% des larves sont attirées par l'odeur du milieu témoin durant les premières minutes du test et 50% des larves sont attirées par l'odeur du milieu traité, par contre seulement 2,5% de ces derniers ne font pas leur choix (**Tab. 8**).

En ce qui concerne l'observation de l'attraction des larves traitées par les milieux témoins, 82,5% d'entre elles sont attirées et 17,5% ne font pas leur choix (**Tab. 8**).

Pour le choix entre deux milieux traités, 95% des larves font leurs choix et sont attirées par l'odeur du milieu de culture testé, par contre 5% des larves ne sont pas attirées. (**Tab. 8**).

Tableau 8: Le premier choix des larves traitées vis-à-vis les différentes odeurs des milieux testées (milieu témoin et milieu traité avec l'extrait aqueux de *R.chalpensis*)

N=40	Premier choix		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	82,5%	47,5%	/
Milieu Traité	/	50%	95%
Aucun choix	17,5%	2,5%	5%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.1.1.2. Attractivité des larves vis-à-vis les différentes odeurs testées en fonction du temps :

Nous avons observé la réponse des larves du 3^{ème} stade (témoins et traitées) afin de souligner des différences potentielles dans les préférences alimentaires (attraction ou répulsion) avec ou sans exposition au milieu testé, Ce test permet ainsi de déterminer les effets différés du produit sur la capacité olfactive de l'insecte.

Chez les larves témoins :

Le tableau (09) illustre l'évolution du pourcentage de larves témoins présentes au dessus ou au dessous du papier filtre en fonction du temps.

Il indique qu'au bout de 5 minutes, 20% choisissent le coté témoin alors que 25% des larves témoins ont choisis le côté du papier filtre imprégné de milieu traité par la décoction (**Tab. 9**). Après 30 à 60 minutes, le taux d'attractivité augmente graduellement jusqu'à 52,5 % pour le milieu témoin, et 42,5 pour le milieu traité (seulement 5% des larves sont non attirées) (**Tab. 9**).

En présence des deux milieux traités (traité vs traité), le taux d'attractivité augmente en fonction du temps est égale à 97,5% en 60 minutes pour le milieu traité par l'extrait aqueux de *R. chalpensis* et 92,5% pour le milieu témoin (**Tab. 9**).

Tableau 9: Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (N=40)

N=40	Choix à 5 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	57%	20%	/
Milieu Traité	/	25%	62,5%
Aucun choix	42,5%	55%	37,5%
N=40	Choix à 30 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	90%	50%	/
Milieu Traité	/	40%	85%
Aucun choix	10%	10%	15%
N=40	Choix à 60 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	92,5%	52,5%	/
Milieu Traité	/	42,5%	97,5%
Aucun choix	7,5%	5%	2,5%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

Chez les larves traitées :

Comme une première observation, nous avons remarqué que 22,5% des larves traitées avec l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sont attirées par l'odeur du milieu témoin durant les premières minutes du test et 27,5% des larves sont attirées par l'odeur du milieu traité, par contre 50% des asticots traités ne font pas leur choix (**Tab. 10**).

En ce qui concerne l'observation de l'attraction des larves traitées par les milieux témoins, 87,5% d'entre elles sont attirées et 12,5% ne font pas leur choix (**Tab. 10**).

Pour le choix entre deux milieux traités, 95% sont attirées par l'odeur du milieu de culture testé, par contre seulement 5% des larves ne sont pas attirées (**Tab. 10**).

Tableau 10: Attractivité des larves traitées vis-à-vis les différentes odeurs testées.

N=40	Choix à 5 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	45%	22,5%	/
Milieu Traité	/	27,5%	50%
Aucun choix	55%	50%	50%
N=40	Choix à 30 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	82,5%	35%	/
Milieu Traité	/	60%	95%
Aucun choix	17,5%	5%	5%
N=40	Choix à 60 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	87,5%	40%	/
Milieu Traité	/	60%	95%
Aucun choix	12,5%	0%	5%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.1.2. Temps de détection :

Chez les larves témoins:

En ce qui concerne le temps de détection en présence des deux odeurs différentes (témoin vs traitée) testés par les larves témoins, nous avons enregistré qu'ils mettent $557,82 \pm 95,83$ secondes pour localiser les papiers imbibés dans les milieux témoins avec un minimum de 35, et maximum de 1356 secondes (Tab. 11). Tandis que Ces larves détectent plus rapidement le milieu traité avec l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 $\mu\text{g/ml}$) et mettent seulement une moyenne de $395,14 \pm 71,99$ secondes avec un minimum de 34 secondes et un maximum de 1310 secondes. La comparaison des variances montrent qu'il n'existe pas des différences significatives entre les temps de détections des deux milieux : témoin et traité (Fobs= 1,435 ; p : 0,441) (Tab. 11).

Les résultats montrent qu'une fois les larves témoins sont en exposition aux mêmes sources odorantes (témoin vs témoin ou traitée vs traitée), l'attraction est toujours plus rapide pour le milieu traité avec $243,11 \pm 61,40$ secondes en moyenne et elle met uniquement 785 secondes pour localiser cette odeur. Cependant, elles mettent plus de temps pour détecter l'odeur provenant du milieu témoin (Tab. 11).

Tableau 11: Temps de détection (secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs du milieu testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait aqueu de *R. chalpensis* (50 µg/ml)].

Milieu	Choix	N	Moy ± SEM	Min	Max	Var	F _{obs}	P
Témoin X Traité	Milieu témoin	17	557,82 ± 95,83	35	1356	156118,9	1,435	0,441
	Milieu traité	21	395,14 ± 71,99	34	1310	108822,32		
Traité X Traité	A	19	243,11 ± 61,40	14	785	71624,54	2,75	0,041
	B	17	473,88±107,68	29	1366	197100,86		
Témoin X Témoin	A	21	449,81±105,84	8	1668	235247,46	1,19	0,705
	B	15	461,33±136,61	28	1544	279936,52		

[Moy ± SEM : Moyenne ± écart-type ; Min : Minimum ; Max : Maximum ; Tm : Témoin ; Rc : Traité]

Chez les larves traitées:

On enregistre que les larves traitées, les temps de détection enregistrés sont en moyenne 397,76 ± 55,87 et 395,14 ± 71,99 secondes pour localiser respectivement, les papiers imbibés dans le milieu témoin et les papiers du milieu nutritif traité avec l'extrait aqueux de *R. chalpensis* avec un minimum de 34 secondes pour le milieu traité et 62 secondes pour le milieu témoin (Tab. 12). L'analyse statistique montre qu'il n'existe pas de différences significatives entre les temps de détection des deux odeurs (F_{obs} = 2,051 ; p : 0,149) (Tab. 12).

En outre, elles mettent entre 28 et 1757 secondes pour localiser l'odeur témoin et 289,00 ± 43,20 secondes pour l'odeur du milieu traité et ce lorsqu'on utilise deux milieux similaires dans l'acène du test (Tab. 12).

Tableau 12: Temps de détection (secondes) des larves traitées en réponse aux différentes odeurs du milieu testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait aqueu de *R. chalpensis* (50 µg/ml)].

Milieu	Choix	N	Moy ± SEM	Min	Max	Var	F _{obs}	P
Témoin X Traité	Milieu témoin	17	397,76 ± 55,87	62	732	53058,32	2,051	0,149
	Milieu traité	21	395,14 ± 71,99	34	1310	108822,14		
Traité X Traité	A	24	289,00 ± 43,20	10	784	44798,87	4,400	0,001
	B	17	473,88±107,67	29	1366	197100,86		
Témoin X Témoin	A	13	458,00±163,41	41	1757	347153	1,240	0,693
	B	15	461,33±136,91	28	1544	279936,52		

[Moy ± SEM : Moyenne ± écart-type ; Min : Minimum ; Max : Maximum ; Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.1.3. Le temps passé dans chaque milieu :

Chez les larves témoins :

On enregistre que les larves témoins passent en moyenne $481,82 \pm 88,69$ secondes au niveau des papiers imbibés dans les milieux témoins avec un minimum de 32 et un maximum de 1380 secondes (**Tab. 13**). Les asticots qui ont choisis le milieu traité avec l'extrait aqueu (50µg/ml) mettent $867,83 \pm 106,21$ secondes sur les papiers avec un minimum de 29 et un maximum de 1644 secondes (**Tab. 13**).

Tableau 13 : Temps passé (secondes) des larves témoins dans les différents milieux testés [milieu témoin; milieu traité à l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml)].

Milieu	Choix	N	Moy ± SEM	Min	Max	Var	F _{obs}	P
Témoin X Traité	Milieu témoin	22	481,82 ± 88,69	32	1380	173087,11	1,564	0,307
	Milieu traité	24	867,83 ± 106,21	29	1664	270749,19		
Traité X Traité	A	23	1038,13±121,89	39	1771	341701,03	1,564	0,310
	B	22	691,77 ± 99,64	120	1670	218422,85		
Témoin X Témoin	A	28	430,11 ± 73,88	38	1587	152815,21	1,252	0,629
	B	19	393,37 ± 80,16	8	1474	122077,58		

[Moy ± SEM : Moyenne ± écart-type ; Min : Minimum ; Max : Maximum ; Tm : Témoin ; Rc : Traité]

Chez les larves traitées :

Pour le temps passé dans le milieu qui contient des papiers témoin et d'autre imbibés dans l'extrait aqueux de *R. chalpensis* , les larves traitées passent $719,21 \pm 108,89$ secondes au niveau des papiers imbibés dans les milieux témoins avec un minimum de 38 et un maximum de 1680 secondes. Ces dernières mettent $771,44 \pm 127,26$ secondes en moyenne dans le milieu traité avec un minimum de 8 et un maximum de 1707 secondes en présence des deux odeurs différents (**Tab. 14**). La comparaison des variances montrent qu'il n'existe pas des différences significatives entre les temps enregistrés ($F_{obs}=1,309$; $p : 0,526$) (**Tab. 14**).

Tableau 14 : Temps passé (secondes) des larves traitées dans les différents milieux testés [milieu témoin; milieu traité à l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml)].

Milieu	Choix	N	Moy ± SEM	Min	Max	Var	F _{obs}	P
Témoin X Traité	Milieu témoin	24	719,21 ± 108,89	38	1680	284601,82	1,309	0,526
	Milieu traité	23	771,44 ± 127,26	8	1707	372470,44		
Traité X Traité	A	28	1030,75 ± 101,51	59	1724	288539,16	1,039	0,899
	B	16	852,06 ± 136,88	102	1665	299756,99		
Témoin X Témoin	A	16	778,25 ± 158,01	43	1756	399835,00	1,734	0,248
	B	21	21851,43±104,78	46	1711	230573,26		

[Moy ± SEM : Moyenne ± écart-type ; Min : Minimum ; Max : Maximum ; Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.1.5. Pupation des larves témoins :

En ce qui concerne l'observation de la pupation des larves au niveau des arènes après les tests du comportement alimentaire, nous avons marqué que 22,5% des larves font leurs choix pour la pupation dans le milieu témoin et 12,5% des larves dans le milieu traité, par contre 65% de ces dernières ne font pas leur choix en présence du milieu témoin et traité en même temps. (**Tab. 15**)

30% des larves témoins ont marqué la présence de leur pupa sur les papiers imbibés des milieux de culture témoins et 70% d'entre elles ne font pas leur choix quand les deux milieux sont témoins. Pour la pupation dans les boîtes contenant deux milieux traités, 45% des larves témoins font leurs choix pour la pupation dans le milieu de culture testé (**Tab. 15**).

Tableau 15: Pupation des larves témoins (choix entre l'odeur du milieu témoin et le milieu traité avec l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml))

N=40	Larves Témoins		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	30%	22,5%	/
Milieu Traité	/	12,5%	45%
Aucun choix	70%	65%	55%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.1.6. Pupation des larves traitées :

L'observation de la pupation des larves traitées après les tests a montré que 30% des larves font leurs choix pour le milieu témoin, et 30% pour le milieu traité et par contre 40% de ces derniers ne font pas leur choix lorsque les deux milieux sont présents dans la boîte de test (**Tab.**

16). En ce qui concerne l'observation de la pupation des larves traitées au niveau des arènes contenant deux milieux témoins, 35% d'entre eux ont marqué la présence de leur pupe sur les milieux témoins et 65% ne font aucun choix. Pour les tests de deux milieux traités, 27,5% des larves traitées font leurs choix pour la pupation dans le milieu de culture testée 72,5% ne choisissent pas ce milieu (Tab. 16).

Tableau 16: Pupation des larves traitées (choix entre l'odeur du milieu témoin et le milieu traité avec l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml))

N=40	Larves Témoins		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	35%	30%	/
Milieu Traité	/	30%	27,5%
Aucun choix	65%	40%	72,5%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.1.7. Indice d'attraction :

Le calcul de l'indice d'attraction (IA) confirme les résultats obtenus dans le tableau précédant et montre des valeurs positives qui indique que l'odeur du milieu traité par l'extrait aqueux de *R.chalpensis* présentent un effet attractif envers les larves de *D. melanogaster* (soit témoins ou traitées) (Fig. 23).

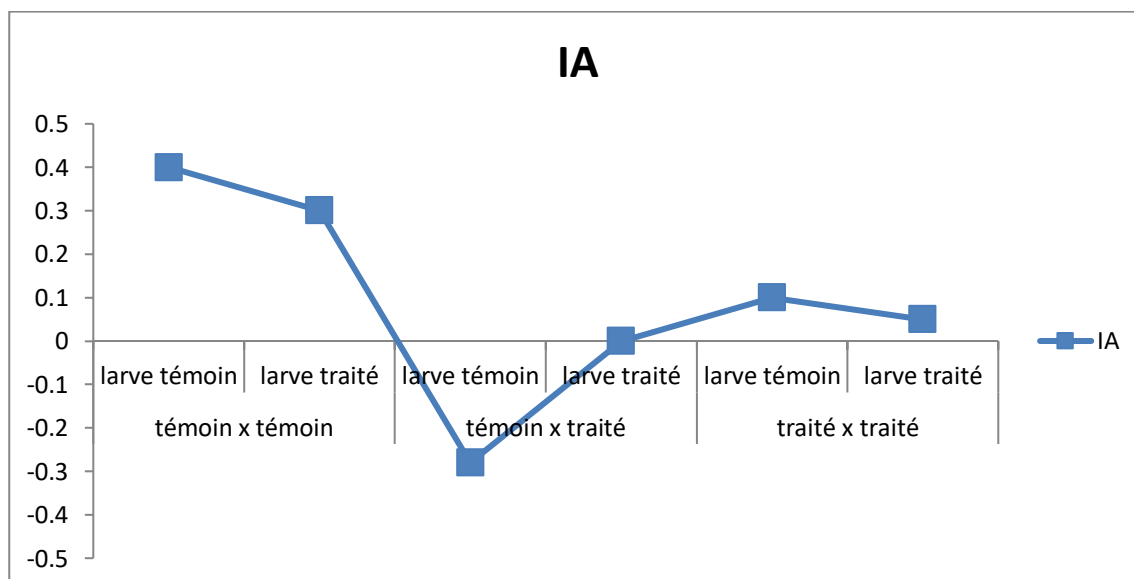


Figure 23. Représentation graphique de l'indice d'attraction (IA) des larves de *D. melanogaster* (témoins et traitées) envers les différents milieux testés par l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml).

3.2.2. Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml) :

3.2.2.1 Attractivité des larves :

3.2.2.1.1. Le premier choix :

Chez les larves témoins :

À la présence de deux odeurs différentes (témoin vs traitée), nous avons remarqué que 42,5% des larves témoins sont attirées par l'odeur du milieu traité par l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* et 57,5% de ces asticots sont attirées par l'odeur du milieu témoin, on remarque que 100% des larves font leur choix (**Tab. 17**).

Une fois les larves témoins sont en exposition aux mêmes sources odorantes (témoin vs témoin ou traitée vs traitée), l'attraction est aussi importante pour les deux tests, on enregistre 100% des larves sont attirées dans le cas du milieu témoin et 97,5% dans le cas où l'odeur vient du milieu traité (**Tab. 17**).

Tableau 17: Le premier choix des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs des milieux testées (milieu témoin et milieu traité avec l'extrait éthanolique de *R. chalpensis*)

N=40	Premier détection		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	100%	57,5%	/
Milieu Traité	/	42,5%	97,5%
Aucun choix	0%	0%	2,5%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

Chez les larves traitées :

Les résultats montrent que 47,5% les larves traitées avec l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml), sont attirées par l'odeur de leur milieu initial (traité) durant les premières minutes du test et 52,5% des larves sont attirées par l'odeur du milieu témoin, toute les larves font leur choix (**Tab. 18**).

En ce qui concerne l'observation de l'attraction des larves traitées par les milieux témoins, 85% d'entre elles sont attirées et 15% ne font pas leur choix (**Tab. 18**).

Pour le choix entre deux milieux traités, 92,5% des larves font leurs choix et sont attirées par l'odeur du milieu de culture testé, par contre 7,5% des larves ne sont pas attirées (**Tab. 18**).

Tableau 18: Le premier choix des larves traitées vis-à-vis les différentes odeurs des milieux testés (milieu témoin et milieu traité avec l'extrait éthanolique de *R.chalpensis*)

N=40	Premier choix		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	85 %	52,5%	/
Milieu Traité	/	47,5%	92,5%
Aucun choix	15%	0%	7,5%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.2.1.2. Attractivité des larves vis-à-vis les différentes odeurs testées en fonction du temps :

Chez les larves témoins :

Le tableau (19) illustre l'évolution du pourcentage de larves témoins présentes au dessus ou au dessous du papier filtre en fonction du temps.

Il indique qu'au bout de 5 minutes, 30% choisissent le coté témoin et 30% aussi des larves témoins ont choisis le côté du papier filtre imprégné de milieu traité (**Tab. 19**). Après 30 à 60 minutes, le taux d'attractivité augmente graduellement jusqu'à 52,5 % pour le milieu témoin, et 47,5 pour le milieu traité (**Tab. 19**).

En présence des deux milieux traités (traité vs traité), le taux d'attractivité augmente en fonction du temps est égale à 100% en 60 minutes pour le milieu traité par l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* et 100% aussi pour le milieu témoin, aucune larve n'à rester sans choisir une destination (**Tab. 19**).

Tableau 19: Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (N=40)

N=40	Choix à 5 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	72,5%	30%	/
Milieu Traité	/	30%	67,5%
Aucun choix	27,5%	40%	32,5%
N=40	Choix à 30 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	100%	55%	/
Milieu Traité	/	45%	97,5%
Aucun choix	0%	0%	2,5%
N=40	Choix à 60 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	100%	52,5%	/
Milieu Traité	/	47,7%	100%
Aucun choix	0%	0%	0%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

Chez les larves traitées :

Comme une première observation, nous avons remarqué que 40% des larves traitées avec l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* sont attirées par l'odeur du milieu témoin durant les premières minutes du test et 37,5% des larves sont attirées par l'odeur du milieu traité, par contre 22,5% de ces derniers ne font pas leur choix (**Tab. 20**).

En ce qui concerne l'observation de l'attraction des larves traitées par les milieux témoins, 90% d'entre elles sont attirées et 10% ne font pas leur choix (**Tab. 20**).

Pour le choix entre deux milieux traités, 95% des larves font leurs choix et sont attirées par l'odeur du milieu de culture testé, par contre seulement 5% des larves ne sont pas attirées. (**Tab. 20**).

Tableau 20 : Attractivité des larves traitées vis-à-vis les différentes odeurs testées.

N=40	Choix à 5 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	42,5%	40%	/
Milieu Traité	/	37,5%	72,5%
Aucun choix	57,5%	22,5%	27,5%
N=40	Choix à 30 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	85%	52,5%	/
Milieu Traité	/	47,5%	92,5%
Aucun choix	15%	0%	7,5%
N=40	Choix à 60 MIN		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	90%	52,5%	/
Milieu Traité	/	47,5%	95%
Aucun choix	10%	0%	5%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.2.2. Temps de détection :

Chez les larves témoins:

En présence de deux odeurs différentes (témoin vs traitée par l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml)) nous avons enregistré que les larves témoins mettent seulement 220,00 ± 46,96 secondes pour localiser les papiers imbibés dans les milieux témoins avec un minimum de 33, et maximum de 845 secondes (tab). Tandis que Ces larves détectent plus lentement le milieu traité et mettent seulement une moyenne de 396,59 ± 87,56 secondes avec un minimum de 68 secondes et un maximum de 1120 secondes (**Tab. 21**). La comparaison des variances montrent qu'il existe des différences significatives entre les temps de détections des deux milieux : témoin et traité (Fobs= 2,570 ; p : 0,041) (**Tab. 21**).

Une fois les larves témoins sont en exposition aux mêmes sources odorantes (témoin vs témoin ou traitée vs traitée), l'attraction est toujours plus rapide pour le milieu traité par une moyenne de 297,50 ± 50,17 secondes en moyenne et un minimum de 706 secondes. Cependant, elles mettent plus de temps pour détecter l'odeur provenant du milieu traité (**Tab. 21**).

Tableau 21: Temps de détection (secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs du milieu testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml)].

Milieu	Choix	N	Moy ± SEM	Min	Max	Var	F _{obs}	P
Témoin X Traité	Milieu témoin	23	220,00 ± 46,95	33	845	50706,55	2,570	0,041
	Milieu traité	17	396,59 ± 87,56	68	1120	130339,62		
Traité X Traité	A	18	297,50 ± 50,17	44	706	45302,15	2,768	0,037
	B	22	393,59 ± 75,49	43	1249	125383,21		
Témoin X Témoin	A	23	438,43 ± 85,94	18	1714	169871,26	1,143	0,797
	B	17	412,88 ± 93,52	18	1198	148667,49		

[Moy ± SEM : Moyenne ± écart-type ; Min : Minimum ; Max : Maximum ; Tm : Témoin ; Rc : Traité]

Chez les larves traitées:

En ce qui concerne les larves traitées, les temps de détection enregistrés sont en moyenne $403,09 \pm 67,44$ et $396,59 \pm 87,59$ secondes pour localiser respectivement, les papiers imbibés dans le milieu témoin et les papiers du milieu nutritif traité avec l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (Tab. 22). L'analyse statistique montre qu'il n'existe pas de différences significatives entre les temps de détection des deux odeurs ($F_{obs} = 1,365$; $p : 0,505$) (Tab. 22).

En outre, elles mettent entre 19 et 1154 secondes pour localiser l'odeur traité et $277,08 \pm 66,41$ secondes pour l'odeur du milieu témoin et ce lorsqu'on utilise deux milieux similaires dans le test (Tab. 22).

Tableau 22: Temps de détection (secondes) des larves traitées en réponse aux différentes odeurs du milieu testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml)].

Milieu	Choix	N	Moy ± SEM	Min	Max	Var	F _{obs}	P
Témoin X Traité	Milieu témoin	21	403,09 ± 67,44	25	995	95500,89	1,365	0,505
	Milieu traité	17	396,59 ± 87,59	68	1120	130339,63		
Traité X Traité	A	16	332,25 ± 71,14	29	1154	80984,74	1,741	0,280
	B	20	513,65 ± 83,96	19	1122	140986,77		
Témoin X Témoin	A	19	335,89 ± 84,62	45	1688	136061,77	2,373	0,131
	B	20	277,08 ± 66,41	33	819	57340,74		

[Moy ± SEM : Moyenne ± écart-type ; Min : Minimum ; Max : Maximum ; Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.2.3. Le temps passé dans chaque milieu :

Chez les larves témoins :

On enregistre que les larves témoins passent $659,14 \pm 96,09$ secondes au niveau des papiers imbibés dans les milieux témoins dont le minimum est de 57 secondes et un maximum de 1725 secondes (**Tab. 23**). Alors que ces asticots mettent $401,67 \pm 84,37$ secondes en moyenne dans le milieu traité par l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* avec un minimum de 13 et un maximum de 1445 secondes (**Tab. 23**). L'étude statistique n'indique pas les différences entre les temps passé sur chaque papier ($F_{obs}=2,090$; $p : 0,115$) (**Tab. 23**).

Tableau 23: Temps passé (secondes) des larves témoins dans les différents milieux testés [milieu témoin; milieu traité à l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml)].

Milieu	Choix	N	Moy ± SEM	Min	Max	Var	F _{obs}	P
Témoin X Traité	Milieu témoin	29	659,14 ± 96,09	57	1725	267801,12	2,090	0,115
	Milieu traité	18	401,67 ± 84,37	13	1445	128125,88		
Traité X Traité	A	29	595,83 ± 80,51	56	1548	187978,86	1,400	0,440
	B	21	509,52 ± 79,97	19	1122	134294,96		
Témoin X Témoin	A	33	478,33 ± 64,85	86	1455	138759,60	2,450	0,035
	B	22	343,14 ± 50,75	19	892	56670,12		

[Moy ± SEM : Moyenne ± écart-type ; Min : Minimum ; Max : Maximum ; Tm : Témoin ; Rc : Traité]

Chez les larves traitées :

Pour le temps passé dans le milieu qui contient des papiers témoin et d'autre imbibés dans l'extrait éthanolique de *R. chalpensis*, les larves traitées passent $513,35 \pm 74,74$ secondes au niveau des papiers imbibés dans les milieux témoins avec un minimum de 19 et un maximum de 1507 secondes et ils mettent $559,73 \pm 97,49$ secondes en moyenne dans le milieu traité avec un minimum de 99 secondes et un maximum de 1507 secondes (**Tab. 24**). L'analyse des données n'indique pas les différences entre les temps passé sur chaque papier ($F_{obs}=1,337$; $p : 0,473$) (**Tab. 24**).

Tableau 24: Temps passé (secondes) des larves témoins dans les différents milieux testées [milieu témoin; milieu traité à l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml)].

Milieu	Choix	N	Moy ± SEM	Min	Max	Var	F _{obs}	P
Témoin X Traité	Milieu témoin	28	513,35 ± 74,74	19	1775	136417,42	1,337	0,473
	Milieu traité	23	559,73 ± 97,49	99	1507	209085,26		
Traité X Traité	A	25	606,92 ± 98,29	59	1754	241511,99	1,480	0,344
	B	25	653,92 ± 80,80	126	1678	163222,66		
Témoin X Témoin	A	26	557,73 ± 89,76	57	1548	209485,41	1,460	0,401
	B	20	690,10 ± 84,71	209	1687	143510,31		

[Moy ± SEM : Moyenne ± écart-type ; Min : Minimum ; Max : Maximum ; Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.1.5. Pupation des larves témoins :

Chez les larves témoins :

Concernant l'observation de la pupation des larves témoins en présence du milieu témoin et traité en même temps, nous avons noté que 45% des larves choisissent le milieu témoin et 22,5% ont fait leurs pupation dans le milieu traité et 32,5% de ces derniers ne font pas leur choix en présence du milieu témoin et traité en même temps. (Tab.25).

Les résultats montrent que 72,5% des larves témoins ont marqué la présence de leur pupé sur les papiers imbibés des milieux de culture témoins et 27,5% d'entre elles ne font pas leur choix quand les deux milieux sont témoins. Pour la pupation dans les boites contenant deux milieux traités avec l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml), 87,5% des larves témoins ont choisis la pupation dans le milieu de culture testé comme on note l'absence de 12,5% de pupé après ces tests (Tab. 25).

Tableau 25: Pupation des larves témoins (choix entre l'odeur du milieu témoin et le milieu traité avec l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml))

N=40	Larves Témoins		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	72,5%	45%	/
Milieu Traité	/	22,5%	87,5%
Aucun choix	27,5%	32,5%	12,5%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

Chez les larves traitées

L'observation de la pupation des larves traitées après les tests du comportement alimentaire a montré que 30% des larves font leurs choix pour le milieu témoin et seulement 25% pour le milieu traité et par contre la majorité (45%) de ces derniers ne font pas leur choix entre les deux milieux témoin et traité (**Tab. 26**).

Pour l'observation de choix de la pupation des larves traitées entre les deux milieux témoins, 37,5% des asticots choisis les milieux témoins et 62,5% ne font aucun choix (**Tab. 26**). En ce qui concerne l'observation de la pupation des larves traitées au niveau des arènes contenant deux milieux traités 40% ne font aucun choix c'est-à-dire on trouve la pupé sur le milieu gélosé alors que 60% fait leurs pupé sur le milieu traité (**Tab. 26**).

Tableau 26: Pupation des larves traitées (choix entre l'odeur du milieu témoin et le milieu traité avec l'extrait éthanolique de *R.chalpensis* (0,50 µg/ml))

N=40	Larves Témoins		
	Tm x Tm	Tm x Rc	Rc x Rc
Milieu Témoin	37,5%	30%	/
Milieu Traité	/	25%	60%
Aucun choix	62,5%	45%	40%

[Tm : Témoin ; Rc : Traité]

3.2.2.7. Indice d'attraction :

Le calcul de l'indice de réponse (IA) confirme les résultats obtenus dans les tableaux précédents et montre des valeurs négatives pour les larves témoins les larves traitées ce qui explique une aversion importante des larves envers l'odeur du milieu traité par l'extrait éthanolique du *Ruta chalpensis* (**Fig. 24**).

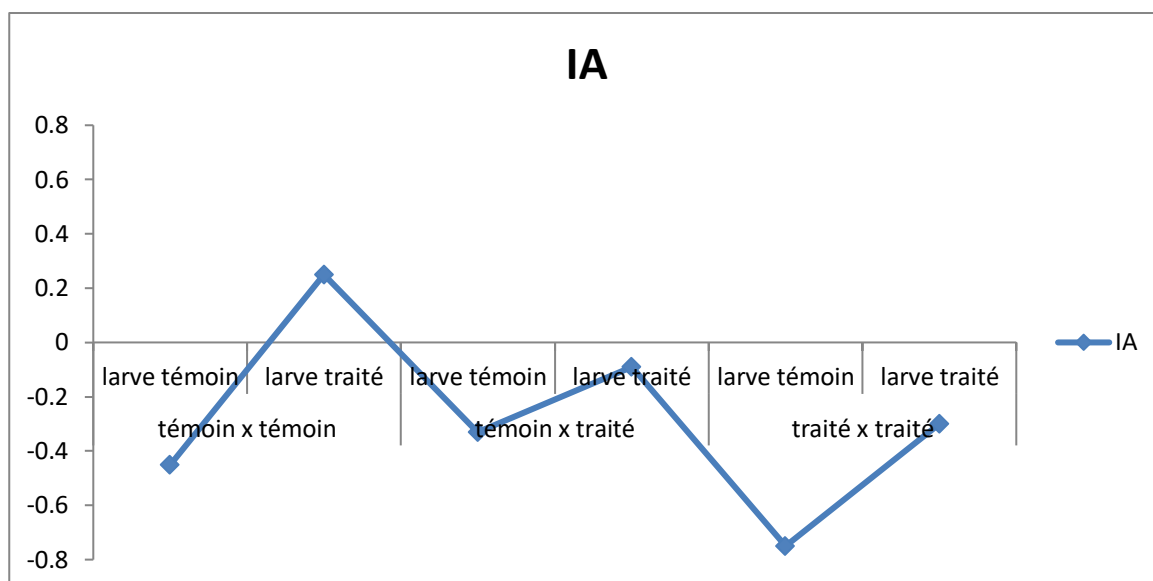


Figure 24. Représentation graphique de l'indice d'attraction (IA) des larves de *D. melanogaster* (témoins et traitées) envers les différents milieux testés par l'extrait éthanolique de *Ruta chalapensis* (0,50 µg/ml).

3.3. Effet de *R. chalapensis* sur le comportement sexuel des adultes de *D. melanogaster* :

3.3.1. Effet de l'extrait aqueux de *R. chalapensis* (50 µg/ml) :

3.3.1.1. Effet sur le taux des réussites d'accouplement :

Les résultats montrent que l'extrait aqueux de *R. chalapensis*, administré à une concentration sub létale de 50µg/ml, supprime l'accouplement chez certain nombre de couples. Le taux de réussite d'accouplement est de 90 % chez les témoins alors qu'il atteint 35% lorsque les couples sont traités par l'extrait aqueux (**Tab. 27**). Le taux des accouplements avortés (couples qui tentent de s'accoupler sans succès) arrive jusqu'au 55% chez les couples traités, et des accouplements nuls (ni tentative, ni accouplement) avec un pourcentage qui varie entre 10 et 15% chez les couples dont au moins un des deux est traité (**Tab. 27**).

Tableau 27: Effets de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml) sur le pourcentage de réussite des accouplements de *D. melanogaster*

	% accouplement		
	Réussi	Avorté	Nul
♂Tm X ♀Tm	90	10	0
♂Rc X ♀Rc	35	55	10
♂ Tm X ♀ Rc	40	45	15
♂ Rc X ♀ Tm	55	30	15

[Tm : Témoin ; Rc : *R.chalpensis*]

3.3.1.2. Effet sur les séquences comportementales:

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le temps de la première orientation :

Les résultats obtenus montrent que chez les couples témoins le temps moyen de la première orientation est de $192,95 \pm 66,06$ secondes avec un minimum de 15 secondes et un maximum de 1321 secondes. Alors que chez les couples traités nous avons enregistré un temps moyen de $197,60 \pm 75,40$ secondes avec un minimum de 6 secondes et un maximum de 1500 secondes (Tab. 28).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqué un temps moyen de $247,10 \pm 85,59$ secondes avec un minimum de 31 secondes et un maximum de 1631 secondes. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le temps moyen de la première orientation est de $194,90 \pm 62,41$ secondes dont le minimum 21 secondes et le maximum est de 1237 secondes (Tab. 28). La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les temps enregistrés (F_{obs} : 0,245 ; p : 0,86) (Tab. 28).

Tableau 28: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le temps (Secondes) de la première orientation.

	Moy ± SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	192,95 ± 66,06	15	1321	0,245	0,864
♂Rc X ♀Rc	197,60 ± 75,40	6	1500		
♂ Tm X ♀ Rc	247,10 ± 85,59	31	1631		
♂ Rc X ♀ Tm	194,90 ± 62,41	21	1237		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le nombre d'orientation :

Les résultats affichés dans le tableau (29) montrent que chez les couples témoins le nombre d'orientation varie entre 7 et 47 orientations dont le nombre moyen est de $20,75 \pm 2,29$ orientations. Alors que chez les couples traités par l'extrait aqueux de *R. chalpensis* on note un nombre moyen de $18,40 \pm 3,03$ orientations avec un minimum de 3 orientations et un maximum de 60 (Tab. 29).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons observé un nombre moyen d'orientation de $15,21 \pm 2,00$ orientations avec un minimum de 5 et un maximum de 36 orientations. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le nombre orientations est de $19,05 \pm 2,96$ 18 orientations dont le minimum 6 et le maximum est de 53. La comparaison des variances montre, aussi que la plante n'agit pas sur le nombre d'orientations puisqu'il n'existe pas de différence significative entre les nombres enregistrés (F_{obs} : 0.863 ; p : 0,464) (Tab. 29).

Tableau 29: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le nombre (Secondes) d'orientation.

	Moy \pm SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	20,75 \pm 2,29	7	47	0,863	0,464
♂Rc X ♀Rc	18,40 \pm 3,03	3	60		
♂ Tm X ♀ Rc	15,21 \pm 2,00	5	36		
♂ Rc X ♀ Tm	19,05 \pm 2,96	6	53		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le temps de la première vibration:

En ce qui concerne le temps de la première vibration on à enregistrer que chez les couples témoins le temps moyen de la première vibration est de $434,40 \pm 83,77$ secondes avec un minimum de 45 secondes et un maximum de 1541 secondes. Alors que chez les couples traités nous avons enregistré un temps moyen de $589,33 \pm 97,12$ secondes avec un minimum de 40 secondes et un maximum de 1277 secondes (Tab. 30).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons remarqués que le temps moyen de la première vibration est de $313,47 \pm 46,60$ secondes avec un

minimum de 90 secondes et un maximum de 766 secondes. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le temps moyen de première vibration est de $357,77 \pm 54,66$ secondes dont le minimum 80 secondes et le maximum est de 811 secondes (**Tab. 30**).

L'extrait de *R. chalapensis* agit significativement sur cette séquence chez la mouche de vinaigre et La comparaison des variances montre qu'il existe des différences hautement significative entre les temps de la première vibration enregistrés chez les quatre type de couples (F_{obs} : 4,84 ; p : 0,004**) (**Tab. 30**).

Tableau 30: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalapensis* sur le temps (Secondes) de première vibration

	Moy \pm SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	434,40 \pm 83,77	45	1541	4,84	0,004**
♂Rc X ♀Rc	589,33 \pm 97,12	40	1277		
♂ Tm X ♀ Rc	313,47 \pm 46,60	90	766		
♂ Rc X ♀ Tm	357,77 \pm 54,66	80	811		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalapensis* sur le nombre de vibration :

Selon le tableau (31), les résultats montrent que chez les couples témoins le nombre moyen de vibration est de $18,60 \pm 2,03$ vibrations avec un minimum de 7 vibrations et un maximum de 37 vibrations. Alors que chez les couples traités nous avons enregistré un nombre moyen de $15,74 \pm 3,32$ vibrations avec un minimum de 3 vibrations et un maximum de 56 vibrations (**Tab. 31**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqués un nombre moyen de $12,156 \pm 1,84$ vibrations avec un minimum de 3 vibrations et un maximum de 36 vibrations. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le nombre moyen de vibration est de $13,35 \pm 2,19$ vibrations dont le minimum 3 vibrations et le maximum est de 36 vibrations. Il ressorts de ces résultats qu'il n'existe pas de différence significative entre les nombres de vibration observés (F_{obs} : 1,695 ; p : 0,176) (**Tab. 31**).

Tableau 31: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le nombre (Secondes) de vibrations

	Moy ± SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	18,60 ± 2,03	7	37	1,695	0,176
♂Rc X ♀Rc	15,74 ± 3,32	3	56		
♂ Tm X ♀ Rc	12,16 ± 1,84	3	36		
♂ Rc X ♀ Tm	13,35 ± 2,19	3	36		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le temps du premier attouchement:

Les résultats consignés dans le tableau (32) concernent le temps moyen du premier attouchement qui est de 267,05 ± 68,68 secondes chez les couples témoins avec un minimum de 38 secondes et un maximum de 1360 secondes. Alors que chez les couples traités nous avons enregistré un temps moyen de 208,68 ± 37,21 secondes avec un minimum de 40 secondes et un maximum de 585 secondes (Tab. 32).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqués un temps moyen de 291,16 ± 86,64 secondes avec un minimum de 48 secondes et un maximum de 1689 secondes pour que le mâle touche la femelle. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le temps moyen de premier attouchement est de 239,45 ± 63,66 secondes dont le minimum 40 secondes et le maximum est de 1272 secondes (Tab. 32). La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas des différences significative entre les temps du premier attouchement enregistrés chez les différents couples testés (F_{obs}: 0,739 ; p: 0,532) (Tab. 32).

Tableau 32: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le temps (Secondes) du premier attouchement

	Moy ± SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	267,05 ± 68,68	38	1360	0,739	0,532
♂Rc X ♀Rc	208,68 ± 37,21	40	585		
♂ Tm X ♀ Rc	291,16 ± 86,64	48	1689		
♂ Rc X ♀ Tm	239,45 ± 63,66	40	1272		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le nombre d'attouchement :

On à enregistré chez les couples témoins un nombre d'attouchement qui se varie entre 5 et 42 attouchements dont le moyen est de $10,57 \pm 6,93$ attouchements. Alors que chez les couples traités on note un nombre moyen de $11,40 \pm 7,25$ attouchements avec un minimum de 2 attouchements et un maximum de 44 attouchements (**Tab. 33**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons observé un nombre moyen d'attouchement de $16,15 \pm 9,52$ attouchements avec un minimum de 2 attouchements et un maximum de 28 attouchements. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le nombre d'attouchement est de $12,84 \pm 10,19$ attouchements dont le minimum 4 attouchements et le maximum est de 38 attouchements. La comparaison des variances montre, aussi, que la plante n'agit pas sur le nombre d'attouchement puisqu'il n'existe pas de différence significative entre les nombres enregistrés (F_{obs} : 0,561 ; p : 0,642) (**Tab. 33**).

Tableau 33: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le nombre (Secondes) d'attouchement.

	Moy \pm SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	$10,57 \pm 6,93$	5	42	0,561	0,642
♂Rc X ♀Rc	$11,40 \pm 7,25$	2	44		
♂ Tm X ♀ Rc	$16,15 \pm 9,52$	2	28		
♂ Rc X ♀ Tm	$12,84 \pm 10,19$	4	38		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le temps de premier léchage:

Selon le tableau (34) les résultats montrent que chez les couples témoins le temps moyen du premier léchage est de $274,35 \pm 66,93$ secondes avec un minimum de 35 secondes et un maximum de 1330 secondes. Alors que chez les couples traités nous avons enregistrés un temps moyen du premier léchage de $495,58 \pm 95,81$ secondes avec un minimum de 22 secondes et un maximum de 1277 secondes (**Tab. 34**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqués un temps moyen de $283,21 \pm 85,61$ secondes avec un minimum de 40 secondes et un maximum de 1670 secondes. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le temps

moyen du premier léchage est de $236,80 \pm 62,80$ secondes dont le minimum 40 secondes et le maximum est de 1270 secondes (**Tab. 34**).

L'extrait de *R. chalepensis* agit significativement sur cette séquence chez la mouche de vinaigre et la comparaison des variances montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les temps des premiers léchages enregistrés ($F_{obs}: 2,30$; $p: 0,084$) (**Tab. 34**).

Tableau 34: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalepensis* sur le temps (Secondes) du premier léchage

	Moy \pm SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	274,35 \pm 66,93	35	1330	2,30	0,084
♂Rc X ♀Rc	495,58 \pm 95,81	22	1277		
♂ Tm X ♀ Rc	283,21 \pm 85,61	40	1670		
♂ Rc X ♀ Tm	236,80 \pm 62,80	40	1270		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalepensis* sur le nombre de léchage :

Chez les couples témoins, nous avons trouvé que le nombre moyen de léchage est de $7,85 \pm 1,5$ léchage avec un minimum de 2 léchages et un maximum de 24 léchages. Alors que chez les couples traités nous avons enregistrés un nombre moyen de $6,523 \pm 1,26$ léchages avec un minimum d'un seul léchage et un maximum de 25 léchages (**Tab. 35**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqués un nombre moyen de $4,12 \pm 0,68$ léchages avec un minimum d'un seul léchage et un maximum de 9 léchages. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le nombre moyen de léchage est de $5,47 \pm 1,10$ léchages dont le minimum 2 léchages et le maximum est de 16 léchages (**Tab. 35**).

La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les nombres de léchages observés chez les différents couples testés ($F_{obs}: 2,67$; $p: 0,055$) (**Tab. 35**).

Tableau 35: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le nombre (Secondes) de léchage

	Moy ± SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	7,85 ± 1,50	2	24	2,67	0,055
♂Rc X ♀Rc	6,53 ± 1,26	1	25		
♂ Tm X ♀ Rc	4,12 ± 0,68	1	9		
♂ Rc X ♀ Tm	5,47 ± 1,10	2	16		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le temps de la première tentative:

Les résultats consignés dans le tableau (36) concernent le temps moyen de première tentative qui est de 440,35 ± 83,16 secondes chez les couples témoins avec un minimum de 51 secondes et un maximum de 1541 secondes. Alors que chez les couples traités nous avons enregistrés un temps moyen de 590,44 ± 96,89 secondes avec un minimum de 40 secondes et un maximum de 1277 secondes (**Tab. 36**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqués un temps moyen de 328,59 ± 44,06 secondes avec un minimum de 92 secondes et un maximum de 766 secondes. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le temps moyen de première tentative est de 375,41 ± 56,51 secondes dont le minimum 80 secondes et le maximum est de 811 secondes (**Tab. 36**). La comparaison des variances montre qu'il existe des différences hautement significative entre les temps de la première tentative d'accouplement enregistrés chez les différents croisements (F_{obs}: 4,96 ; p: 0,004**) (**Tab. 36**).

Tableau 36: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le temps (Secondes) de première tentative d'accouplement

	Moy ± SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	440,35 ± 83,16	51	1541	4,96	0,004**
♂Rc X ♀Rc	590,44 ± 96,89	40	1277		
♂ Tm X ♀ Rc	328,59 ± 44,06	92	766		
♂ Rc X ♀ Tm	375,41 ± 56,51	80	811		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le nombre de tentatives d'accouplement:

Les résultats obtenus montrent que chez les couples témoins le nombre moyen de tentatives d'accouplement est de $7,75 \pm 1,54$ tentative avec un minimum d'une tentative et un maximum de 24 tentatives. Alors que chez les couples traités nous avons enregistré un nombre moyen de $5,61 \pm 1,37$ tentatives avec un minimum d'une tentative et un maximum de 26 tentatives (Tab. 37).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqués un nombre moyen de $4,00 \pm 0,64$ tentatives avec un minimum d'une seule tentative et un maximum de 9 tentatives. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le nombre moyen de tentative est de $5,18 \pm 0,89$ tentatives dont le minimum 2 tentatives et le maximum est de 15 tentatives. Le test statistique réalisé montre qu'il existe des différences significative entre les tentatives observés (F_{obs} : 3,33 ; p : 0,25*) (Tab.37).

Tableau 37: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le nombre (Secondes) de tentatives d'accouplement.

	Moy \pm SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	7,75 \pm 1,54	1	24	3,33	0.025*
♂Rc X ♀Rc	5,61 \pm 1,37	1	26		
♂ Tm X ♀ Rc	4,00 \pm 0,64	1	9		
♂ Rc X ♀ Tm	5,18 \pm 0,98	2	15		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le temps d'accouplement:

Les résultats marqués dans le tableau (38) montrent que chez les couples témoins le temps moyen d'accouplement observé est de $666,24 \pm 109,24$ secondes avec un minimum de 61 secondes et un maximum de 1682 secondes. Alors que chez les couples traités nous avons enregistré un temps moyen de $808,14 \pm 191,43$ secondes avec un minimum de 300 secondes et un maximum de 1698 secondes (Tab. 38).

L'accouplement réussis pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées est marqués en temps moyen de $468,25 \pm 60,86$ secondes avec un minimum de 320 secondes et un maximum de 849 secondes. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le temps moyen d'accouplement est de $646 \pm 97,32$ secondes dont le minimum 267

secondes et le maximum est de 1698 secondes (**Tab. 38**). La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les temps enregistrés chez les quatre croisements testés (F_{obs} : 2,61 ; p : 0,065) (**Tab.38**).

Tableau 38: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur le temps (Secondes) d'accouplement

	Moy \pm SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	666,24 \pm 109,24	61	1682	2,61	0,065
♂Rc X ♀Rc	808,14 \pm 191,43	300	1698		
♂ Tm X ♀ Rc	468,25 \pm 60,86	320	849		
♂ Rc X ♀ Tm	646,09 \pm 97,32	267	1698		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur la durée accouplement:

Les résultats obtenus ont permis aussi d'enregistrer que la durée moyenne d'accouplement chez les couples témoins est de 1999,88 \pm 153,95 avec un minimum de 1004 secondes et un maximum de 3508 secondes. Lorsque les deux partenaires sont traités la moyenne de la durée d'accouplement est 1527,43 \pm 265,78 secondes, le temps minimum est diminué, il est de 450 secondes (**Tab.39**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqué durée moyenne de 1766,00 \pm 216,22 secondes avec un minimum de 563 secondes et un maximum de 2634 secondes. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, durée moyenne d'accouplement est de 1633,27 \pm 164,75 secondes dont le minimum 916 secondes et le maximum est de 2477 secondes (**Tab.39**). La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les durées d'accouplements enregistrés (F_{obs} : 0,143 ; p : 0,933) (**Tab.39**).

Tableau 39: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* sur la durée (Secondes) d'accouplement.

	Moy ± SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	1999,88 ± 153,95	1004	3508	0,143	0,933
♂Rc X ♀Rc	1527,43 ± 265,78	450	2333		
♂ Tm X ♀ Rc	1766,00 ± 216,22	563	2634		
♂ Rc X ♀ Tm	1633,27 ± 164 ,75	916	2477		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

3.3.2. Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml) :

3.3.2.1. Effet sur le taux des réussites d'accouplement :

Les résultats montrent que l'extrait éthanolique de *R. chalpensis*, administré à une concentration sublétales de 0,50µg/ml, influence sur l'accouplement chez certain nombre de couples. Le taux de réussite d'accouplement est de 85% chez les témoins et diminue à 65% lorsque les mâles sont traités par l'extrait aqueux (Tab. 40). Le taux des accouplements avortés (couples qui tentent de s'accoupler sans succès) enregistré chez les couples traités est 25%, alors que les accouplements nuls (ni tentative, ni accouplement) avec un pourcentage qui varie entre 10% et 20% chez les couples lorsqu'au moins un des deux sexes est traité (Tab. 40).

Tableau 40: Effets de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml) sur le pourcentage de réussite des accouplements de *D. melanogaster*

	% accouplement		
	Réussi	Avorté	Nul
♂Tm X ♀Tm	85	15	0
♂Rc X ♀Rc	65	25	10
♂ Tm X ♀ Rc	50	30	20
♂ Rc X ♀ Tm	65	25	10

[Tm : Témoin ; Rc : *R.chalpensis*]

3.3.2.2. Effet sur les séquences comportementales:

Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalepensis* sur le temps de la première orientation:

Les résultats obtenus montrent que chez les couples témoins le temps moyen du premier contact est de $193,95 \pm 66,96$ secondes avec un minimum de 15 secondes et un maximum de 1341 secondes. Alors que chez les couples traités nous avons enregistré un temps moyen de $377,25 \pm 92,37$ secondes avec un minimum de 65 secondes et un maximum de 1609 secondes (**Tab.41**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqué un temps moyen de $453,37 \pm 116,23$ secondes avec un minimum de 38 secondes et un maximum de 1699 secondes (**Tab.41**). Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le temps moyen du premier contact est de $228,65 \pm 62,19$ secondes dont le minimum 45 secondes et le maximum est de 1254 secondes (**Tab.41**).

La comparaison des variances montre qu'il existe de différence significative entre les temps enregistrés pour les différents couples ($F_{obs}: 3,503$; $p: 0,019^*$) (**Tab. 41**).

Tableau 41 : Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* sur le temps (Secondes) de la première orientation.

	Moy \pm SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	$193,95 \pm 66,96$	15	1341	3,503	0,019*
♂Rc X ♀Rc	$377,25 \pm 92,37$	65	1609		
♂ Tm X ♀ Rc	$453,37 \pm 116,23$	38	1699		
♂ Rc X ♀ Tm	$228,65 \pm 62,19$	45	1254		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalepensis* sur le nombre d'orientation :

Les résultats affichés dans le tableau (42) montrent que chez les couples témoins le nombre d'orientation varie entre 2 et 22 dont le nombre moyen est de $9,45 \pm 1,30$ orientations. Alors que chez les couples traités on note un nombre moyen de $6,80 \pm 1,37$ orientations avec un minimum d'une seule orientation et un maximum de 27 (**Tab. 42**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons observé un nombre moyen d'orientation de $9,58 \pm 1,31$ orientations avec un minimum d'une seule orientation et un maximum de 19 orientations. Chez les couples des mâles traités et des femelles

témoins, le nombre d'orientations est de $7,55 \pm 1,77$ attouchement dont le minimum 01 et le maximum est de 28 (**Tab. 42**). La comparaison des variances montre, aussi que la plante n'agit pas sur le nombre d'orientations puisqu'il n'existe pas de différence significative entre les nombres enregistrés ($F_{\text{obs}}: 0,579$; $p: 0,630$) (**Tab. 42**).

Tableau 42: Effet de l'extrait éthanologique de *R. chalpensis* sur le nombre d'orientation.

	Moy \pm SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	9,45 \pm 1,30	2	22	0,579	0,630
♂Rc X ♀Rc	6,80 \pm 1,37	1	27		
♂ Tm X ♀ Rc	9,58 \pm 1,31	1	19		
♂ Rc X ♀ Tm	7,55 \pm 1,77	1	28		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanologique de *R. chalpensis* sur le temps de la première vibration:

Les résultats du tableau (45) montrent que chez les couples témoins le temps moyen de la première vibration est de $273,55 \pm 67,01$ secondes avec un minimum de 35 secondes et un maximum de 1330 secondes. Alors que chez les couples traités nous avons enregistré un temps moyen de $433,60 \pm 99,55$ secondes avec un maximum de 1662 secondes (**Tab. 45**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons remarqués que le temps moyen de la première tentative est de $479,53 \pm 118,48$ secondes avec un minimum de 41 secondes et un maximum de 1722 secondes. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le temps moyen de première vibration est de $281,75 \pm 76,44$ secondes dont le minimum 61 secondes et le maximum est de 1601 secondes (**Tab. 45**). La comparaison des variances montre qu'il existe de différence significative entre les temps de première vibration enregistrés chez les quatre type de couples ($F_{\text{obs}}: 3,086$; $p: 0,032^*$) (**Tab. 45**).

Tableau 45: Effet de l'extrait éthanologique de *R. chalpensis* sur le temps (Secondes) de la première vibration.

	Moy \pm SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	273,55 \pm 67,01	35	1330	3,086	0,032*
♂Rc X ♀Rc	433,60 \pm 99,55	86	1662		
♂ Tm X ♀ Rc	479,53 \pm 118,48	41	1722		
♂ Rc X ♀ Tm	281,75 \pm 76,44	61	1601		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalepensis* sur le nombre de vibration :

Chez les couples témoins, nous avons trouvé que le nombre de vibration est d'une moyenne de $17,30 \pm 2,39$ vibration, alors qu'il est de $7,95 \pm 1,25$ vibration chez les couples traités (Tab. 46). Pour couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées le nombre a diminuer et atteint 31 vibrations, lorsque les mâles sont traités et les femelles sont témoins le nombre de vibration à une moyenne de $11,75 \pm 2,66$ vibrations et un minimum de 1 et un maximum de 42 vibrations (Tab. 46). Au seuil de signification $\alpha= 0,05$, la comparaison des variances montre qu'il existe des différences significatives entre le nombre de vibration enregistré chez les 4 types de croisements ($F_{obs}= 3,952$; $p: 0,011^*$) (Tab. 46).

Tableau 46: Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalepensis* sur le nombre de vibration.

	Moy \pm SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	$17,30 \pm 2,39$	4	41	3,952	0,011*
♂Rc X ♀Rc	$7,95 \pm 1,25$	1	19		
♂ Tm X ♀ Rc	$13,32 \pm 2,18$	2	31		
♂ Rc X ♀ Tm	$11,75 \pm 2,66$	1	42		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalepensis* sur le temps du premier attouchement:

Les résultats obtenus montrent que chez les couples témoins, le temps du premier contact est d'une moyenne de $266,25 \pm 68,78$ secondes, avec un minimum de 38 secondes et un maximum de 1360 secondes. Alors que chez les couples traités, le temps moyen du premier contact est de $575,05 \pm 113,96$ secondes dont le minimum est 99 et le maximum est de 1662 secondes (Tab. 43).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées, les mâles établies le premier contact avec ses pattes antérieures dans 88 à 1611 secondes, avec une moyenne de $469,94 \pm 107,91$ secondes. Tandis que chez les couples des mâles traités et des femelles témoins le temps moyen du premier contact est de $383,40 \pm 95$ secondes avec un minimum de 61 secondes et un maximum de 1666 secondes. La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas des différences significatives entre les temps enregistrés ($F_{obs}=2,681$; $p : 0,053$) (Tab. 43).

Tableau 43: Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* sur le temps (Secondes) du premier attouchement.

	Moy ± SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	266,25 ± 68,78	38	1360	2,681	0,053
♂Rc X ♀Rc	575,05 ± 113,96	99	1662		
♂ Tm X ♀ Rc	469,94 ± 107,91	88	1611		
♂ Rc X ♀ Tm	383,40 ± 95,14	61	1666		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* sur le nombre d'attouchement :

Chez les couples témoins, le nombre moyen des attouchements est de $4,85 \pm 0,57$ contact, avec un minimum d'un attouchement et un maximum de 9 attouchements (**Tab. 44**). Pour les couples traités le nombre moyen des attouchements est diminué il est de $3,30 \pm 0,53$ attouchements dont le minimum est 1 et le maximum est de 8 attouchements (**Tab. 44**).

Chez les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées, nous avons noté que le nombre moyen des attouchements est de $6,22 \pm 1,09$ attouchement, avec un minimum d'un attouchement et un maximum est de 16 attouchements (**Tab. 44**). Les couples des mâles traités et des femelles témoins font 1 à 18 attouchements avec une moyenne de $3,75 \pm 0,99$ attouchement. L'analyse statistique montre qu'il existe des différences significatives entre le nombre d'attouchements enregistré chez les 4 types de croisement ($F_{obs}=2,932$; $p : 0,039^*$) (**Tab. 44**).

Tableau 44: Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* sur le nombre d'attouchements.

	Moy ± SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	4,85 ± 0,57	1	9	2,932	0,039*
♂Rc X ♀Rc	3,30 ± 0,53	1	8		
♂ Tm X ♀ Rc	6,22 ± 1,09	1	16		
♂ Rc X ♀ Tm	3,75 ± 0,99	1	18		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* sur le temps du premier léchage :

Selon le tableau (47), les résultats montrent que chez les couples témoins le temps moyen du premier léchage est de $434,40 \pm 83,77$ secondes avec un minimum de 45 secondes et un

maximum de 1541 secondes. Alors que chez les couples traités nous avons enregistré un temps moyen de $642,74 \pm 122,58$ secondes avec un minimum de 99 secondes et un maximum de 1561 secondes (**Tab. 47**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqués un temps moyen de $641,83 \pm 117,27$ secondes avec un minimum de 88 secondes et un maximum de 1611 secondes, chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le temps moyen du premier léchage est de $533,11 \pm 99,67$ secondes dont le minimum 61 secondes et le maximum est de 1666 secondes (**Tab. 47**). La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les temps des premiers léchages enregistrés (F_{obs} : 1,482 ; p : 0,227) (**Tab. 47**).

Tableau 47: Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalapensis* sur le temps (Secondes) du premier léchage.

	Moy \pm SEM	Min	Max	F_{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	434,40 \pm 83,77	45	1541	1,482	0,227
♂Rc X ♀Rc	642,74 \pm 122,58	99	1561		
♂ Tm X ♀ Rc	641,83 \pm 117,27	88	1611		
♂ Rc X ♀ Tm	533,11 \pm 99,67	61	1666		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalapensis* sur le nombre de léchage :

Nos résultats montrent que chez les couples témoins le nombre moyen de léchage est de $4,90 \pm 1,17$ léchage avec un minimum d'un léchage et un maximum de 24 léchages. Alors que chez les couples traités nous avons enregistré un nombre moyen de $2,63 \pm 0,49$ léchages avec un maximum de 9 léchages (**Tab. 48**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqués un nombre moyen de $2,77 \pm 0,63$ léchages avec un minimum d'un seul léchage et un maximum de 9 léchages, chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le nombre moyen de léchage est de $2,74 \pm 0,65$ léchages dont le minimum d'un léchage et le maximum est de 12 léchages (**Tab. 48**).

La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les nombres de léchages observés chez les différents couples testés (F_{obs} : 1,411 ; p : 0,247) (**Tab. 48**).

Tableau 48: Effet de l'extrait éthanologique de *R. chalpensis* sur le nombre de léchage.

	Moy ± SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	4,90 ± 1,17	1	24	1,411	0,247
♂Rc X ♀Rc	2,63 ± 0,49	1	9		
♂ Tm X ♀ Rc	2,77 ± 0,63	1	9		
♂ Rc X ♀ Tm	2,74 ± 0,65	1	12		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanologique de *R. chalpensis* sur le temps de la première tentative d'accouplement :

Concernent le temps moyen de première tentative qui est de 442,60 ± 82,79 secondes chez les couples témoins avec un minimum de 51 secondes et un maximum de 1541 secondes. Alors que chez les couples traités nous avons enregistrés un temps moyen de 672,56 ± 120,18 secondes avec un minimum de 99 secondes et un maximum de 1554 secondes (**Tab. 49**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqués un temps moyen de 639,75 ± 115,99 secondes avec un minimum de 88 secondes et un maximum de 1609 secondes. Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, le temps moyen de première tentative est de 638,00 ± 130,22 secondes dont le minimum 61 secondes et le maximum est de 1666 secondes (**Tab. 49**).

La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas des différences significative entre les temps de la première tentative d'accouplement enregistrés chez les différents couples testés (Fobs: 1,641 ; p: 0,188) (**Tab. 49**).

Tableau 49: Effet de l'extrait éthanologique de *R. chalpensis* sur le temps (Secondes) de la première tentative d'accouplement.

	Moy ± SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	442,60 ± 82,79	51	1541	1,641	0,188
♂Rc X ♀Rc	672,56 ± 120,18	99	1554		
♂ Tm X ♀ Rc	639,75 ± 115,99	88	1609		
♂ Rc X ♀ Tm	638,00 ± 130,22	61	1666		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalepensis* sur le nombre de tentative d'accouplement :

Les résultats de cette étude montrent que le nombre des tentatives effectuées par les mâles des couples témoins est d'une moyenne de $3,80 \pm 0,99$ tentative dont le minimum est de 1 tentative et le maximum est de 21 tentatives, pour les couples traités le nombre de tentatives est d'une moyenne de $2,17 \pm 0,36$ tentatives avec un minimum 1 et un maximum de 6 tentatives (**Tab. 50**).

Chez les couples des mâles témoins et des femelles traitées, nous avons enregistré de 1 à 9 tentatives, avec une moyenne de $2,56 \pm 0,56$, alors que, chez les couples dont les mâles sont traités et les femelles sont témoins, le nombre de tentative est de 1 à 18 tentatives, avec une moyenne de $2,89 \pm 0,98$ tentatives. La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas des différences significatives entre le nombre de tentative ($F_{obs}=1,207$; $p: 0,314$) (**Tab. 50**).

Tableau 50: Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalepensis* sur le nombre de tentatives d'accouplement.

	Moy \pm SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	3,80 \pm 0,99	1	21	1,207	0,314
♂Rc X ♀Rc	2,17 \pm 0,36	1	6		
♂ Tm X ♀ Rc	2,56 \pm 0,56	1	9		
♂ Rc X ♀ Tm	2,89 \pm 0,98	1	18		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalepensis* sur le temps d'accouplement :

Lorsque les deux partenaires sont témoins le temps d'accouplement a une moyenne de $676,82 \pm 107,17$ secondes, quand à les couples sont traités le temps est diminuer avec une moyenne de $562,46 \pm 135,173$ secondes, (**Tab. 51**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles traités nous avons notés un temps moyen de $476,50 \pm 141,22$ avec un maximum de 1455 secondes, tandis que chez les couples dont les mâles sont traités et les femelles sont témoins nous avons enregistré un temps moyen de $480,00 \pm 145,87$ secondes (**Tab. 51**). L'étude statistique montre que *C. arabica* n'agit pas significativement sur le temps d'accouplement ($F_{obs}=0,234$; $p: 0,872$) (**Tab. 51**).

Tableau 51: Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* sur le temps d'accouplement.

	Moy ± SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	676,82 ± 107,17	61	1682	0,234	0,872
♂Rc X ♀Rc	562,46 ± 135,17	61	1682		
♂ Tm X ♀ Rc	476,50 ± 141,22	88	1455		
♂ Rc X ♀ Tm	480,00 ± 145,87	61	1720		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* sur la durée d'accouplement :

Les résultats obtenus ont permis aussi d'enregistrer que la durée moyenne d'accouplement chez les adultes témoins est de 1999,88 ± 153,95 secondes avec un minimum de 1004 secondes et un maximum de 3508 secondes (**Tab. 52**). Alors que chez les couples traités nous avons enregistrés une durée moyenne de 1082,39 ± 133,66 secondes avec un minimum de 326 secondes et un maximum de 2015 secondes (**Tab. 52**).

Pour les couples dont les mâles sont témoins et les femelles sont traitées nous avons marqué durée moyenne de 948,00 ± 225,091 secondes avec un minimum de 249 secondes et un maximum de 2241 secondes (**Tab. 52**). Chez les couples des mâles traités et des femelles témoins, durée moyenne d'accouplement est de 1113,54 ± 129,13 secondes dont le minimum 456 secondes et le maximum est de 1844 secondes (**Tab. 52**).

La comparaison des variances montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les temps enregistrés (F_{obs}: 0,745 ; p: 0,531) (**Tab. 52**).

Tableau 52: Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* sur la durée d'accouplement.

	Moy ± SEM	Min	Max	F _{obs}	P
♂Tm X ♀Tm	1999,88 ± 153,95	1004	3508	0,745	0.531
♂Rc X ♀Rc	1082,39 ± 133,66	326	2015		
♂ Tm X ♀ Rc	948,00 ± 225,09	249	2241		
♂ Rc X ♀ Tm	1113,54 ± 129,13	456	1844		

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

3.4. Effet de *R. chalpensis* sur le comportement d'oviposition des femelles fécondées de *D.melnogaster* :

3.4.1. Effet d'une concentration sublétale de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50µg/ml) :

Le test d'oviposition concerne le choix du milieu de ponte des 20 couples témoins testés on a prouvé une attirance des femelles vis à vis le milieu témoin par rapport à celui traité par l'extrait aqueux de *R. chalpensis* avec une moyenne des œufs de $68,10 \pm 6,63$ et de larves par une moyenne de $38,45 \pm 3,03$ et pour le milieu traité $46,75 \pm 75$ œufs et $26,80 \pm 2,25$ larves (**Tab 53**).

Les croisements où les couples sont traités, les femelles sont aussi attirées par les deux milieux (témoin et traité). Cependant l'analyse statistique montre que pour le milieu témoin, le nombre d'œufs pondus par les femelles est $52,80 \pm 5,29$ œufs, et $32,35$ larves et dans le milieu traité $34,05 \pm 3,86$ œufs $22,8 \pm 2,58$ (**Tab 53**).

Tandis que celui enregistré chez les couples, où au moins un des deux individus est traité on a remarqué une diminution dans le nombre des larves et des œufs pondus dans les deux milieux. En ce qui concerne les couples où la femelle est traitée on a compté $43,75 \pm 2,75$ œufs et $29,55 \pm 2,37$ larves dans le milieu témoin et $47,15 \pm 4,46$ œufs et $32,80 \pm 2,90$ larves dans le milieu traité (**Tab 53**).

Tableau 53 : Effet d'une concentration sublétale de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50µg/ml) sur l'oviposition des femelles fécondées de *D. melanogaster*

Couples	Nombre œufs/Témoin	Nombre œufs/traité	Nombre larves/Témoin	Nombre larves/traité
♂Tm X ♀Tm	$68,10 \pm 6,63$	$46,75 \pm 3,33$	$38,45 \pm 3,03$	$26,80 \pm 2,25$
♂Rc X ♀Rc	$52,80 \pm 5,29$	$34,05 \pm 3,86$	$32,35 \pm 3,31$	$22,80 \pm 2,58$
♂ Tm X ♀ Rc	$43,75 \pm 2,75$	$47,15 \pm 4,46$	$29,55 \pm 2,37$	$32,80 \pm 2,90$
♂ Rc X ♀ Tm	$45,79 \pm 6,37$	$38,32 \pm 3,92$	$23,00 \pm 3,24$	$21,21 \pm 2,78$

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

3.4.1.2. Calcul d'indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* d'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml):

Le tableau 54 présente l'indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* (n= 20) en présence d'extrait aqueux de *R.chalpensis*.

Pour les trois croisements (Les couples témoins et traités, et et les couple de mâle traitée et femelle témoin), les adultes femelles préfèrent le milieu témoin avec un indice de préférence (IPO) négative (-0,19), (-0,21) et (-0,09) ce qui montre qu'il existe un effet répulsif de l'extrait aqueux de *C. arabica* qui n'attire pas les femelles *D. melanogaster*

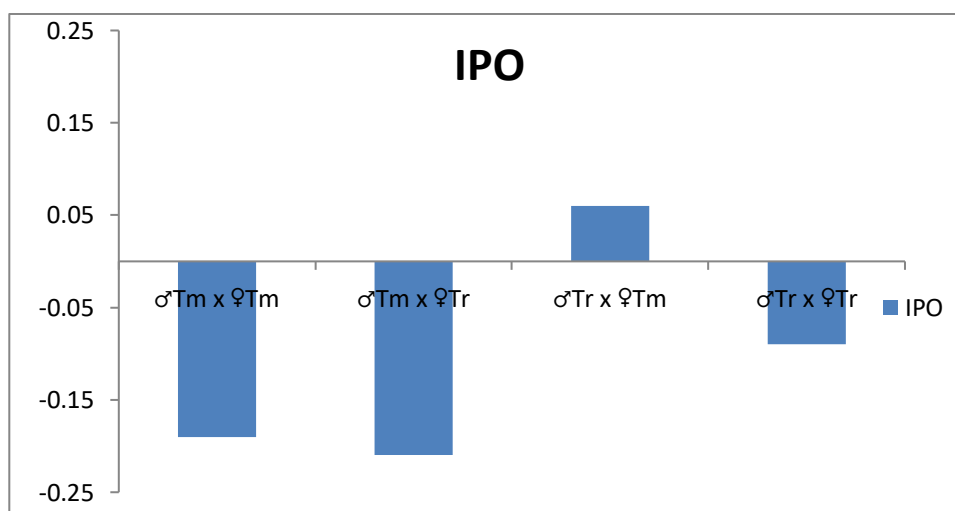
Sauf dans le cas des couples ou les femelles seules sont traitée on remarque un indice positive (+0,06) ce qui montre un effet attractif envers notre produit (Tab. 54) (Fig. 25).

Tableau 54: Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* d'extrait aqueux de *R. chalpensis* (35 µg/ml)

Couple	♂Tm x ♀Tm	♂Rc x ♀Rc	♂Tm x ♀Rc	♂Rc x ♀Tm
IPO	- 0,19	- 0,21	0,06	- 0,09

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂Rc: mâle traité ; ♀Rc: Femelle traitée]

Figure 25 : Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* d'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50µg/ml)



3.4.2. Effet d'une concentration sub létale de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50µg/ml) sur l'oviposition des femelles de *D. melanogaster* :

Pour cette partie on à garder les résultats du croisement des couples témoin réaliser dans la partie précédente et on a effectué trois autres croisement : couples traitées dont les femelles sont attirées par les deux milieux (témoin et traité), Cependant l'analyse statistique donne une moyenne de $37,80 \pm 4,93$ œufs pondus par les femelles est $28,15 \pm 2,33$ larves dans le milieu témoin, et

dans le milieu traité on a enregistré une moyenne de $28,35 \pm 2,71$ œufs et $22,10 \pm 2,68$ pour les larves (**Tab 55**).

Tandis que celui enregistré chez les couples, où au moins un des deux individus est traité on a remarqué une diminution dans le nombre des larves et des œufs pondus dans les deux milieux par rapport à celle marquer pour les couples témoins. En ce qui concerne les couples où la femelle est traitée on a compté $33,05 \pm 4,08$ œufs et $23,00 \pm 2,72$ larves dans le milieu témoin et $37,05 \pm 4,23$ œufs et larves $23,25 \pm 2,12$. Tandis que pour les couples où le mâle est traité on a enregistré $46,55 \pm 4,62$ œufs et $32,95 \pm 3,87$ larves dans le milieu témoin et $28,05 \pm 3,32$ œufs et larves $19,20 \pm 2,18$ (**Tab 55**).

Tableau 55 : Effet d'une concentration sub létale de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50µg/ml) sur l'oviposition des femelles de *D. melanogaster*

Couples	Nombre œufs/Témoin	Nombre œufs/traité	Nombre larves/Témoin	Nombre larves/traité
♂Tm X ♀Tm	$68,10 \pm 6,63$	$46,75 \pm 3,33$	$38,45 \pm 3,03$	$26,80 \pm 2,25$
♂Tr X ♀Rc	$37,80 \pm 4,93$	$28,35 \pm 2,71$	$28,15 \pm 2,33$	$22,10 \pm 2,68$
♂ Tm X ♀ Rc	$33,05 \pm 4,08$	$37,05 \pm 4,23$	$23,00 \pm 2,72$	$23,25 \pm 2,12$
♂ Rc X ♀ Tm	$46,55 \pm 4,62$	$28,05 \pm 3,32$	$32,95 \pm 3,87$	$19,20 \pm 2,18$

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂ Rc: mâle traité ; ♀ Rc: Femelle traitée]

3.4.2.2. Calcul d'indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* d'extrait éthanolique de *R.chalpensis* (0,5 µg/ml) :

Le tableau (56) présente l'indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melangaster* (n= 20) en présence d'extrait éthanolique de *R. chalpensis*.

Les couples témoins et les couples et traitées et ceux dont la femelle est traitée et le mâle est témoin préfèrent le milieu témoin avec un indice de préférence négative (-0,19) et (-0,14) et (-0,25) respectivement, les résultats montrent qu'il existe un effet répulsif de l'extrait éthanolique de *C. arabica* qui n'attire pas les femelles *D. melanogaster* (**Tab.56**).

Un IPO positive a été enregistré chez les couples composés de femelles témoins et mâles traités (+0,04) (**Tab.56**). Cependant les résultats montrent une attraction sur le milieu traité c'est-

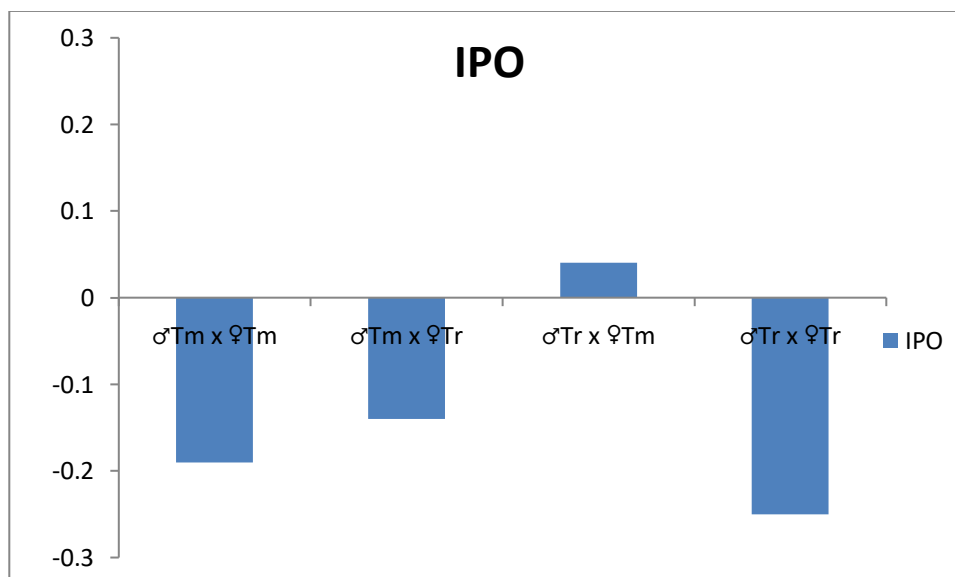
à-dire l'extrait éthanolique attire les femelles de *D. melanogaster* issues de ces derniers croisements (Tab.56) (Fig. 26).

Tableau 56: Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* d'extrait éthanolique de *R.chalpensis*

Couple	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Rc	♂Rc x ♀Tm	♂Rc x ♀Rc
IPO	-0,19	-0,14	0,04	-0,25

[♂Tm: mâle témoin ; ♀Tm: Femelle témoin ; ♂Rc: mâle traité ; ♀Rc: Femelle traitée]

Figure 26 : Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* d'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,5µg/ml)



3.5. Effet de *R. chalpensis* sur la fécondité et la fertilité des femelles de *D. melanogaster* :

3.5.1. Effet des l'extrait aqueu de *R. chalpensis* (50 µg/ml) :

Le nombre moyen d'œufs pondus pour les couples témoins sur le milieu témoin est de avec $68,10 \pm 6,62$ un minimum de 30 et un maximum de 127 œufs, dans le milieu traité ils ne pondent que $46,75 \pm 3,33$, un minimum de 24 et maximum 77 (Tab. 57). L'analyse statistique par le test « t » de Student montre qu'il existe des différences hautement significatives entre les deux choix ($p: 0,007^{**}$) (Tab. 57).

Le nombre moyen d'œufs pondus pour les couples composé de mâles et femelles traités est d'une moyenne $52,80 \pm 5,29$ œufs dont le maximum est de 92 œufs et un minimum nul, tandis que celui déposé sur le milieu traité est de $34,05 \pm 3,86$ œufs dont le maximum est de 62 œufs, l'analyse statistique par le test « *t* » de Student montre qu'il existe des différences hautement significatives entre les choix établis ($p: 0,007^{**}$) (**Tab. 57**).

Le nombre moyen d'œufs pondus pour les couples mâles témoins et femelles traitées sur le milieu traité est, seulement de $47,71 \pm 4,46$ œufs dont le minimum est de 16 maximum est de 101 œufs, tandis que celui déposé sur le milieu témoin est de $43,75 \pm 2,75$ œufs dont le minimum est de 23 œufs (**Tab. 57**). Cependant l'analyse statistique par le test « *t* » de Student ne montre qu'il n'existe pas des différences significative entre nombre des œufs pondus dans les deux milieux chez ces couples ($p: 0,521$) (**Tab. 57**).

Les résultats montrent que les femelles témoins accouplées avec des mâles traités avec l'extrait aqueux, peuvent pondre jusqu'à 114 œufs dans le milieu témoin avec une moyenne de $45,60 \pm 6,05$ œufs et jusqu'à 65 œufs dans les milieux traitées avec le même extrait dont la moyenne de $38,20 \pm 3,72$ œufs, cependant l'analyse statistique montre qu'il n'existe pas des différences significative entre les nombres de œufs ($p: 0,304$) (**Tab. 57**).

Tableau 57: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml) sur le nombre total des œufs pondus dans deux milieux par les femelles.

A : Nombre des œufs dans le milieu témoin				
	♂Tm x ♀Tm	♂Rc x ♀Rc♂	♂Tm x ♀Rc	♂Rc x ♀Tm
Moy ± SEM	68,10 ± 6,62	52,80 ± 5,29	43,75 ± 2,75	45,60 ± 6,05
Min	30	0	23	17
Max	127	92	68	114
A : Nombre des œufs dans le milieu traité				
Moy ± SEM	46,26 ± 3,33	34,05 ± 3,86	47,71 ± 4,46	38,20 ± 3,72
Min	24	0	16	14
Max	77	62	101	65
<i>t_{obs}</i>	2,878	2,861	-0,648	1,042
P	0,007**	0,007**	0,521	0,304

[**Moy ± SEM** : Moyenne ± écart-type ; **Min** : Minimum ; **Max** : Maximum ; **Tm** : Témoin ; **Rc** : Traité]

Six jours après les tests on observe jusqu'à 65 larves dans les milieux témoins et qui sont issues des accouplements des mâles et des femelles témoins dont la moyenne est de $38,45 \pm 3,03$ larves ; on note une diminution à $26,80 \pm 2,25$ dans le milieu traité (**Tab. 58**). La comparaison des

moyennes montre qu'il existe des différences hautement significatives entre les choix d'oviposition établis ($p : 0,004^{**}$) (Tab. 58).

Les larves issues de croisement des couples traités sont en moyenne de $32,35 \pm 3,31$ larves dans le milieu témoin et de $22,80 \pm 2,58$ larves dans le milieu traité. L'analyse statistique montre qu'il existe des différences significatives entre les choix établis ($p : 0,028^*$) (Tab. 58).

Les femelles traitées et accouplées avec des mâles témoins préfèrent le milieu traité avec une moyenne de $32,55 \pm 2,90$ et jusqu'à 56 larves, tandis que dans milieu témoin on a enregistré une moyenne de $29,55 \pm 2,375$. L'analyse statistique ne montre aucune différence significative entre les choix d'oviposition établis ($p : 0,391$) (Tab. 58).

Chez les couples de femelles témoins et mâles traités aux extraits aqueux de *R. chalpensis*, et dans le milieu témoin, on observe la présence de $23,25 \pm 3,08$ larves tandis que dans le milieu traité on observe de 4 à 46 larves avec une moyenne de $22,10 \pm 2,78$, l'analyse statistique montre aucune différences significatives entre le nombre de larves dans chaque milieu ($p : 0,784$) (Tab. 58).

Tableau 58: Effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* (50 µg/ml) sur le nombre total des larves pondus dans deux milieux par les femelles

A : Nombre des larves dans le milieu témoin				
	♂Tm x ♀Tm	♂Rc x ♀Rc♂	♂Tm x ♀Rc	♂Rc x ♀Tm
Moy ± SEM	38,48 ± 3,03	32,35 ± 3,31	29,55 ± 2,38	23,25 ± 3,08
Min	18	0	14	8
Max	65	54	49	54
B : Nombre des larves dans le milieu traité				
Moy ± SEM	26,80 ± 2,25	22,80 ± 2,58	32,80 ± 2,90	22,10 ± 2,78
Min	12	0	7	4
Max	50	44	56	46
<i>t</i> _{obs}	3,078	2,277	-0,867	0,277
P	0,004^{**}	0,028[*]	0,391	0,784

[Moy ± SEM : Moyenne ± écart-type ; Min : Minimum ; Max : Maximum ; Tm : Témoin ; Rc : Traité]

Le nombre moyen d'œufs pondus pour les couples des mâles témoins et femelles témoins est de $46,75 \pm 3,32$ œufs dont le maximum est de 77 œufs pondus sur le milieu mélangé avec extrait éthanolique de la plante ; pour le milieu témoin, le nombre des œufs pondus est de $68,10 \pm 6,63$ œufs dont le maximum 127 œufs (Tab. 59). Cependant l'analyse statistique par le test « t »

de Student montre qu'il existe des différences hautement significatives entre les choix établis ($p : 0,007^{**}$) (**Tab. 59**)

Le nombre moyen d'œufs pondus pour les couples des mâles traités et femelles traitées est de $28,35 \pm 2,71$ œufs dont le maximum est de 54 œufs pondus sur le milieu mélangé avec extrait éthanolique de la plante. Pour le milieu témoin, le nombre des œufs pondus est de $37,80 \pm 4,93$ œufs dont le maximum est de 84 œufs. Cependant l'analyse statistique par le test « t » de Student montre qu'il n'existe pas des différences significatives entre les choix établis ($p : 0,101$) (**Tab. 59**).

Le nombre moyen d'œufs pondus pour les couples des mâles témoins et femelles traitées est de $33,05 \pm 4,08$ œufs déposés sur le milieu témoin dont le maximum est de 66 œufs, tandis que celui déposé sur le milieu traité est plus élevé il est de $37,05 \pm 4,26$ œufs dont le maximum est de 84 œufs. Cependant l'analyse statistique par le test « t » de Student montre qu'il n'existe pas des différences significative entre le nombre des œufs pondus pour ce couple ($p : 0,500$) (**Tab. 58**).

Les résultats montrent que les femelles témoins accouplées avec des mâles traités, peuvent pondre jusqu'à 89 œufs dans le milieu témoin dont la moyenne est de $46,55 \pm 4,62$ œufs et elles déposent jusqu'à 55 œufs dans les milieux traitées avec le même extrait dont la moyenne de $28,05 \pm 3,32$ œufs. Cependant l'analyse statistique montre une différence hautement significative entre les nombres de œufs pondus dans les deux milieux ($p : 0,002^{**}$) (**Tab. 58**).

Tableau 58: Effet de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml) sur le nombre total des œufs pondus dans deux milieux par les femelles

A : Nombre des œufs dans le milieu témoin				
	♂Tm x ♀Tm	♂Rc x ♀Rc♂	♂Tm x ♀Rc	♂Rc x ♀Tm
Moy ± SEM	68,10 ± 6,63	37,80 ± 4,93	33,05 ± 4,08	46,55 ± 4,62
Min	30	8	11	17
Max	127	84	66	89
B : Nombre des œufs dans le milieu traité				
Moy ± SEM	46,75 ± 3,32	28,35 ± 2,71	37,05 ± 4,26	28,05 ± 3,32
Min	24	11	9	17
Max	77	54	84	55
<i>t_{obs}</i>	2,878	1,680	-0,681	3,250
P	0,007**	0,101	0,500	0,002**

[**Moy ± SEM** : Moyenne ± écart-type ; **Min** : Minimum ; **Max** : Maximum ; **Tm** : Témoin ; **Rc** : Traité]

Le nombre des larves est minime aussi pour le croisement des deux partenaires traités ; les larves issues de ce croisement sont en moyenne de $22,10 \pm 2,68$ larves dans le milieu traité et de $28,15 \pm 2,33$ larves dans le milieu témoins. L'analyse statistique montre qu'il existe des différences significatives entre les larves des deux milieux ($p: 0,097^*$) (**Tab. 59**).

Pour les femelles traitées et les mâles témoins, le nombre des larves dans le milieu témoin est d'une moyenne de $23,00 \pm 2,72$ et il est de $23,25 \pm 2,12$ dans le milieu traité avec extrait éthanologique de *R. chalpensis*. L'analyse statistique ne montre aucune différence significative entre le nombre des larves observé dans les deux milieux ($p : 0,943$) (**Tab. 59**).

Chez les couples des femelles témoins accouplées avec les mâles traités aux extraits éthanologique de *R. chalpensis*, on observe un nombre maximal de 74 larves sur le milieu témoin et 42 larves sur le milieu traité. L'analyse statistique montre des différences hautement significatives entre le nombre des larves dans les deux milieux ($p : 0,004^{**}$) (**Tab. 59**).

Tableau 59: Effet de l'extrait éthanologique de *R. chalpensis* (0,50 µg/ml) sur le nombre total des larves pondus dans deux milieux par les femelles

A : Nombre des larves dans le milieu témoin				
	♂Tm x ♀Tm	♂Rc x ♀Rc♂	♂Tm x ♀Rc	♂Rc x ♀Tm
Moy ± SEM	38,45 ± 3,03	28,15 ± 2,33	23,00 ± 2,72	32,95 ± 3,87
Min	18	7	7	9
Max	65	43	48	74
A : Nombre des larves dans le milieu traité				
Moy ± SEM	26,80 ± 2,24	22,10 ± 2,68	23,25 ± 2,12	19,20 ± 2,18
Min	12	6	11	7
Max	50	43	39	42
<i>F</i>_{obs}	3,087	1,700	-0,072	3,095
<i>P</i>	0,004	0,097*	0,943	0,004**

[**Moy ± SEM** : Moyenne ± écart-type ; **Min** : Minimum ; **Max** : Maximum ; **Tm** : Témoin ; **Rc** : Traité]

3.6. Effet de *R. chalpensis* (extrait aqueux et éthanolique) sur l'histologie des adultes mâles et femelles de *D. melanogaster*:

Pour commencer, familiarisons nous avec la drosophile comme un organisme, elle possède trois segments corporels – la tête, le thorax, et l'abdomen ainsi qu'une seule paire d'ailes et trois paires de pattes (Ghislain, 2015) (Fig. 27)

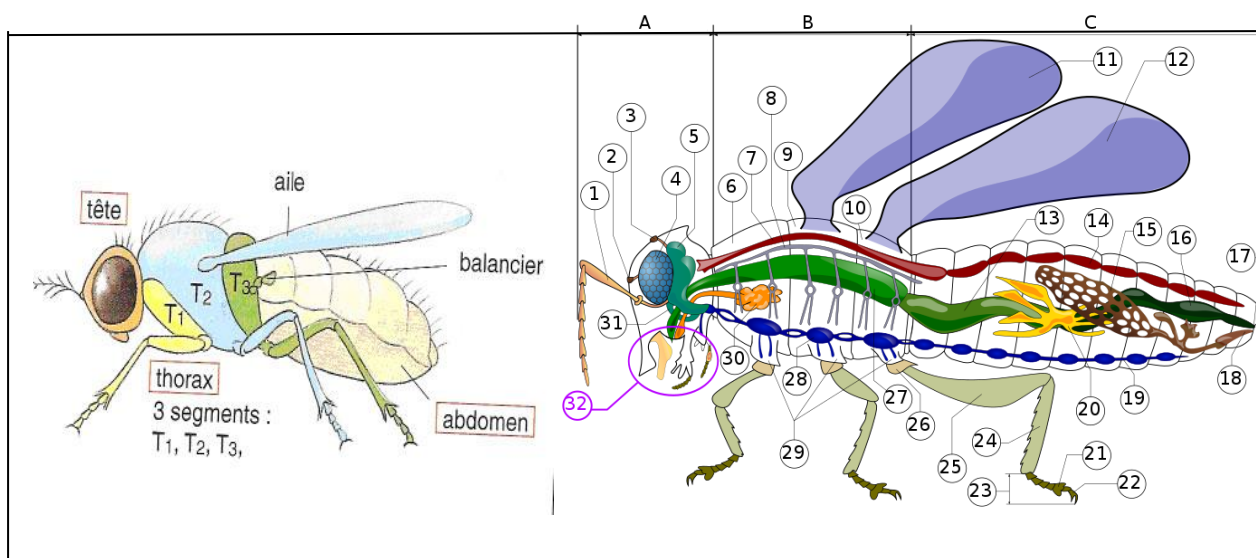


Figure 27: Présentation schématique de l'anatomie générale de *Drosophila melanogaster*

A. Tête

- | | |
|---------------------------------|--------------------------------|
| 1. antennes | 5. cerveau (ganglion cérébral) |
| 2. ocelles inférieures | 31. ganglion sous-œsophagien |
| 3. ocelle supérieure (centrale) | 32. pièces buccales |
| 4. œil composé | |

B. Thorax

- | | |
|--|----------------------------------|
| 6. prothorax | 27. boyaux avant (jabot, gésier) |
| 7. vaisseau dorsal | 28. ganglion thoracique |
| 8. tubes trachéaux (trompe en spirale) | 29. coxa |
| 9. mésothorax | 30. glande salivaire |
| 10. métathorax | |

Ailes

- | | |
|----------------------------|---------------------------|
| 11. première paire d'ailes | 12. seconde paire d'ailes |
|----------------------------|---------------------------|

Pattes

21. coussinet	24. tibia
22. griffes	25. fémur
23. tarse	26. trochanter

C. Abdomen

13. boyaux médians (estomac)	17. anus
14. cœur	18. vagin (ou pénis chez le mâle)
15. ovaire (ou testicule chez le mâle)	19. chaîne ganglionnaire ventrale
16. boyaux arrières (intestin, rectum et anus)	20. tubes de Malpighi

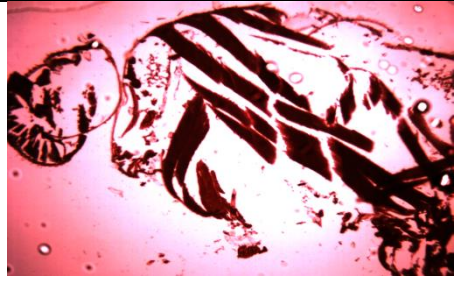
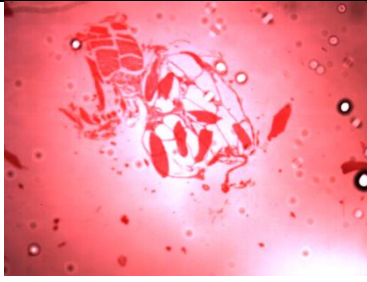
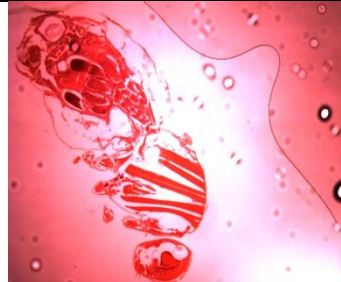

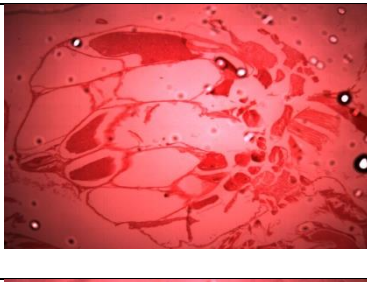





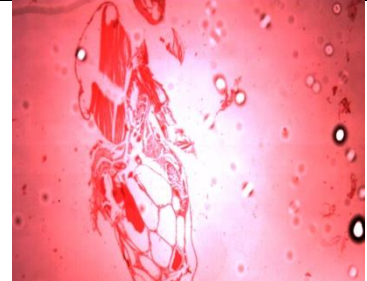

Pour mieux comprendre les effets des deux extraits aqueux et éthanolique de *R. chalpensis* sur notre modèle *D. melanogaster* on a réalisé des coupes histologiques de différentes parties de cette mouche :

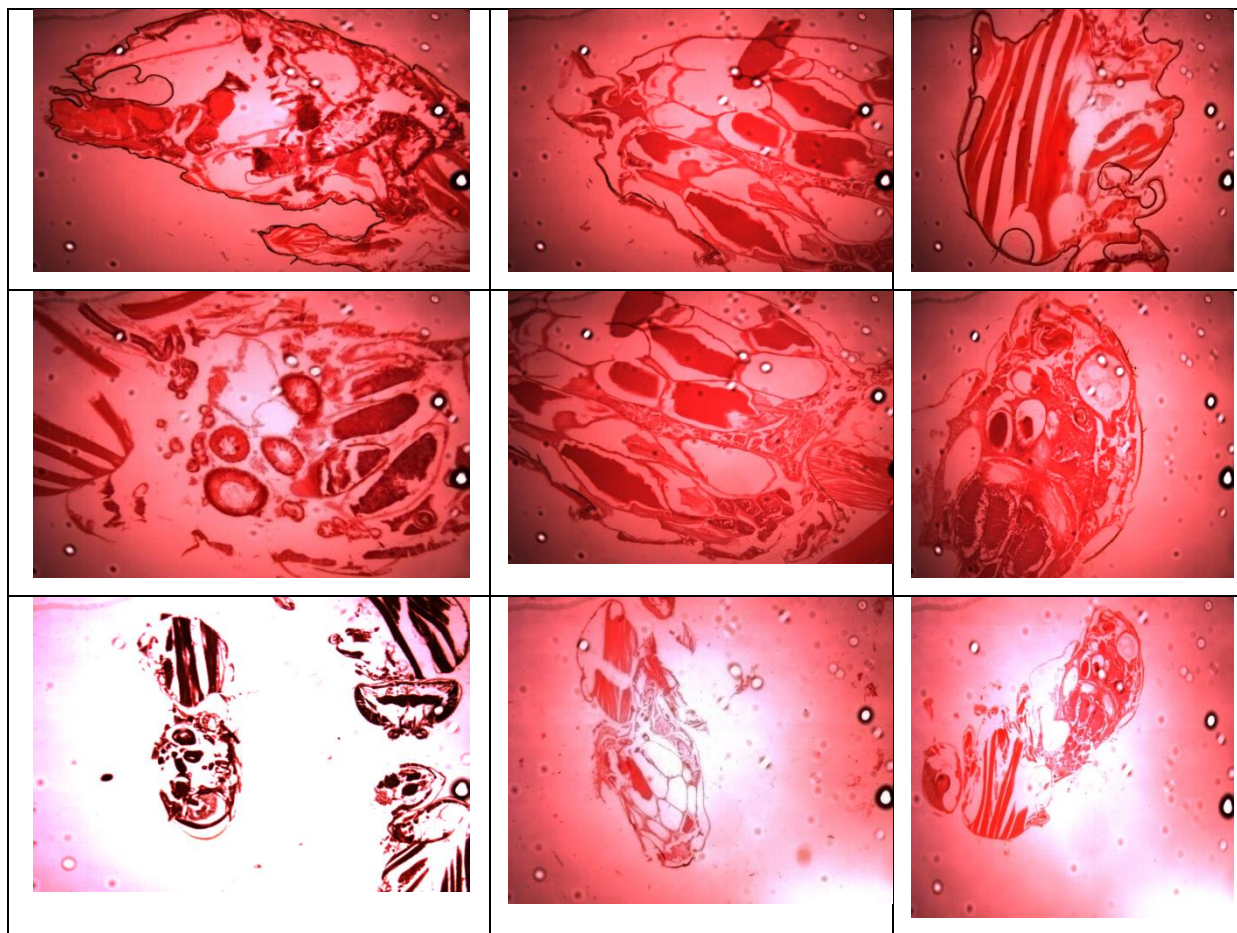
- **Coupe longitudinale complète**
- **Coupe de la tête et thorax,**
- **Coupe dorso-ventrale complète passant par les ailes.**
- **Coupe du thorax et abdomen longitudinale montrant les muscles thoraciques.**
- **Coupe longitudinale de l'abdomen et les pattes.**

Les tableaux (60) et (61) illustrent une comparaison entre les coupes histologiques des adultes témoins avec des adultes traités par l'extrait aqueux (50 µg/ml) et l'extrait éthanolique (0,50 µg/ml) de *R. chalpensis*.

Comparaison entre femelles témoins et traitées :

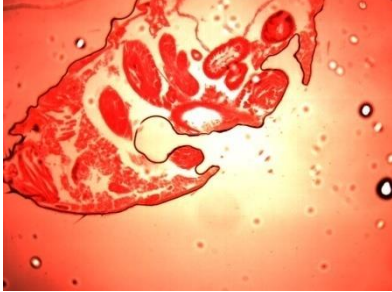
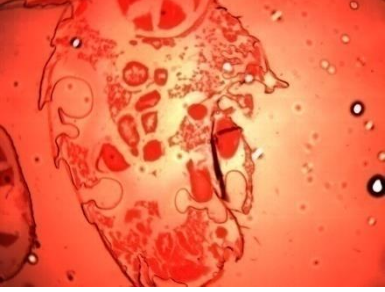
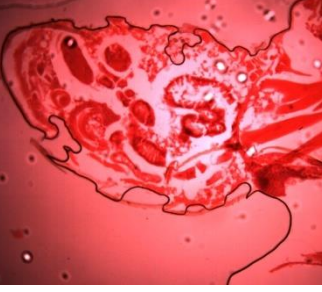
Tableau 60 : Effets sur les femelles ; comparaison entre les coupes histologiques des femelles témoins et traitées par l'extrait aqueux et éthanolique de *R. chalpensis*.

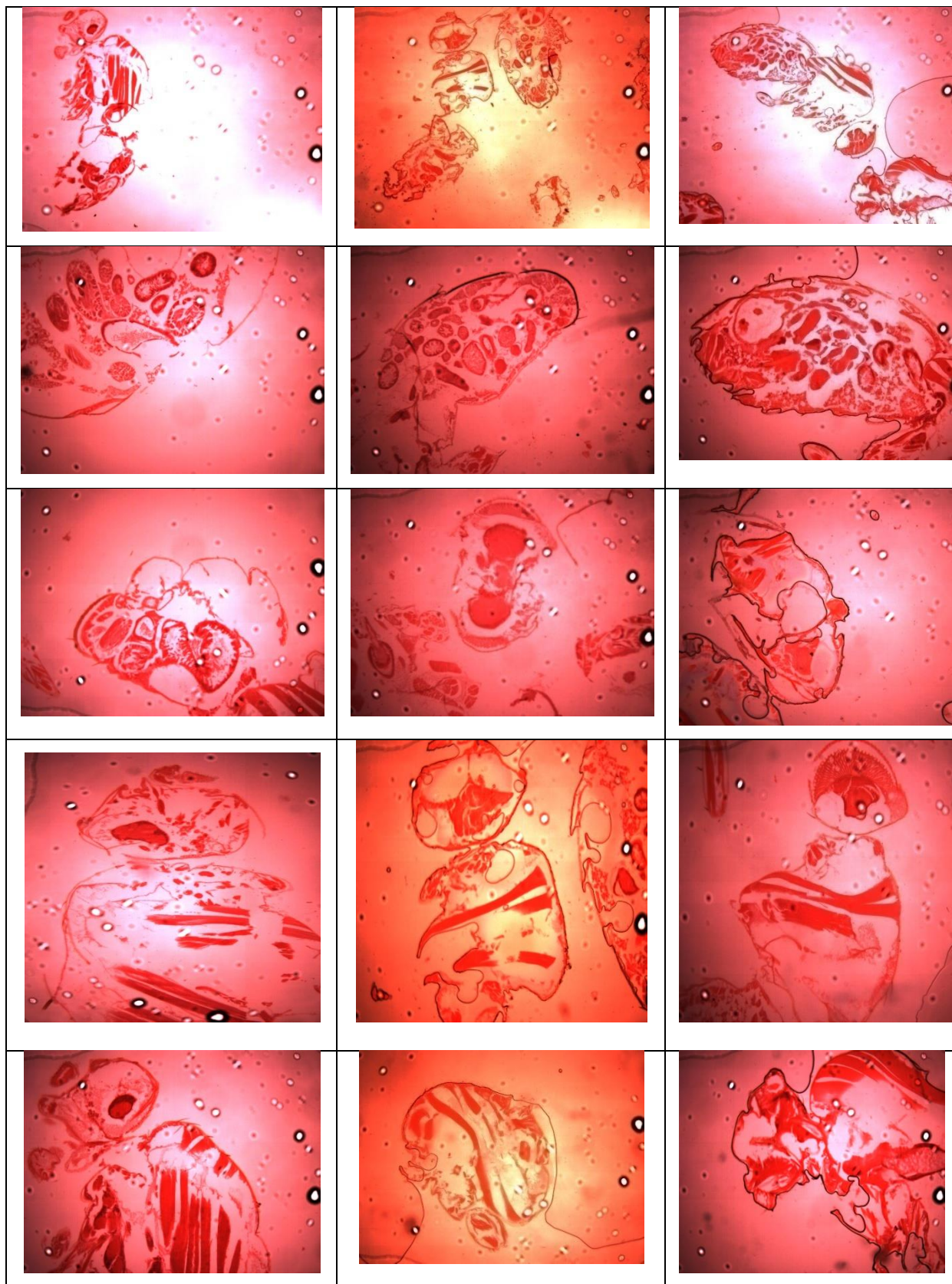
Femelles témoins	Femelles traités par l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i>	Femelles traités par l'extrait éthanolique de <i>R. chalpensis</i>
		
		
		
		

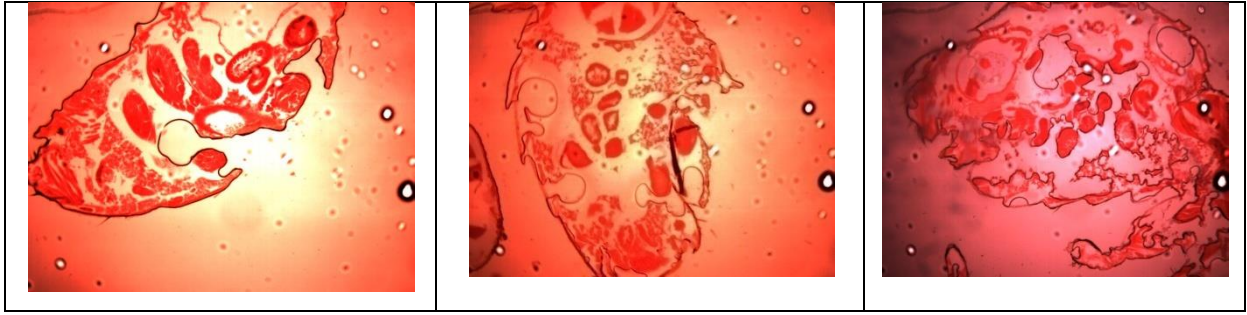


Comparaison entre Mâles témoins et traités :

Tableau 61 : Effets sur les Mâles; comparaison entre les coupes histologiques des Mâles témoins et traités par l'extrait aqueux et éthanolique de *R. chalpensis*.

Mâles témoins	Mâles traités par l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i>	Mâles traités par l'extrait aqueux de <i>R. chalpensis</i>
		





Discussion

4. Discussion :

Les insectes jouent des rôles épidémiologiques variés, ce qui fait d'eux un problème majeur de santé publique (**Berge, 1975 ; Jolivet, 1980**). Car, ils peuvent être considéré comme simple nuisance, ou comme hôtes d'agents pathogènes, mais surtout comme vecteurs de maladies infectieuses pour l'Homme et les animaux (**Dumon & Faugere, 1995**). Les insectes sont très étudiés en raison de leur impact sur la santé humaine et animale, les cultures et l'habitat. Ils sont caractérisés par leur abondance, leur diversité et leur étendue géographique (**Habbachi, 2013**).

Les Diptères sont des insectes pourvus d'une seule paire d'ailes, les plus connus sont les mouches et les moustiques avec une écologie extrêmement variée ; le plus souvent, les larves et les adultes ont des comportements très différents. Dans les laboratoires, c'est surtout *D.melanogaster* qui occupe une place centrale dans la recherche scientifique (**Albertes et al, 1999 ; Massaux, 2006**). C'est un modèle parmi les mieux étudiés à l'heure actuelle, utilisé pour la recherche en biologie, et en particulier dans les domaines de la génétique et du développement (**Tracqui et al, 2003**).

Les adultes de *D. melanogaster*, comme ceux des autres espèces de drosophiles, ne représentent généralement aucun danger pour les humains. Elles ne mordent pas et ne piquent pas ; et en plus de la contribution et l'accélération du processus de décomposition des végétaux, cette petite mouche sert de nourriture à plusieurs animaux insectivores. Cependant, leurs larves peuvent causer une irritation intestinale ou une diarrhée si on les avale par mégarde, en mangeant des fruits infestés par exemple. Comme d'autres mouches qui vivent à la fois sur des déchets ou des excréments et sur des aliments destinés aux humains, les drosophiles peuvent, à l'occasion, propager des microorganismes causant des maladies en les transportant sur leurs pattes ou leurs pièces buccales. On rapporte par exemple une forme de diarrhée assez commune chez les travailleurs des vignobles qui serait due à la contamination des raisins par la drosophile (**Habbachi & Cheddadi, 2016**).

L'utilisation intensive des insecticides durant ces 50 dernières années a provoqué une contamination importante de l'environnement. Malgré une prise de conscience des effets néfastes de ces produits phytosanitaires, ils restent actuellement très utilisés en particulier dans le domaine agricole. Par conséquent, ces insecticides continuent à être disséminés dans la nature et à polluer l'environnement. De ce fait, plusieurs problèmes se posent face à cette utilisation constante: l'apparition de résistance aux insecticides chez les insectes ravageurs, et

l'impact d'une exposition aux insecticides en particulier une exposition chronique à des doses faibles sur les organismes comme l'homme. Apporter des réponses face à ces problèmes reste essentiel pour mieux appréhender les effets des insecticides et se tourner vers une ``utilisation intelligente`` de ces produits dans le futur (**Louat, 2013**).

L'exposition aux insecticides peut être considérée comme facteur de risque pour certaines maladies humaines (ex : des études épidémiologiques ont permis de suggérer un lien possible entre la maladie de Parkinson et l'exposition à la dieldrine). Cependant, les études chez l'homme restent limitées et difficiles à mettre en œuvre (**Louat, 2013**). L'usage des insecticides chimiques engendre des impacts néfastes pour la santé des humains et des animaux (**Lindquist, 2000**).

Le siècle dernier a enregistré des progrès significatifs dans la synthèse des pesticides. Cependant, les insecticides synthétiques ont vite montré leur agressivité envers des organismes non visés dont les insectes utiles, les mammifères et l'homme, en plus de leur persistance dans la nature qui perturbe les équilibres écologiques. Ces dernières années, une nouvelle approche est apparue. Les risques écotoxicologiques engendrés par l'utilisation massive des insecticides conventionnels nous ont amené à évaluer des composés alternatifs tels les biopesticides (**Ouakid, 2006**).

L'écotoxicologie s'est développée au début des années 1960 quand se sont manifestés les effets de contamination de l'environnement par des produits polluants d'origine industrielle ou agricole (**Ramade, 2011**), notamment les insecticides chimiques conventionnels tels que les organochlorés, les organophosphorés et les méthyle carbamates (**Reierson et al., 1983 ; Appel, 1990 ; Garfield, 1990 ; Reid et al., 1990**). Cependant, les effets secondaires de ces insecticides conventionnels et les impératifs environnementaux ont poussé l'industrie phytosanitaire à développer des molécules plus sélectives de grande stabilité métabolique et environnementale (**Dhadialla et al., 1998 ; Casida & Quistad, 1998**).

Au travers des âges, l'homme a pu compter sur la nature pour subvenir à ses besoins de base tel que, nourriture, abris, vêtements et aussi pour ses besoins médicaux. Les plantes possèdent d'extraordinaires vertus thérapeutiques. Leurs utilisations pour le traitement de plusieurs maladies chez les êtres vivants et en particulier l'homme est très ancienne et a toujours été faite de façon empirique (**Svoboda, 2000**).

De nos jours, nous comprenons de plus en plus, que les principes actifs des plantes médicinales sont souvent liés aux produits des métabolites secondaires. Leurs propriétés sont actuellement pour un bon nombre reconnue et répertorié, et donc mises à profit, dans le cadre des médecines traditionnelles et également dans la médecine allopathique moderne (**Bourgaud et al, 2001 ; KAR, 2007**).

Face à cette problématique les biopesticides se présentent comme le meilleur moyen alternatif de lutte contre les insectes. Ces biopesticides demeurent moins coûteux, efficaces et sans risque pour l'environnement et la santé humaine. En effet, pour diminuer la dépendance du secteur agricole aux pesticides chimiques, l'utilisation des biopesticides s'avère de plus en plus efficace et recommandée (**Yeza, 2005**).

Dans le cadre de la recherche des molécules bioactives, d'origine végétale, efficaces dans la lutte contre la mouche du vinaigre *D. melanogaster*, la présente étude s'oriente vers l'activité biologique des extraits aqueux et éthanolique de la plante réputée toxiques. Il s'agit de *R. chalepensis*, notre but est de déterminer l'effet toxique et l'effet différé de cette plante sur *D. melanogaster*

C'est une Plante ornementale des jardins, la rue est considérée comme mellifère et sa présence éloigne les vipères. Elle repousse les insectes (**Le moine, 2001**) et est utilisée contre la gale et les parasites de la tête (**Bonnier, 1999**). Les parfumeurs utilisent son huile essentielle comme arôme. Dans le langage des fleurs, la rue est le symbole de la grâce (**Le moine, 2001**). Plusieurs espèces de *Rutacea* sont sources de diverses classes de produits naturels avec des activités : antifongiques, phytotoxique et antivénéneux (**Oliva et al., 2003**).

R. chalepensis est l'une des plantes potagères ou médicinales indigène du pourtour méditerranéen, elle est cultivée dans plusieurs pays d'Afrique tropicale où ses usages sont à la fois culinaires et médicaux. Ses vertus médicinales et culinaires sont attribuées à la présence d'huiles essentielles contenues dans l'ensemble des parties de la plante (**Duval, 1992**). Tant la plante que ses huiles essentielles ont été jadis largement utilisées en Europe comme anthelminthique, stomachique, antispasmodique, antiépileptique, rubéfiant, emménagogue et abortif (**Duke et al., 2008 ; Gutierrez-Pajares et al., 2003 ; Kong et al., 1989 ; Chiu & Fung, 1997 ; Foster & Tyler, 1999**). L'usage abusif de la plante est dangereux. Ses effets toxiques sont manifestement liés à la dose. Elle est potentiellement toxique et carcinogène lorsqu'elle est administrée par voie orale, et peut provoquer une dermatite de contact. Administrées par voie interne, les feuilles comme l'huile peuvent entraîner hémorragie, fausse

couche et avortement, et c'est à ce titre qu'on les utilise depuis la nuit des temps. La plante peut par ailleurs déclencher vomissement, gastro-entérite, œdème de la langue, refroidissement des extrémités, voire entraîner la mort. Pour certains, son ingestion augmente la photosensibilisation qui peut produire une dermatite importante. L'huile est utilisée comme substance aromatisante dans les parfums et les savons parfumés. Les huiles, riches en méthyl-nonyl-kétone, servent à la préparation du méthyl-n-nonyl-acétylaldéhyde qui est généralement employé comme parfum de synthèse. La plante est également souvent cultivée comme plante ornementale de haie ou bien comme plante en pot. En plus des huiles essentielles, *R. chalepensis* est riche en alcaloïdes qui représentent 4% de la composition chimique de la plante ; et d'où vient l'effet répulsif de la plante pour les insectes (**Le Moine, 2001**).

Les différents types de comportements rencontrés chez les insectes dépendent principalement d'un ensemble d'actes moteurs commandés par le système nerveux en réponse à des stimuli chimiques provenant de facteurs externes (nourriture, phéromones sexuelles, phéromones d'alarme, sécrétions aphrodisiaques, phéromones grégaires,...) (**Kaiser, 1999**). Les systèmes neuronaux chimiosensoriels composés des organes olfactifs et gustatifs permettent le guidage et repérage des sources de nourritures et/ou des partenaires sexuels. Un fait marquant chez les insectes et en particulier la drosophile réside dans le fait que les organes gustatifs sont disséminés sur le corps. La bordure antérieure de l'aile est tapissée avec des sensilles gustatives alternées avec des sensilles mécaniques. La fonctionnalité et le rôle des cellules gustatives au niveau de l'aile de la drosophile reste énigmatique et à ce jour largement inconnue (**Stocker, 1994**).

L'utilisation de la drosophile comme organisme modèle découle notamment d'aspects pratiques majeurs. En premier lieu, son élevage est simple, dans des bouteilles ou tubes de milieu nutritif placés dans des incubateurs aux conditions finement contrôlées (température, humidité, cycle jour/nuit). D'autre part, son cycle de reproduction est particulièrement court : 10 jours à 25°C. Cela offre donc au laboratoire la possibilité d'obtenir un grand nombre d'individus rapidement et à moindre coût. Enfin, le cycle de reproduction court associé aux dispositifs comportementaux permettant d'accueillir des groupes de drosophiles de taille importante offre une dimension statistique exceptionnelle aux expériences de comportement (**Ghislain, 2015**).

Dans ce travail nous avons testé l'effet de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* 25 µg/ml 50 µg/ml 100 µg/ml et 150 µg/ml, pour l'extrait éthanolique on a testé les concentrations 0,25 µg/ml 0,50 µg/ml 1 µg/ml 1,50 µg/ml 2 µg/ml et 2,50 µg/ml par ingestion sur chez la mouche de vinaigre, nous avons pu mettre en évidence que les larves de *D. melanogaster* sont sensibles aux extraits de *R. chalpensis*, on a enregistré une mortalité des larves qui arrive jusqu'à 100 % .

ces résultats sont conformes avec les différentes études précédentes (**Habbachi et al., 2014, Elbah 2017**). L'activité larvicide de l'extrait aqueux de *R. chalpensis* est progressive puisque nous enregistrons une augmentation de la mortalité au fur et à mesure qu'on avance dans le temps d'exposition pour atteindre un taux maximal de mortalité, ces taux de mortalité sont fortement corrélés au temps d'exposition. Ces résultats sont similaires à ceux publiés par **Benhissen et al. (2018)** quant aux effets de la plante *Nicotiana glauca* Graham (*Solanaceae*) sur le moustique *Culiseta longiareolata*. **Habbachi et al., 2014** indiquent une activité larvicide des extraits des plantes contre le moustique *Culex pipiens*. **Mahmoudian et al. (2002)** ont montré un effet toxique de *P. harmala* sur les moustiques.

Bien qu'il n'existe pas des travaux qui traitent l'effet de plante contre la mouche de vinaigre, mais plusieurs études confirment les effets insecticides des plantes spontanées Maghrébines contre les insectes en générale, et les Diptères, en particulier. Depuis des décennies, l'utilisation des produits naturels, spécifiquement les extraits des plantes, comme type de lutte contre les insectes en Algérie a commencé de se développer, à travers une multitude de travaux récents (**Aouinty et al. 2006 ; Lebouz & Oueld El-Hadj., 2010 ; Habbachi et al., 2013 ; Kemassi & Oueld El-Hadj, 2014 ; Habbachi et al., 2014**).

Nous citerons, aussi, les résultats de (**Habbachi et al., 2013 ; Habbachi, 2020 ; Saadane, 2021**) indiquant l'effet larvicide des extraits aqueux et éthanolique des plantes contre les larves de *D. melanogaster* (Diptera) (effet sur la mortalité et sur le développement de la mouche). **Idrissi-Hassani et al. (1998), Abbasi et al., (2003; 2003b)** et **Idrissi-Hassani & Hermas (2008)** lors de l'évaluation de potentiel acaricide de la plante chez le criquet *Shistocerca gregaria* et ceux d'**Abbasipour et al., (2010)** ont montré l'activité insecticide de l'extrait de la graine contre *Plutella xylostella* (Lepidoptera). **Aouinty et al. (2006)** et **Abdu Rahuman & Venkatesan (2008)** ont montré l'efficacité des extraits de cinq plantes à différentes doses (1%, 2%, 3%, 4% et 5%), qui ont été testés sur quatre espèces différentes de moustiques tels que (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*).

Les extraits végétaux présentent des avantages et des inconvénients en tant qu'insecticides. Les avantages sont l'action et la dégradation rapides, la faible toxicité des mammifères, la sélectivité et l'impact minimal sur les plantes (Cloyd, 2004). mais ces insecticides botaniques possèdent des molécules dérivées du métabolisme secondaire des plantes, elles présentent un effet limité sur les insectes bénéfiques. Les inconvénients sont également les coûts élevés, la faible disponibilité et les rares données de résultats efficaces (Cloyd, 2004).

Les études menées concernent essentiellement les effets toxiques des extraits aqueux et/ou éthanoliques des plantes sur les insectes nuisibles qui causent des problèmes de santé publique tel les moustiques (*Culex pipiens*) (Benhissen, 2016 ; Merabti *et al.*, 2015 ; Merabti, 2016), les blattes (*Blattella germanica*) (Masna, 2016) et la mouche des fruits (*Drosophila melanogaster*) (Habbachi *et al.*, 2013 ; Habbachi & Cheddadi, 2016). Nos travaux visent à déterminer la toxicité des extraits de plantes (effet sur la mortalité) qui est particulièrement important par ingestion (il semble que les substances agissent par voie digestive provoquant la mort des insectes).

D'une façon générale, au moment où l'insecte entre en contact avec un insecticide, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint, plus ou moins rapidement, les protéines et les enzymes cibles du métabolisme de base. Bien que chez *D. melanogaster*, l'action exacte des toxines contenues dans la plante *R. chalepensis* reste à déterminer, deux types de modifications peuvent être observés. Une activité accrue des systèmes de dégradation des xénobiotiques (et donc des insecticides) et une modification de la cible de l'insecticide qui devient alors capable de fonctionner correctement malgré la présence d'insecticide (Haubruge, & Amichot, 1998).

La toxicité du aux différents produits utilisés dans cette étude est surtout intestinale, il semble que les substances actives de *R. chalepensis* attaquent le phénomène de la digestion en plus d'une attaque du système nerveux. Cela apparait quand on étudie le comportement alimentaire des larves traitées. Pour cela, et après détermination des paramètres toxicologiques des extraits de la plante (CL50%, CL90%, TL50% et TL90%), les insectes sont traités avec une concentration sub létale 50 µg/ml de l'extrait aqueux et 0,50 µg/ml de l'extrait éthanolique de *R. chalepensis* pour déterminer l'effet différé de ces molécules sur le comportement alimentaire des larves. Les différents types de comportements rencontrés chez les insectes dépendent principalement d'un ensemble d'actes moteurs commandés par le

système nerveux en réponse à des stimuli chimiques provenant de facteurs externes (nourriture, phéromones sexuelles, phéromones d'alarme, sécrétions aphrodisiaques,...) (**Kaiser, 1999**).

Pour la drosophile, la localisation et l'évaluation des différentes ressources nécessaires pour l'alimentation peut être une tâche formidable. Non seulement ces ressources sont souvent dispersées sur une grande échelle par rapport à la taille de l'insecte, mais les différents types de ressources sont également susceptibles d'exiger des ensembles uniques de signaux de reconnaissance. En conséquence, le comportement de recherche d'insectes est un processus comportemental complexe médité par une multitude d'imputes sensorielles (**Papaj & Vet, 1990 ; Byers, 1996 ; Finch & Collier, 2000 ; Bergman & Wiklund, 2009**) et, bien que le comportement de recherche a été largement étudié, il est encore très bien difficile de savoir comment différentes modalités de recherche fonctionnent dans un contexte écologique et contribuent au processus de décision qui permet à l'insecte de trouver sa cible de recherche (**Chardonnet, 2013 ; Schäpers et al., 2015**).

Le comportement d'une larve de drosophile dépend de l'interaction entre des stimuli externes (écologiques) et internes (physiologiques). Si la réponse des larves à différents taux d'humidité, à certains sucres ou à l'éthanol est connue depuis plusieurs décennies (**Cooper, 1960 ; McKenzie & Parsons, 1972 ; Parsons, 1977**). C'est beaucoup plus récemment qu'il a été montré que les larves utilisent leur système chimiosensoriel pour détecter leur nourriture suivant des interactions sociales (**Fourgeron, 2011 ; Beltrami et al., 2012**). De plus, comme les larves baignent dans la nourriture, les systèmes olfactif et gustatif coopèrent lors de la recherche de la nourriture la plus appropriée à leurs besoins.

Dans notre travail nous avons effectué des tests afin de mettre en évidence un comportement larvaire associé à différentes odeurs des milieux de culture témoin et traité par les deux extraits aqueux et éthanolique de *R.chalpensis*. Nous avons testé différentes odeurs issues du milieu de l'alimentation et l'odeur du milieu de traitement sur le choix d'attraction des larves traitées comparativement avec les larves témoins. L'extrait de la plante étudiée agit sur l'attractivité alimentaire des L3 de la *D. melanogaster*. Ces derniers préfèrent le milieu traité qui a un effet attractif. Certains larves testées de cette espèce de drosophile perdent la faculté de détection, lors de nos test un nombre important des asticots n'arrivent pas a localiser les odeurs témoins et/ou traités. En **2011, Fourgeron** a pu, aussi, montrer que les larves de cette mouche sont attirées significativement par l'odeur de leur milieu de culture et

particulièrement par l'odeur des acides gras insaturés. La composition chimique de notre milieu reste à identifier afin de déterminer les différentes molécules et définir les préférences alimentaires de *D. melanogastre*.

Les résultats de ce travail montrent, également, que les molécules bioactives de *R. chalepensis* influent significativement sur le lieu de pupation. Lorsqu'on utilise les deux milieux dans l'arène du test les larves témoins de drosophile préfèrent faire leur puppe sur le milieu traité alors que les larves témoins préfèrent faire leur puppe loin des papiers imbibés des milieux de culture.

Il arrive que des espèces végétales soient consommées malgré leur toxicité lorsque les insectes sont affamés ou manquent d'eau. C'est le cas de *Eucalyptus occidentalis* L. (Myrtaceae) et *Cestrum parqui* L. (Anacardiaceae) (**Barbouche et al., 1995 cité par Moumen, 1997**). Des recherches sur *Melia azedarach* L. et *Azadirachta indica* Juss. (Miliaceae), ont trouvé leurs effets acridifuges sur le Criquet pèlerin (**Tail, 1998 ; Moussa, 2000 ; Ould El Hadj et al., 2006**). De même, *Nerium oleander* L. (Apocynaceae) et *Inula viscosa* L. (Asteraceae) semblent avoir respectivement un effet dissuasif et antiappétant sur cet acridien (**Tail, 1998**). Le spinosad (spynosyne) présente un effet répulsif pour trois prédateurs du thrips des petits fruits (*Frankliniella occidentalis*). Cet effet répulsif est présent durant les deux premiers jours de la vie des prédateurs qui évitent les zones traitées au spinosad (**Rahman et al., 2011**). Ces dernières seront donc dépourvues de plusieurs prédateurs de *Frankliniella occidentalis* (**Louat, 2013**). Certaines espèces végétales ont un pouvoir répulsif, antiappétant ou toxique sur le Criquet pèlerin. Le Méliá *Melia azedarach* L. et le Neem *Azadirachta indica* Juss. (Meliaceae) sont connus depuis fort longtemps pour leur effet dissuasif sur les insectes (**Philogène, 1991 ; Dombia, 1994**).

Chez la drosophile, l'olfaction est très développée, elle est capable de reconnaître quelques molécules comme le sucre, le sel, les substances amères et les acides aminés qui ont fait l'objet d'études permettant de mieux comprendre leur perception et les différentes voies métaboliques impliquées (**Van Naters & Carlson, 2006 ; Vosshall & Stocker, 2007**).

Récemment, plusieurs études réalisées indiquent surtout l'effet des plantes sur le comportement sexuel et d'oviposition ainsi que sur la reproduction (fécondité et fertilité) des insectes ; tel que l'effet inhibiteur de *Peganum harmala* et du *Daphne gnidium* sur comportement d'oviposition et reproduction chez *Culex pipiens* (**Benhissen, 2016 ;**

Benhissen et al., 2015). La plante harmel est la plus étudiée, les études indiquent son effet sur le comportement sexuel de *B. germanica* (**Masna, 2016**) et comportement alimentaire, comportement sexuel et comportement d'oviposition de *D. melanogaster* (**Chebira & Arabi, 2013 ; Habbachi & Cheddadi, 2016 ; El-Bah et al., 2016**).

Dans ce travail nous avons extrait les molécules bioactives de la plante « Fidjel » dans l'eau et l'éthanol ; puis nous avons testé son effet sur la perception chez les adultes de *D. melanogaster*. Les tests consistent aussi à tester l'effet de plante sur les signaux chimiques intervenant dans l'accouplement chez la mouche de vinaigre. Les signaux chimiques les plus étudiés chez les insectes, sont les phéromones sexuelles, plus de 530 ont été identifiées et 1250 attractifs ont été décrits. Chez les insectes ou l'attraction visuelle ne peut pas intervenir, la rencontre des sexes est entièrement sous la dépendance du signal phéromonal émis par l'un des deux sexes (**Descoins, 2008**).

Alors que, les insectes sociaux sont dotés de systèmes de communication plus perfectionnés. En fait, ils utilisent principalement la communication chimique dans la recherche de partenaire sexuel, il est actuellement admis qu'une phéromone sexuelle existe chez la majorité des insectes tels que les blattes (**Barth, 1970**) et les drosophiles (**Brossut, 1996**).

Un des comportements le plus étudié et un des mieux compris est celui de la parade amoureuse chez *D. melanogaster*. Il s'agit d'une succession d'actions parfaitement déterminées et invariables que le mâle accomplit pour aboutir à la copulation. Il s'agit d'une succession de comportements instinctifs élémentaires. Le mâle et la femelle drosophile ne sont pas spontanément attirés l'un par l'autre. Mais à proximité l'un de l'autre (près d'une source de nourriture ou dans une chambre d'accouplement), le mâle et la femelle se sentent rapidement. Le mâle détecte la femelle en premier et commence à la courtiser. Il tapote la femelle, la suit, lui tourne autour. Contrairement à d'autres Diptères, la cour ne se passe jamais en vol. Le mâle déplie une de ses ailes qu'il fait vibrer, produisant ainsi un chant de parade caractéristique de chaque espèce (**L.N.A.P.G, 1997**).

Dickson et Delmir, 2005, Ont démontré que le comportement sexuel des drosophiles était conditionné par un unique gène, fru (fruitless), un gène épissé différemment selon le sexe de l'individu. Les deux chercheurs, issus de l'Institut de biotechnologie moléculaire de l'Académie autrichienne des sciences ont pour cela recréé deux allèles artificiels, mâles et

femelles, reproduisant les versions épissées du gène, puis les ont implantés dans des individus du sexe opposé. Le comportement des mouches s'en est trouvé totalement inversé.

Quelques secondes ou minutes après le début de la rencontre, le mâle étend sa trompe et lèche les genitalia de la femelle. La première tentative d'accouplement suit immédiatement. Le mâle courbe son abdomen. Si la tentative d'accouplement échoue, le mâle cesse sa cour immédiatement. **(I.N.A.P.G, 1997)**. Dotées de la version mâle du gène fru, les femelles se transforment à leur tour en séductrices, et courtisent les autres femelles, voire les mâles amenés par génie génétique à émettre des phéromones femelles. Les mâles dotés de l'allèle femelle, eux, deviennent totalement passifs et cessent tout manège amoureux. **(Dickson et Delmir, 2005)**. Fru ne modifie pourtant pas la morphologie des drosophiles, mais paraît plutôt influencer sur le développement de leur système nerveux **(Dickson et Delmir, 2005)**. L'accouplement déclenche des changements comportementaux et physiologiques chez la femelle de *D. melanogaster*, y compris une élévation de la ponte. **(Herndon & Wolfner, 1995)**. D'autres chercheurs ont montré que l'accouplement réduisait la durée de vie de la femelle et rendait les spermatozoïdes présents dans la spermathèque (provenant d'accouplements antérieurs avec d'autres mâles) incapables de féconder les ovules de la femelle, assurant ainsi la paternité au mâle du dernier accouplement **(I.N.A.P.G, 1997)**.

Chez les drosophiles, Les rencontres entre mâles et femelles aboutissent dans 60 à 80% des cas à un accouplement **(I.N.A.P.G, 1997)**. L'influence considérable du milieu sur le comportement oblige les chercheurs à une rigoureuse stabilité des conditions d'élevage. Les différents paramètres en particulier hygrométrie, température, densité de population, sont pris en compte afin d'assurer la reproductibilité des expériences **(I.N.A.P.G, 1997)**.

On a déduit à partir de notre étude que le comportement sexuel chez *D. melanogaster* passe par six étapes essentielles pour que l'accouplement puisse s'effectuer. Premièrement, le mâle s'oriente vers la femelle, deuxièmement, il la suit et la tapote avec ses pattes antérieures. Troisièmement il fait vibrer une de ses ailes déployée à la verticale de son corps. Quatrièmement il lui lèche les plaques génitales. Cinquièmement, il fait sa première tentative d'accouplement en incurvant son abdomen sur le corps de la femelle. Enfin, il copule si la femelle est réceptive. Lors de l'accouplement les deux partenaires réduisent leur mouvement et s'immobilisent dans un coin pour ne pas perdre plus d'énergie. Ces étapes ne changent pas après le traitement, malgré l'absence de certaines séquences chez plusieurs couples traités avec *R. chalepensis*.

Dans cette étude, on a mis en évidence que l'extrait aqueux de *R. chalepensis* influe sur l'accouplement des mouches de *D. melanogaster* ; ces dernières ne s'accouplent pas lorsque l'un des deux insectes est traité ou en traitant des deux sexes. Le produit avec des concentrations sublétales perturbe complètement les séquences comportementales des adultes de drosophile. Après quelque contact entre les deux partenaires, aucune séquence de parade n'est observée cela est peut être du à une modification du profil cuticulaire chez les mouches. Le rôle des contacts dans la reconnaissance mutuelle des partenaires à été prouvé chez différentes espèces d'insectes tel que les blattes (**Roth & Willis, 1952, Smyth, 1963, Farine et al., 1993, Gropeaux, 1994**). Cette phase de reconnaissance antennaire entre les deux sexes déclenche chez le mâle un comportement de parade, la « vibration alaire », qui démontre son excitation. Nos résultats sont similaires à ceux enregistré par **Habbachi (2020)** et **Saadane (2021)** lors de l'étude de l'effet des plantes sur le comportement sexuel de la mouche de vinaigre. L'étude montre que les extraits aqueux et éthanolique de *R. chalepensis* agit sur les séquences clés conduisant à l'accouplement (vibration, léchage et tentatives d'accouplement).

Dans cette étude, on a mis en évidence que les extraits aqueux et éthanolique de *R. chalepensis* influent sur l'accouplement des mouches de *D. melanogaster* ; ces dernières ne s'accouplent pas lorsque l'un des deux insectes est traité ou en traitant des deux sexes. Le produit avec des concentrations sublétales perturbe complètement les séquences comportementales des adultes de drosophile. Après quelque contact entre les deux partenaires, aucune séquence de parade n'est observée cela est peut être du à une modification du profil cuticulaire chez les mouches. Le rôle des contacts dans la reconnaissance mutuelle des partenaires à été prouvé chez différentes espèces d'insectes tel que les blattes (**Roth & Willis, 1952, Smyth, 1963, Farine et al., 1993, Gropeaux, 1994**).

Cette inappétence sexuelle est due à des différences comportementales qui sont liées à des particularités du chant des mâles en relation avec des spécificités des phéromones épicuticulaires des femelles. Car ces phéromones sont désignées comme signaux de reconnaissances intra et inter espèces (**Clément et al., 1987 ; Espelie et al., 1994 ; Everaerts et al., 1997**). Une analyse chimique des mouches traitées et des mouches témoins peut nous renseigné sur toute modification dans le profil des hydrocarbures de *D. melanogaster*, comme elle va nous expliqué l'effet de l'extrait de la plante sur la reconnaissance mutuelle chez la mouche.

Après l'accouplement, la seconde phase essentielle pour la reproduction de l'insecte est l'oviposition, qui est aussi sous contrôle neuronal conduisant à une ponte sélective sur des substrats appropriés (**Becher et al., 2012**). Le choix du substrat est le résultat d'une évaluation sensorielle exprimé dans le comportement de "search-like", précédant le programme d'oviposition stéréotypée (**Yang et al., 2008**). L'effet répulsif des insecticides peut également induire une diète ou une baisse de l'alimentation chez l'insecte pouvant conduire à une réduction de la fécondité (**Li et al., 2007 ; Louat, 2013**).

Après l'accouplement, la seconde phase essentielle pour la reproduction de l'insecte est l'oviposition, qui est aussi sous contrôle neuronal conduisant à une ponte sélective sur des substrats appropriés (**Becher, 2012**).

Nous avons mis en évidence que les extraits aqueux et éthanolique de *R. chalpensis* influent sur le choix du site de la ponte des mouches de *D. melanogaster* et ce en fonction du type de croisement effectué. Nos résultats indiquent pour l'extrait aqueux on a enregistré chez les trois croisements (Les couples témoins et traités, et les couple de mâle traitée et femelle témoin), les adultes femelles préfèrent déposer leurs œufs dans le milieu témoin par contre dans le cas des couples ou les femelles seules sont traitée on remarque un effet attractif envers notre produit, cela explique que les femelles traitées peuvent identifier leurs milieux traités. Quand il s'agit de l'extrait éthanolique de *R. chalpensis*, Les couples témoins et les couples et traitées et ceux dont la femelle est traitée et le mâle est témoin préfèrent le milieu témoin, ce qui montre qu'il existe un effet répulsif de cet extrait qui n'attire pas les femelles *D. melanogaster*, chez les couples composés de femelles témoins et mâles traités on remarque une attraction sur le milieu.

L'effet répulsif des insecticides peut également induire une diète ou une baisse de l'alimentation chez l'insecte pouvant conduire à une réduction de la fécondité (**Li et al., 2007 ; Louat, 2013**). Différentes études récentes appuient nos résultats et rapportent l'impact de l'expérience pré-imaginale sur le comportement et la prise de décision chez les adultes traduisent cette capacité de conversation de la mémoire de l'apprentissage à travers les stades de développement (**Duckas, 2008 ; Flaven-Pouchon et al., 2014 ; Abed-Vieillard et Cortot, 2016**). De plus, selon **Krause Pharm et Ray (2015)** l'aversion olfactive semble être conservée chez les différentes espèces de drosophile, ce qui permettra de généraliser l'action des extraits végétaux utilisés à d'autres espèces nuisibles de drosophiles telles que *Drosophila suzukii*.

Une femelle peut avoir avantage à pondre une partie de ses œufs sur des sites moins favorables pour sa progéniture lorsque son espérance de vie diminue (**Lalonde & Roitberg, 1992**). Ainsi, des femelles deviennent moins sélectives en pondant sur des hôtes déjà infestés lorsque le temps depuis leur dernière ponte augmente (**Roitberg et al., 1984**) ou lorsque la pression atmosphérique chute, signe annonciateur d'un front orageux (**Lalonde & Roitberg, 1992**). De la même façon, la dépense énergétique associée à la phase de recherche d'hôtes peut avoir des répercussions négatives sur la fécondité des femelles (**Inglesfield & Begon, 1983**).

Le choix du site de ponte des femelles peut également être influencé par la présence d'ennemis naturels (**Denno & al., 1990; Bievre et al., 1992**). La prise en compte de ce facteur dans le comportement d'oviposition est d'autant plus important que, chez les insectes, la prédation est l'un des principaux facteurs de mortalité larvaire (**Bernays, 1997**).

L'histologie (du Grec *istos*, tissu) est la branche de la biologie qui étudie les tissus, c'est une science entre la cytologie et l'anatomie. Elle a pour but d'explorer la composition, la structure, le renouvellement des tissus, ainsi que les échanges cellulaires. L'histologie fait également référence aux différentes techniques, utilisées pour la préparation de ces échantillons : prélèvement, congélation, enrobage, coupe au cryostat et montage des coupes sur lame (**Albertine, 2008**).

Dans notre travail on a réalisé des coupes histologique chez les drosophiles mâles et femelles (témoins, traités par l'extrait aqueux de *R. chalpensis*, et ceux traités par l'extrait éthanolique de *R. chalpensis*) pour essayer d'étudier les effets de ces extraits, on a remarqué une destruction plus au moins importante au niveau des tissus des différentes parties de *D. melanogaster* tête, thorax et abdomen.

Selon **Rogan** en **1988**, des études épidémiologiques montrent que les pesticides organochlorés altèrent les réponses immunitaires chez les populations qui sont exposées accidentellement à ces substances. Ces pesticides atteignent particulièrement les enfants, avec des symptômes telles que des pigmentations anormales de la peau et des ongles, atteintes du foie, ceux-ci souffrent davantage d'épisodes de bronchite et de pneumonie durant les premiers mois de leur vie que les enfants non exposés.

Selon **KETOH et al. (2004)**, la recommandation de l'Organisation Mondiale de la Santé (1995) en faveur de l'élimination des fumigants classiques en 2005 dans les pays développés, et en 2015 au plus tard dans les pays en développement ouvre la voie à la recherche de nouveaux produits à faible répercussion écologique. Le recours au monde végétal et aux molécules qui ont permis aux plantes de se protéger contre les ennemis naturels devient donc indispensable (**Regnault-roger et al., 2008**), les huiles essentielles sont des insecticides naturels qui, tout en étant aussi actifs, sont biodégradables (**Tchoumboungang et al., 2009**). Selon **Chiasson & Beloin (2007)** les biopesticides à base d'huiles essentielles présentent plusieurs caractéristiques d'intérêt, plusieurs sont aussi efficaces que les produits de synthèse. Ils ont en général une efficacité à large spectre, mais avec une spécificité pour certaines classes ou ordres d'insectes, ils peuvent être appliqués jusqu'au moment de la récolte. Cette faible rémanence permet également aux travailleurs de retourner au champ dans un court délai après le traitement, les huiles essentielles brutes peuvent être entreposées pendant plusieurs années, et un biopesticide peut être mis sur le marché dans un délai plus court qu'un produit de synthèse, car le processus d'homologation est moins exigeant.

Conclusion

Cette étude a pour but de contribuer à la connaissance que les extraits végétaux, provenant des plantes médicinales (*Ruta chalapensis*), présentent un potentiel de lutte contre les insectes nuisibles (*Drosophila melanogaster*).

Nous avons étudié l'effet direct et diffère des extraits aqueux et éthanolique de *Ruta chalapensis* sur la mouche du vinaigre *Drosophila melanogaster*, il s'agit d'une espèce bien connue dans le laboratoire qui s'élève facilement et dont on peut obtenir rapidement un grand nombre d'adultes. Ces conditions facilitent les répétitions et la standardisation indispensables à des études comparatives.

Nous avons montrez l'effet toxique des deux extraits (aqueux et éthanolique) de *Ruta chalapensis* contre les mouches de *D. melanogaster*, et une bonne activité insecticides de l'extrait aqueux comparativement avec l'extrait éthanolique. Les calcules des paramètres toxicologiques (concentrations létales et des temps létaux) indiquent les différences, La mortalité observée est corrélée positivement avec les concentrations utilisées et la durée d'exposition. Les essais toxicologiques ont montré l'existence d'une toxicité envers les insectes traités ; ces essais ont permis aussi de déterminer la CL50%, CL90 %, et aussi et TL50%, TL90% pour ces produits.

Nous avons évalué l'effet indirect des extraits sur attractivité et l'activité des larves. Par le traitement des larves et des milieux de cultures par les extraits de la plante, nous avons enregistré une perturbation du comportement alimentaire et l'attraction des larves. On a noté l'effet attractif de l'extrait éthanolique de *Ruta chalapensis* avec la concentration sub-létale (0.50 µg/ml) contrairement à l'extrait aqueux (50 µg/ml) de *Ruta chalapensis* qui a provoqué des perturbations de détection du milieu nutritif et présente un effet répulsif. Les extraits de la plante agissent sur l'olfaction des larves et le signal chimique (milieux nutritifs testés) ; la plante perturbe la faculté de détection des odeurs, leurs choix est aléatoire.

Les effets sublétaux les plus importants d'un insecticide sont ceux qui perturbent la reproduction des insectes. Dans notre recherche, nous avons montré que les deux extraits de *Ruta chalapensis* perturbent les séquences de comportement sexuel de l'insecte. Pour l'extrait éthanolique le bilan de la reproduction est 65% lorsque les deux partenaires sont traités, et 35% de réussite pour l'extrait aqueux. L'étude de la fécondité et la fertilité de notre modèle biologique indique l'extrait aqueux est un milieu attractive pour les femelles de *D.*

melanogaster alors que l'extrait éthanolique c'est un milieu répulsif pour la ponte des femelles.

Nous avons aussi réalisé des coupes histologique chez les drosophiles males et femelles (témoins, traités). On a remarqué une destruction plus au moins importante au niveau des tissus des différentes parties de *D. melanogaster* tête, thorax et abdomen.

Il reste néanmoins du travail à faire, surtout au niveau de la sensibilisation et des ressources disponibles, il est donc indispensable d'étudier ces plantes et donner une explication et une authentification scientifique aux activités de ces plantes afin de limiter l'utilisation de la lutte chimique qui présente plus d'effets indésirables que bénéfiques. il serait intéressant d'identifier les molécules insecticides que contient les deux extraits de *Ruta chalpensis* et de déterminer l'effet de ces derniers sur le profil cuticulaire de la mouche de vinaigre à travers une analyse chimique (CPG). Il est souhaitable aussi d'essayer d'autres plantes et d'autres extraits végétaux et d'évaluer leurs effets bioinsecticides sur la durée de développement, l'aspect morphologique et biochimique ainsi qu'une estimation du potentiel reproducteur chez la drosophile traitée.

Références Bibliographiques

Alberts B., Bray D., Johsen A., Lawis J., Ralf M., Roberts K., Walter P., 1999. L'essentiel de la biologie cellulaire; Introduction à la biologie moléculaire de la cellule. Traduction de l'américain par Serge Perelman. Edition Médecine Science. Flammarion. 29 :630

Académie d'Agriculture de France., 2009. Groupe de travail sur l'entomologie. L'entomologie française est-elle en voie d'extinction ?.

Adama Ndao., 2014. Mise à l'échelle de la production du biopesticide *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* avec comme substrat des eaux usées d'amidon. Mémoire de majister. 98 pp.

Adang M.J., 1991. *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: gene structure, action, and utilization. In: Biotechnology for biological control of pests and vectors (Edited by K. Maramorosch). *CRC Press, London*. pp: 3-23.

AIEA BULLETIN, VOL.26, no 2* M. Plimmer est Chef de la Section de l'agrochimie et des résidus de la Division mixte FAO/AIEA

ALLERTINE DUBOIS 2008 exploitation conjointe d'informations anatomiques et fonctionnelles tridimensionnelles pour l'imagerie cérébrale post mortem chez le rongeur . faculté du science. Université paris sud .pp231

ALEXANDRE Charles Kiss 1973, La protection de l'environnement et les organisations européenne , Annuaire français des droits internationales ;19, pp 895-921.

ALLOUN KAHINA 2013 thèse école nationale agronomique ELHARACHE ALGER Huile Essentielle (HE) ; *Salvia Officinalis* ; *Ruta Montana* ; *Anethum Graveolens* ; Hydrodistillation ; Composition Chimique ; CPG ; CG/SM ; Activité Antioxydante ; Activité Antimicrobienne.

Amrein H, Thorne N. 2005. Gustatory perception and behavior in *Drosophila melanogaster*. *Current biology* : CB 15: R673-84

ANSES 2015 Agence national de sécurité sanitaire alimentaire, environnement (www.anses.fr)

Aouinty B., Oufara S., Mellouki F., Mahari S., 2006. Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis L.*) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata (Vahl) Mast.*) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex*

pipiens (Linné). *Aedes caspius* (Pallas). *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 10 (2), 67 - 71.

Appel A.G., 1990. Laboratory and field performance of consumer bait products for German cockroaches (Dictyoptera: Blattellidae) Control. *J. Eco. Entomol.* 81(1): 153-159.

Aronson A.I., Beckman W., Dunn P., 1986. *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. *Microbiol. Rev.* 50: 1-24.

BABA IASSA F. ; 1999 ; Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb ; Ed : LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA ; p : 243 - 244

Bakhouche M., Guerbi S., 2012. Étude des effets différés de deux bio-insecticides : Spinosad et *Bacillus thuringiensis* var *Kurstaki*) sur le comportement sexuel de *Blattella germanica*. *Mémoire de Master. Université de Annaba.* pp57.

Barjac H., 1978. Toxicité de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* pour les larves d'*Aedes aegypti* et d'*Anopheles stephensi*. *C.R. Acad. Sci. (Paris).* 286 D : 1175-1178.

Barthelmy. G., 1974. La nature et ses secrets, édition entreprise nationale de livre, Alger, p 68.

BATSCH Dorothée 2011 l'impact des pesticides sur la santé humaine.. universite henri poincare - nancy 1.. faculte de pharmacie.

Baudry M., 1998. Encyclopédie des sciences.Édition: 2, France. *ISBN 2-253-13020-6*,1456p.

Bauer L.S., 1995. Resistance: a threat to the insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Florida Entomol.* 78(3): 414- 442.

Baba iassa F. ; 1999 ; Encyclopédie des Plantes Utiles : Flore d'Algérie et du Maghreb ; Ed : LIBRAIRIE MODERNE – ROUIBA ; p : 243 - 244.

Beegle C.C., Yamamoto T., 1992. History of *Bacillus thuringiensis* Berliner research and development. *Can. Entomol.* 124: 587-616.

Becher P.G., Flick G., Rozpędowska E., Schmidt A., Hagman A., Lebreton S., Larsson M.C., Hansson B.S., Piškur J., Witzgal P. & Bengtsson M., 2012. Yeast, not fruit volatiles mediate *Drosophila melanogaster* attraction, oviposition and development. *Functional Ecology*, 26: 822-828.

Bekkouche latifa., boucoucha khaled., 2014., effet des bioinsecticides (spinosad et *Bacillus thuringiensis var kurstaki*) sur le comportement alimentaire de la mouche de vinaigre : *Drosophila melanogaster* (diptera ; drosophilidae). *Mémoire de Master. Université de Annaba.* pp25.

Bendali F., 2006. Etude bioécologique, systématique et biochimique des Culicidae (Diptera : Nematocera) de la région d'Annaba .Lutte biologique anticulicidienne. Thèse de doctorat en biologie animale. Université d'Annaba.

Bensafi G.H., 2010. Etude ecophysiologique, systématique et lutte intégrée contre les drosophiles. Vecteurs de la pourriture grise dans les cultures. Mémoire de Magistère. Université de Annaba (Algérie). 67pp.

Bensafi-Gheraïbia H., 2015. Evaluation du Spiromesifen, inhibiteur de la synthèse des lipides chez *Drosophila melanogaster* : Aspect toxicologique, biochimique et comportemental. Thèse de Doctorat en Biologie Animale. Université de Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 105 pp.

BENISTON W. N., 1984. Fleurs d'Algérie. Ed. Entreprise Nationale du livre, Alger, 359 p

BENNET-CLARK H.C et A. W. EWING 1970: The love song of the fruit fly. *Sci. Am.*, 223:84–92, 1970.

Ben Bnina E., Hammami S., Daamii-remadi M., Ben Jannet H. and Mighri Z. (2010). Chemical composition and antimicrobial effects of Tunisian *Ruta chalepensis* L. essential oils. *Journal de la Société Chimique de Tunisie*, 12: 1-9.

Berge., 1975. International catalogue of Arboviruses, including certain other viruses of Vertebrates. *US Depart. Hlth. Educ. And Welfare. Public.N°75-8301,2 edition.*

Bhoga U., Mali R.S. and Adapa S.R. (2004). New synthesis of linear furoquinoline alkaloids. *Tetrahedron Letters*, 45: 9483–9485.

Blomquist G.J., Jurenka R., Schall C & Tittiger C., 2005. Biochemistry and molecular biology of pheromone production. In: Gilbert L.I., Iatrou K., Gill S. (Eds). *Comprehensive molecular insect science.* Elsevier Academic. Sn Francisco. Vol 3. 705– 751.

Boatman ND, et al, Impacts of agricultural change on farmland biodiversity in the UK, In: Hester RE, and Harrison RM (eds), Biodiversity under threat, RSC Publishing, Cambridge, UK 2007, pp. 1-32.

BOLL.W et M. NOLL.,2002 : The *Drosophila* *pox* neuro gene : control of male courtship behavior and fertility as revealed by a complete dissection of all enhancers. *Development*, 129(24):5667–81.

BONTONOU Gwénaëlle 2014 THÈSE DE DOCTORAT.. Evolution des phéromones de *Drosophiles* et rôle dans l'isolement reproducteur.. Université Paris-Sud 11..pp 193

Bouharmont J., Masson P.L., Van Hove C., 2007. Biologie. Révision scientifique de Charles- Marie Evrard. Edition De Boeck université, 386 : 1250.

Bourbia S., 2012. Étude de la souche sauvage de *Drosophila melanogaster* agent de la pourriture grise des fruits. Identification et Comportement sexuel. Université de Annaba (Algérie).

Boulogne I., 2011. Evaluation du potentiel insecticide et antifongique sur *Acromyrmex*.

Bonnier G.; 1999; La Grande Flore en Couleur; Ed : BELIN; Tome 3; p:205 – 206.

octospinosus (Reich) d'une sélection de plantes à usages ethnopharmacologiques TRAMIL .

Thèse de Doctorat. Université des Antilles et de la Guyane, France. 169 pp.

Bourgaud F., Gravot A., Milesi S., et Gontier E.; 2001; Production of plant secondary metabolites: a historical perspective; *Plant Science* 161, p: 839-851.

Bouزيد, W., Yahia, M., Abdeddaim, M., Aberkane, M.C. & Ayachi, A. (2011). Evaluation de l'activité antioxydante et antimicrobienne des extraits de l'aubepine monogyne. *Lebanese Science journal*, 12(1) : 59 - 69.

Brossut R., Sreng L., 1985. L'univers chimique des Blattes. *Bulletin de la société entomologique de France, 150 e anniversaire*, 90 : 266-280.

Brossut R., 1996 - Phéromones : La communication chimique chez les animaux. *Ed. CNRS. Paris.* 137 pp.

BRAY.S et H. AMREIN.,2003 : A putative *Drosophila* pheromone receptor expressed in male-specific taste neurons is required for efficient courtship. *Neuron*, 39(6): 1019–29.

Bruneton, J. 1999. Pharmacognosie. Phytochimie. plantes médicinales. 3ème édition. Paris, 647-673.

Carvalho, S. M., Belzunces, L. P., Carvalho, G. A., Brunet, J. L., & Badiou (2013). Enzymatic biomarkers as tools to assess environmental quality of the honeybee *Apis mellifera* 2117-2124.

Chabi L., Lassoued A., 2015., Effet d'un inhibiteur de la synthèse des lipides (spirotetramat) sur le comportement alimentaire et la locomotion de *Drosophila melanogaster* (Diptera ;Drosophilidae). *Mémoire de Master. Université de Annaba.* pp.29.

Charbonneau C. S., Drobney R. D., Rabeni C. F., 1994. Effects of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* on nontarget benthic organisms in a lentic habitat and factors affecting the efficacy of the larvicide. *Environmental Toxicology and Chemistry.* 13 : 267-279.

CHIASSEON H., & BELOIN N., 2007. Les huiles essentielles, des biopesticides « nouveau genre ». *Antennae*, 14 (1), pp: 3-6.

CHRISTOS A. Damalas and Eleftherohorinos Ilias G. : Pesticide Exposure, Safety Issues, and Risk Assessment Indicators. *Int J Environ RES Public Health*, 2011, Vol 8, N° 5.

COELHO ALEXANDRA 2014 Rôle des Cytochromes P450 dans la perception sensorielle et le métabolisme de la caféine chez *Drosophila melanogaster* UNIVERSITE DE BOURGOGNE Centre des Sciences du Goût et de l'Alimentation UMR 6265 CNRS - 1324 INRA – Université de Bourgogne

Colignon, P., Haubruge, É., Gaspar, C., & Francis, F. (2003). Effets de la réduction de doses de formulations d'insecticides et de fongicides sur l'insecte auxiliaire non ciblé *Episyrphus balteatus* [Diptera: Syrphidae]. *Phytoprotection*, 84(3), 141-148.

CONNOLLY et R. M. COOK.,1973 : Rejection responses by female *d. melanogaster* : Their ontogeny, causality, and effects upon the behavior of the courting male. *Behaviour*, 44:142–167, 1973.

Corby-Harris V., Pontaroli A.C., Shimkets L.J., Bennetzen J.L., Habel K.E. & Promislow D.E.L., 2007. Geographical Distribution and Diversity of Bacteria Associated

with Natural Populations of *Drosophila melanogaster*. *Applied And Environmental Microbiology*, 73(11): 3470-3479.

COUTO, A., ALENIUS, M., and DICKSON, B.J. (2005). Molecular, anatomical, and functional organization of the *Drosophila* olfactory system. *Curr Biol* 15, 1535–1547.

Cisneros J., Perez J. A., Penagos D. I., Ruiz J. V., Goulson D., Cave R. D., Williams T., 2002 . Formulation of a Nucleopolyhedrovirus with Boric Acid for control of *Spodotera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae). in *Maize. Biological control*, 23 : 87-95.

Clément. J.L., Bonavita-Cougourdan A., Lange C., 1987. Nestmate recognition and cuticular hydrocarbons in *Camponotus vagus*. In : Eder J., Rembold H. (Eds.). *The chemistry and biology of social insects*. Verlag. J. Peperny, Munich. 473-474.

Cleveland C. B., Mayes M. A., Cryer S. A., 2001 . An ecological risk assessment for spinosad use on cotton. *Pest. Manag. Sci*, 58 : 70-84.

Copping L. G., Menn J. J., 2000. Biopesticides. A review of their action, applications and efficacy. *Pest. Manag. Sci*, 56 : 651-676.

Delbac L., Cusch A., Rouzes R, Ravidat M.L. & Launes S., 2014. *Drosophila suzukii* est elle une menace pour la vigne *Phytoma*, 679: 16-21.

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

DODT K. C.; 1996; *The Essential Oils Book (Creating Personnel Blends For Mind and Body)*; Ed: STOREY BOOKS; p: 21 - 52. 40. **DOERPER S.; 2008 ;** Modification de la synthèse des furo-Coumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique ; Thèse de Nancy – Université, INRA ; p : 12 - 34.

Doerper S.; 2008 ; Modification de la synthèse des furo-Coumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique ; Thèse de Nancy – Université, INRA ; p : 12 - 34.

Dickson B.J., 2008. Wired for sex : the neurobiology of *Drosophila* mating decisions. *Science*, 322(5903): 904-9.

Duke A.J., Duke P.A.K. et Ducellie J.L; 2008; *DUKE’S HANDBOOK of Medicinal Plants of the Bible*, Ed: CRC PRESS; p: 394-397.

Dumon H., Faugere B., 1995. Insectes et pathologie tropicale, Médecine d'Afrique Noire : 1995, 39 (3).

De Barjac H., 1978. Toxicité de *Bacillus thuringiensis var. israelensis* pour les larves d'*Aedes aegypti* et d'*Anopheles stephensi*. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 286 D : 1175-1178.

De Feo V., De Simone F. and Senatore F. (2002). Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens*. *Phytochemistry* 61:573–578.

DDEP., 2008. Développement durable, Environnement et Parcs, Québec, Les organismes indésirables, comment les contrôler efficacement : Pollénie, Mouche domestique et Drosophile, p 3-4, Mars 2008 (7037-08-02).

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* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) Ticks. *Microsc Res Techn.* 74(10): 889-899.

DUKE A.J., DUKE P.A.K. et DUCCELLIE J.L. ; 2008 ; DUKE'S HANDBOOK of Medicinal Plants of the Bible, Ed: CRC PRESS; p: 394 – 397

Eberhard, T., Robert, A. et Annelise, L. 2005. Plantes aromatiques:épices, aromates, condiment et leurs huiles essentielles. Ed. Tee & Doc,Paris, 521p.

Elbah D., Etude de deux modèles d'insectes nuisibles coloniaux des milieux urbains : *blattella germanica* (l.) et *drosophila melanogaster* : aspect toxicologique etcomportemental., université badji mokhtar.,2017 : 172.

El Sayed K., Al-Said M.S., El-Ferally F.S. and Ross S.A. (2000). New quinoline alkaloids from *Ruta chalepensis*. *Journal of Natural Products*, 63: 995-7.

Everaerts C., Farine J.P., Brossut R., 1997. Changes of species specific cuticularhydrocarbons profiles in the cockroaches *Nauphoeta cinerea* and *Leucophaea maderae* reared in heterospecific groups. *Entomol. Exp. Appl.* 85 : 145-150.

Fakhfakh N., Zouari S., Zouari M, Loussayef CH. and Zouari N. (2012). Chemical composition of volatile compounds and antioxidant activities of essential oil, aqueous and ethanol extracts of wild Tunisian *Ruta chalepensis* L. (Rutacea). *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(4): 593-600.

Farediah A., Hazar B.M.I. and Mawardi R. (1996). Arborine, a Larval Growth Inhibitor from *Glycoslnis pentaphylla*. *Pertanika Journal of Sciences & Technology*, 4(1): 11-15.

Fishilevich E., Domingos AI., Asahina K., Naef F., Vosshall LB., Louis M., 2005. Comportement Chemotaxis médiée par simples neurones olfactifs larvaires chez la drosophile. *Curr. Biol.* 15 (23) : 2086-2096.

Foughali B.M., Mekerbi K., 2015. Effet du Spinosad sur la fécondité et la fertilité de la *Drosophila melanogaster* . *Mémoire de Master. Université de Annaba.* pp36 .

Fourgeron A.S., 2011. Réponses comportementales et préférences envers les acides gras à longue chaîne chez *Drosophila melanogaster*. Thèse de Doctorat. Université de Bourgogne (Dijon). 126 pp.

Gehring W.J., 1999. La drosophile aux yeux rouges : Gènes et Développement. *Éditions Jacob Odile, N° d'édition : 7381-0696-X.* p 291.

Gérard Delvare et Henri-Pierre Aberlenc,1989 , Laboratoire de Faunistique CIRAD-GERDA, FRANCE ; LES INSECTES D'AFRIQUE , ET D'AMERIQUE TROPICALE , CLES POUR LA RECONNAISSANCE DES FAMILLES : Numéro d'impression : 809106(17-18)

Gerber, B., and Stocker, R.F. (2006). The *Drosophila* Larva as a Model for Studying Chemosensation and Chemosensory Learning: A Review. *Chem Senses* 32, 65–89.

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

Giridhar A., Chawla A., Jain S., Jain N. and Giridhar S. (2010). Acridone alkaloids-A brief review. *International Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 1(12): 1-16.

Ghislain BELLIART-GUERIN 2015 Etude du rappel des Mémoires à Long Terme chez *Drosophila melanogaster* .. 'Université Paris VI..pp 264

Gill S.S., Cowles E.A., Pietrantonio P.V., 1992. The mode of action of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxins. *Ann. Rev. Entomol.* 37: 615-636.

Gołębiowski M., M. I. Boguś., M. Paszkiewicz., P. Stepnowski., 2011. Cuticular lipids of insects as potential biofungicides: methods of lipid composition analysis. *Analytical and bioanalytical chemistry* **399**(9):3177-3191.

Goudey-Perrière F., Perrière C., 1974. Guide de travaux pratiques de Zoologie et de Biologie Animale. Centre de documentation universitaire. Vol 2.

Green M., Heumann M., Sokolow R., Foster L. R., Bryant R., Skeels M., 1990. Public health implication of the microbial pesticide *Bacillus thuringiensis*: an epidemiological study, Oregon, 1895-86. *Am. J. Public Health* **80**, 848-852.

GREENSPAN.J et J. F. FERVEUR., 2000 : Courtship in *Drosophila*. *Annu Rev Genet*, **34**:205–232, 2000.

Griffiths A.J.F., Miller J.H., Suzuki D.T., Sanlaville C., Lewontin R.C., Gelbart W.M., 2002. Introduction à l'analyse génétique. 3e édition De Boeck Université. ISBN 2744500976, 9782744500978. p38.

Gropeaux J.C., 1994. Comportement sexuel de *Diploptera punctata* (Dictyoptera, Blaberidae) : Approche éthologique. Mémoire de diplôme d'études approfondies de Biologie. Université Paris XIII. 18 pp

Goudoum A. 2010. Impact des huiles essentielles sur le potentiel technologique et nutritionnel des grains et farine de maïs au cours du stockage. Thèse de Doctorat, ENSAI, Université de Ngaoundéré, Cameroun, 180 p.

Grundon M.F. and Okely M. (1979). A new quinoline alkaloid from *Ruta graveolens*. *Phytochemistry*, **18** : 1768-1769.

Guedes, R. N. C., Smagghe, G., Stark, J. D., & Desneux, N. (2016). Pesticide- induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs. *Annual review of entomology*, **61**, 43-62. Gutbrod, P., Gutbrod, K., N

Günaydin K. and Savci S. (2005). Phytochemical studies on *Ruta chalepensis* (Lam) Lamarck. *Natural Product Research*, **3**(19): 203–210.

Habbachi W., 2009. Étude de deux espèces de Blattellidae *Loboptera decipiens* & *Blattella germanica* (L.) : Reproduction et Comportement Sexuel. Mémoire de magister en biologie et

physiologie environnementale Option: Éco-Éthologie. Université Badji Mokhtar Annaba.pp 88.

Habbachi W., Benhissen S., Ouakid M.L., Farine J.P., 2013. Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala* (L.) (Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera-Drosophilidae). *Algerian journal of arid environment*. 3(1) : 82-88.

Habbachi W., Bensafi H., Adjami Y., Ouakid M.L., Farine J.P., Everaerts C., 2010. Spinosad Affects Chemical Communication in the German Cockroach, *Blattella germanica* (L). *J. Chem. Ecol*, 35 (12) : 1384-1410.

Habbachi W; Daas H; Ouakid M. L ; Farine J-P ; Bairi A., 2014- Effets de *Bacillus thuringiensis* sur la mortalité et le développement de la mouche de vinaigre, *Drosophila melanogaster* (Diptera, Drosophilidae) : Cas de la souche sauvage de la région de Annaba. *Tunisian journal of medicinal plants and natural products (TJMPNP)*. 11 (1): 08 – 14.

Habbachi S., Cheddadi N., 2016. Effets des éthanoïques de *peganum harmala* sur la mortalité, le développement et le comportement de *drosophila melanogaster* . *Mémoire de Master. Université de Annaba. pp52.*

HALL. J C.,1994 : The mating of a fly. *Science*, 264:1702–1714, 1994.

Hallmann, C. A., Sorg, M., Jongejans, E., Siepel, H., Hofland, N., Schwan, H., Stenmans, W., Müller, A., Sumser, H., Hörren, T., Goulson, D., & de Kroon, H. (2017). More than 75 percent decline over 27 years in total flying insect biomass in protected areas *PloS One*, 12(10),. e0185809.

Hammiche V., 1990. Usages traditionnels des plantes spontanées d'El Goléa. Actes du colloque de l'Association Française pour la conservation des espèces végétales, Mulhouse.

Hammiche V., Maiza K., 2006. Traditional medicine in Central Sahara: Pharmacopoeia of Tassili N'ajjer. *Journal of Ethnopharmacology* 105, 358–367.

Harrop, T. W., Sztal, T., Lumb, C., Good, R. T., Daborn, P. J., Batterham, P., & Chung, H. (2014). Evolutionary changes in gene expression, coding sequence and copy -number at the *cyp6g1* locus contribute to resistance to multiple insecticides in *Drosophila*. *PLoS One*, 9(1), e84879

Heimbeck G., Bugnon V., Gendre N., Haberlin C., Stocker R.F., 1999. Smell and taste perception in *Drosophila melanogaster* larva: Toxin expression studies in chemosensory neurons.

Heinrichs, E.A. & Mochida, O. 1984. From secondary to major pest status: the case of insecticide-induced rice brown planthopper *Nilaparvata lugens*, resurgence. *Protection Ecology*, 7(2-3): 201–218.

Hershey A.E., Shannon L., Axler R., Ernst C., Mickelson P., 1995. Effects of methoprene and *Bti* (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) on non-target insects. *Hydrobiologia*. 308 : 219-227. *Neuroscience*, 19: 6599-6609.

Heusser S., Dupuy H.G., 2004. Biologie animale : Les grands plans d'organisation. 2e édition, *DUNOD*. p 142.

Himour W., Bouchama N., 2012. Effet insecticides de trois produits naturels : *Bacillus thuringiensis* var *kurstaki*, *Daphné gnidium* et *Peganum harmala* (L.) à l'égard des mouches de vinaigre *Drosophila mélanogaster* (Diptera ; Drosophilidae). Essais Toxicologiques & Effet sur le Développement. Mémoire de Master. Université de Annaba 50 pp.

Habbachi S., Cheddadi N., 2016. Effets des éthanoïques de *peganum harmala* sur la mortalité, le développement et le comportement de *drosophila melanogaster*. *Mémoire de Master. Université de Annaba. pp52.*

Habbachi W., Benhissen S., Ouakid M.L., Farine J.P. & Bairi A., 2014. Toxicity of aqueous extracts from Mediterranean plants on *Culex pipens* (Mosquitoes). Case of *Daphne gnidium* (*Thymelaeaceae*) and *Peganum harmala* (*Zygophyllaceae*). *J. Wulfenia*, 21(12): 244-252.

Haynes K.F., 1988. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Ann. Rev. Entomol*, 33: 149-168.

I.N.A.P.G, 1997. Administration Institut National Agronomique Paris Grignon. Drosozone.

Comportement et génétique de la drosophile.

Joly D., Dejonghe B., Luck., 2003. Les spermatozoïdes géants de la drosophile. Laboratoire Population, *Génétiques et Evolution, Insectes* 25-29 N° 128 (1).

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

Jolivet P., 1980. Les insectes et l'homme. Presse Universitaire de France, collect. *Que saisje*. 1: 127 pp.

JOHNSON. T.1999., “ Ethnobotany desk reference”, CRC Press Boca Raton London, New York, Washington, D.C., USA 730.

KAR A.; 2007; Pharmacognosy and Pharmabiotechnologie; Ed 2: NEW AGE INTERNATIONAL PUBLISHERS; p: 1-30.

Kaiser L., 1999. Le comportement des insectes. Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S), 35 (suppl.) : 136-147. Section 4 : Comportement

Kemassi A., Bouziane N., Boual Z., Ould El Hadj M. D., 2014. Activité biologique des huiles essentielles de *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) et de *Cleome arabica* L. (*Capparidaceae*) sur *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). *Phytothérapie*, vol 12(6) : 348-353.

KETOH G. K., GLITHO I. A., KOUMAGLO H. K. 2004. Activité insecticide comparée des huiles essentielles de trois espèces du genre *Cymbopogon* genus (Poaceae). *J. Soc. Ouest-Afr. Chim.*, 18, pp: 21-34

Kim M.S., Yu H.S., Kim H.C., 1995. Studies on relative densities of cockroach population in 7 different habitas by using stuchy – traps in suwon. *Korean J. Appel. Entomol.* 34 (4) : 391-542.

Klopper J., Harrison M. & Brewer J., 1979. The association of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* and *Erwinia carotovora* var. *carotovora* with insects in Colorado. *Am. Potato J.* 56: 351-361.

Kostyukovsky, M., Chen, B., Atsmi, S., & Shaaya, E. (2000). Biological activity of two juvenoids and two ecdysteroids against three stored product insects. *Insect biochemistry and molecular biology*, 30(8-9), 891-897

Kreher S.A., Kwon J.W., Carlson J.R., 2005. The molecular basis of odor coding in the *Drosophila* larva. *Neuron*, 46: 445-456.

KRIEF Sabrina., 2003 métabolites secondaires des plantes et comportement animal : surveillance sanitaire et observations de l'alimentation de chimpanzés (*pan troglodytes schweinfurthii*) en ouganda activités biologiques et étude chimique de plantes consommées.

Kumar S., Chandra A., Pandey K.C., 2008. *Bacillus thuringiensis* (Bt) transgenic crop: An environment friendly insect-pest management strategy. *Journal Of Environmental Biology* 29, 641-653.

LE MOINE E. ; 2001 ; Les Plantes : Aromatiques et Médicinales; Ed : MOLIERE (Paris); p : 92.

Lacey L.A., Siegel J.P., 2000. Safety and ecotoxicology of entomopathogenic bacteria. In: Charles J.-F., Delécluse A. and Nielsen-LeRoux C., eds. "Entomopathogenic Bacteria: From laboratory to field application". 253-273.

Lacey R., 2007. Relationship drivers of Customer commitment. *J. Marketing Theory Practice*. 15: 315-333.

Larsson M.C., Domingos A.I., Jones W.D., Chiappe M.E., Amrein H., Vosshall L.B., 2004a. Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron*, 43 : 703-714.

LAUREN MARIE-CLAUDE 2007 université du québec à montréal études biologiques et toxicologiques de pesticides utilisés en pomiculture québécoise sur le prédateur acarien *anystis baccarum* (l.) et analyse critique des dispositifs d'évaluation canadien et amérlicain de la toxicité des pesticides.

LASBLEIZ, J.F. FERVEUR et C. EVERAERTS.,2006 : Courtship behavior of *Drosophila melanogaster* revisited. *Anim. Behav.*, 72:1001–1012, 2006.

Lecointre G., Le-Guyader H., 2001. Classification phylogénétique du vivant. 3e édition, Belin, ISBN 2-7011-4273-3. p 559.

- Lebouz I., 2010.** Activité biologique des extraits foliaires de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) chez *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae). Mém. Mag. Université de Biskra. 165p
- Lereclus D., Delécluse A., Lecadet M.M., 1993 .** Diversity of *Bacillus thuringiensis* toxins and genes. In: *Bacillus thuringiensis*, an Environmental Biopesticide: theory and practice (Edited by P.F. Entwistle, J.S. Cory, M.J. Bailey and S. Higgs). Wiley, New York. 37-69.
- Lockey K. H., 1988.** Lipids of the insect cuticle: origin, composition and function. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry* **89**(4):595-645.
- Louat F., 2013.** Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle. *Drosophila melanogaster*. Thèse de Doctorat. Université d'Orléans. 224 pp..
- Lyon W.F., 1997.** German cockroach. Ohio State University Extension Fact Sheet Entomol.
- Maazouzi ., Dilmi., 2012.** Effet de trois biopesticides: le *Bacillus thuringiensis var kurstaki*, *Daphné gnidium* et *Peganum harmala* (L.) sur le déroulement des séquences comportementales sexuelles conduisant à un accouplement chez *Drosophila mélanogaster*. Mémoire de Master. Université de Annaba. 40 pp.
- MANSOUR.S, TARIQ.A, YAHYA.M, RAFATULLAH.S, GINNAWLO and AGEEL.A.M,2009.,** J. Ethnopharmacol, 28 (305-312). Afrique SCIENCE 05(1) (2009) 67 - 81 Salima MERGHACHE et al. 81
- Marin, E.C., Watts, R.J., Tanaka, N.K., Ito, K., and Luo, L. (2005).** Developmentally programmed remodeling of the *Drosophila* olfactory circuit. *Development* 132, 725–737.
- MARKOW.T A et P. M. O'GRADY.,2005 :** Evolutionary genetics of reproductive behavior in *Drosophila* : connecting the dots. *Annu Rev Genet*, 39:263–91, 2005.
- Martin P.A.W., 1994.** An iconoclastic view of *Bacillus thuringiensis* ecology. *Am. Entomol.* 40(1): 85-90.
- Masna F., 2016.** Inventaire de la faune Blattoptère urbaine et forestière dans la région aride de Laghouat. Caractérisation des principales espèces nuisibles et essais de lutte. Thèse de Doctorat en Ecologie Animale. Université Badji Mokhtar d'Annaba, Algérie. 94 pp.
- Massaux., 2006.** Cycle biologique de la drosophile. Expert: Dominique Joly.

Messéan, A., L -Pelzer, E., Bockstaller, M., Lamine, C., Angevin, F. (2010). Outils dévaluation et d'aide à la conception de stratgies innovantes de protection des grandes cultures. *Innovations Agronomiques*, 8, pp 69-81.

MERGHACHE S., HAMZA M., et TABTI B., 2009. Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis L.* de Tlemcen, Algérie. *Afrique science*, 5(1), pp : 67 – 81

Megally N.Y., Swelam E.S. and Emam A.M. (2009). Furocoumarin and Quinolone Alkaloid with Larvicidal and Antifeedant Activities Isolated from *Ruta chalepensis* Leaves. *Journal of Natural Products*, 2: 10-22.

Mehaoua M. S., 2014. Abondance saisonnière de la pyrale des dattes (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller., 1839), bioécologie, comportement et essai de lutte. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie. 109 pp.

Mejri J., Abderrabba M. and Mejri M. (2010). Chemical composition of the essential oil of *Ruta chalepensis L.*: Influence of drying, hydro-distillation duration and plant parts. *Industrial Crops and Products*, 32: 671–673.

Merad Chiali, R. 1973. Contribution à la Connaissance de la Pharmacopée Traditionnelle Algérienne , Thèse de Doctorat d'état en Pharmacie . Institut Des Sciences Médicales, p101-370.

Mertz F. P., Yao R. C., 1990. *Actinomadura fibrosa sp. nov.* isolated from soil. *Int. J. Syst. Bacteriol*, 40 (1) : 28-33.

MOHAMMEDI, Zohra 2013. Etude Phytochimique et Activités Biologiques de quelques Plantes médicinales de la Région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Diss

McClintock J.T., Schaffer C.R., Sjoblad R.D., 1995 . A comparative study of the mammalian toxicity of *Bacillus thuringiensis*-based pesticides. *Pesticide Science*, 45: 95-105.

Mioulane P. ; 2004 ; Encyclopédie Universelle des 15000 plantes et fleurs de jardins ; Larousse ; Ed : PROTEA ; p : 7-50.

Mohr N., Budzikiewicz H., El-Tawil B.A.H. and El-Beih F.K.A. (1982). Further Furoquinolone Alkaloids from *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry*, 7(21): 1838-1839.

Moro Buronzo, A. 2008. Le Grand Guide des Huiles Essentielles. Santé, Beauté, Bien être, Ed. HACHETTE PRATIQUE, p14- 43.

Nadarasah G., & Stavrinides J., 2011. Insects as alternative hosts for phytopathogenic bacteria. *FEMS. Microbiol. Rev*, 35: 555-575.

OLIVA A et al; 2003; Natural fungicides from *Ruta graveolens* L. leaves, including an quinolone alkaloid; *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51; p: 890- 896.

Oppliger F.Y., Guerin P.M., Vlimant M., 2000. Neurophysiological and behavioural evidence for an olfactory function for the dorsal organ and a gustatory one for the terminal organ in *Drosophila melanogaster* larvae. *Journal of Insect Physiology*, 46 : 135-144.

Organic Materials Review Institute., 2002. Spinosad. Available from http://www.ormi.org/spinosad_final.pdf.

Ozenda P., 1991. Flore et végétation du Sahara. 3e Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris, pp : 39-96.

Pavan M., 1986. Una revolutione. Cultural. Europea. La “carta sugli invertebrate” delonsiglio d’europa. P ubblicazioni dell’ Institute entonologico, Universita di Pavia, 33 :1-51.

Philogène B.J.R., 1991. L’utilisation des produits naturels dans la lutte contre les insectes : problèmes et perspectives. *La lutte anti-acridienne. Ed. AUPELF-UREF. John Libbey Eurotext*, Paris. 269-278.

Python, F.O., and Stocker, R.F. (2002). Adult-like complexity of the larval antennal lobe of *D. melanogaster* despite markedly low numbers of odorant receptor neurons. *J Comp Neurol* 445, 374– 387.

Rageau J., 1958. Possibilité de lutte contre les mouches en Nouvelle-Calédonie. Paris (FRA) ; Nouméa : Ostom ; Institut Française d’Océanie. 9 pp.

Regis L., Silva-Filha M.H., Nielsen-LeRoux C., Charles J.F., 2001 . Bacteriological larvicides of dipteran disease vectors. *Trends In Parasitology*. 17, 377-380.

Regnaut- Roger. C.et Hamraoui, A., 1997. Phytothérapies par les plantes aromatiques et leurs allélochimiques, lutte contre les insectes, revue *Acta Bor*, université de pau et des pays de l’Adar, p 402.

- Said I G., Costagliola I., Leoncini C., Rivault., 2005a.** Cuticular hydrocarbon profiles and aggregation in four *Periplaneta* species (Insecta: Dictyoptera). *Journal of insect physiology* **51**(9):995-1003.
- Said I., Gaertner C., Renou M., Rivault C., 2005b.** Perception of cuticular hydrocarbons by the olfactory organs in *Periplaneta americana* (L.) (Insecta: Dictyoptera). *Journal of insect physiology* **51**(12):1384-1389.
- Slack J., 2004.** Biologie du développement. 1ère édition. De Boeck.p 481.
- SEKKAT M., 1996. *Ruta chalepensis*: Composition chimique et activités insecticides. Thèse de Troisième Cycle (DES), Faculté des Sciences, Rabat, Maroc, pp : 23-27
- Salgado V.L., Sheets J.J., Watson G.B., Schmidt A.L., 1998.** Studies on the mode of action of spinosad: the internal effective concentration and the concentration dependence of neural excitation. *Pest. Biochem. Physiol.*, **60** : 103 - 110.
- Soberón, M., Pardo-López L., López I., Gómez I., Tabashnik B., Bravo A., 2007.** Engineering modified *Bt* toxins to counter insect resistance. *Science* **318**, 1640e1642.
- Sparks T.C., Thompson G.D., Kirst H.A., Hertlein M.B., Larson L.L., Worden T.V., Thibault S.T., 1998** .Biological activity of the spinosyns, new fermentation derived insect control agents, on tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *J. Econ. Entomol.*, **91** : 1277 – 1283.
- Sparks, T. C., & Nauen, R. (2015).** IRAC : Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide biochemistry and physiology* **121**, 122-128.
- SPIETH .TH., 1952** : Mating behavior within the genus *Drosophila* (diptera). *Bull. Am. Museum Nat. His.*, **99**:395–474.
- Stark, J. D., & Banks, J. E. (2003).** Population-level effects of pesticides and other toxicants on arthropods, *Annual review of entomology*, **48**(1), 505-519.
- Stocker R.F., 1994.** The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. *Cell Tissue Res.* **275**, 3–26.

Salima Merghache*, **Mounia Hamza et Boufeldja TABTI**, Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemcen, Algérie *Afrique SCIENCE 05(1) (2009) 67 – 81*.

RAAD Hussein 2013 Rôle et fonctionnalité des récepteurs gustatifs dans les ailes de drosophiles UNIVERSITE DE NICE-SOPHIA ANTIPOLIS - UFR Sciences Ecole Doctorale de science de la vie et de la santé.

Rafalimanana H.J., 2004. Évaluation des effets d'insecticides sur deux types types D'Hyménoptères auxiliaires des cultures, l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) et des parasitoïdes de pucerons : Études de terrain à Madagascar et de laboratoire en France. Thèse de Doctorat en Ecologie et Environnement. Institut National Agronomique Paris-Grignon, France. 207 pp.

REGNAULT-ROGER C., PHILOGÈNE B. J. R., VINCENT C., 2008. Biopesticides d'origine végétale. 2 ème Ed, Lavoisier, 546p.

Roth L.M. & Willis E.R., 1960. The Biotic Association of cockroaches. Smithsonian Institute Miscellaneous Collection.141: 1-470.

SPIETH.,1952 : Mating behavior within the genus *Drosophila* (diptera). Bull. Am. Museum Nat. His., 99:395–474, 1952.

Stocker R.F., 1994. The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. Cell Tissue Res. 275, 3–26.

STURTEVANT 1915 : Experiments on sex recognition and the problems of sexual selection in *Drosophila*. Animal Behaviour, 5(1):351–366, 1915.

Svoboda K. et Svoboda T.; 2000; Secretory structures of aromatic and medicinal plants; Ed: MICROSCOPIX PUBLICATIONS; p: 7-12.

Tavernier R ., Lizeaux C., 2002. Sciences Vie Terre Term S – Spec. Maisonneuve & Larose. ISBN 2047295858, 9782047295854, 113, 116, 117.

Terhzaz S., 2003. Caractérisation de deux neuropeptides chez *Drosophila melanogaster*: la leucokinine et l'IFamide. Thèse de Doctorat en Neurosciences et Neuropharmacologie. Université Bordeaux I, France. 211 pp.

TCHOUMBOUGNANG F., DONGMO P. M. J., SAMEZA M. L., MBANJO E. G. N., FOTSO G. B. T., ZOLLO P. H. A., MENUT C., 2009. Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 13(1), pp: 77- 84.

Thomas W.E., Ellar D.J., 1983. *Bacillus thuringiensis var. israelensis* crystal b-endotoxin: effects on insect and mammalian cells *in vitro* and *in uiuo*. *Journal of Cell Science* 60. 181-197.

Thompson G. D., Dutton R., Spaek T. C., 2000. Spinosad – A Case Study: An exemple from a natural products discovery programme. *Pest Menage Sci*, 56 : 696-702.

Thompson G., Hutchins S., 1999. Spinosad. *Pestic Outlook*, 10 : 78-81

Toma, L., Menegon, M., Romi, R., De Matthaeis, E., Montanari, M., & Severini, C. (2011). Status of insecticide resistance in *Culex pipiens* field populations from north- eastern areas of Italy before the withdrawal of OP compounds. *Pest management science*, 67(1),100-106.

Tomlin C., 2000. The pesticide manual. 12th ed. British Crop Protection Council. London. United Kingdom.

Tounsi M.S., Wannas W.A., Ouerghemmi I., Msaada K., Smaoui A. and Marzouk B. (2011). Variation in essential oil and fatty acid composition in different organs of cultivated and growing wild *Ruta chalepensis* L. *Industrial Crops and Products*, 33: 617–623.

Tracqui P., Demongeot J., 2003. *Eléments de biologie à l’usage d’autres disciplines de la structure aux fonctions : De la structure aux fonctions.* EDP Sciences Editions, 94-95.

Tags. A. S., 2007. Révision *Drosophile*. Blog politique d’Adrien.

Ulubelen A. and Tan N. (1990). A Moskachan From Roots of *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry*, 12(29): 399-3992. Ulubelen A. and Terem B. (1988). Alkaloids and Coumarins from roots of *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry*, 2(27): 650 651. Ulubelen A., Terem B., Tuzlaci E., Cheng K.F. and Kong Y.C. (1986). Alkaloids and coumarins from *Ruta chalepensis*. *Phytochemistry*, 11(25): 2692-2693.

ULUBELEN.A, B. TEREM, E. TUZLACI, F.K. CHENG and Y.C. KONG,1986., *Phytochemistry*, 25(2692-2693)

Vaillant J., Derridj S., 1992. Statistic analysis of insect preference in tow-choise expriments. *J. Insect Behav*, 5: 773-781.

Van Zweden J. S & P. D’Ettorre., 2010. Nestmate recognition in social insects and the role of hydrocarbons. *In : Insect hydrocarbons: biology, biochemistry and chemical ecology.* G. J. Blomquist & A. G. Bagneres (eds), Cambridge University Press, Cambridge, 222-243.

Van Naters W.V., J. R. Carlson., 2006. Insects as chemosensors of humans and crops. *Nature*, 444, 302-307.

Vaquette J., Hifnawy M.S., Pousset J.L., Fournet A., Bouquet A. et Cavé A. (1976). Alcaloïdes d’Araliopsis soyauxii. Isolement d’un nouvel alcaloïde, l’Araliopsine. *Phytochemistry*, 15: 743-145.

VON SCHILCHER.,1976 : The role of auditory stimuli in *Drosophila melanogaster*. *Anim. Behav*, 24:18–26, 1976.

Vosshall L.B., Stocker R.E., 2007. Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila*. *Annual Review of Neuroscience*, 30, 505-533.

Waterman P.G. (1975). Alkaloids of the Rutaceae: their distribution and Systematic Significance, *Biochemical Systematics and Ecology.* *Biochemical Systimatics and ecology*, 3: 149 to 180.

Wuart C.; 2006; *Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future?* ; Ed: World scientific; p: 401 - 416.

Who., 1982. World Health Organization: Mammalian safety of microbial agents for vector control: a WHO memorandum. *Bulletin of World Health Organization.* 59: 857-863.

Werthein B., Van Baalen E.J.A., Dicke M., Vet L.E.M., 2005. Pheromone-mediated aggregation in nonsocial arthropods: an evolutionary ecological perspective. *Annu. Rev. Entomol*, 50 : 321-346.

WIART C.; 2006; *Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future?*; Ed: WORLD SCIENTIFIC ; p: 401 - 416.

Wigglesworth V.B., 1972. the principles of insect physiology. Seventh Edition Chapman and Hall. 827p.

Wilson E.O., 1988. The current state of biological diversity; In: E O. Wilson.biodiversity. P.3-18. Washington DC: National Academy Press. Parasitologia, Ornithologia, Entonologia.Institute of ecology, Vilnius. ISSN 13926.

Wolpert., 2004. Biologie animale : Les grands plans d'organisation. 2e édition, *DUNOD*,p 142.

Yeza A., 2005. Conception d'une stratégie de production opérationnelle de biopesticide à base de *Bacillus thuringiensis* utilisant /es boues d'épuration comme subsfrat de fermentation. Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique.

Annexe
(Production scientifique)

EVALUATION OF INSECTICIDE EFFECTS OF *Ruta chalepensis* ETHANOLIC EXTRACT ON MORTALITY, SEXUAL BEHAVIOUR AND OVIPOSITION OF *Drosophila melanogaster* (DIPTERA: DROSOPHILIDAE)

AMRANI Saliha¹, HABBACHI Sarra², BENHISSEN Saliha², REBBAS Khellaf³, HABBACHI Wafa²

Eco-biology of marine and coastal environments laboratory. Department of Biology, Faculty of Sciences,
University Badji Mokhtar Annaba 23000, Algeria¹

Applied Neuroendocrinology Laboratory. Department of Biology, Faculty of Sciences, University Badji
Mokhtar Annaba 23000, Algeria²

Laboratory of Agro-Biotechnology and Nutrition in Arid and Semi-Arid Zones / Research Team for
Management of Natural Resources and Environment. Ibn Khaldoun University, Tiaret, Algeria³



ABSTRACT— The synthesis of pesticides has advanced significantly over the past century. Synthetic pesticides, on the other hand, have swiftly proven to be aggressive toward non-target creatures, such as helpful insects, animals, and people, in addition to their persistence in nature, which upsets ecological balances. This paper describes the toxic effects of *Ruta chalepensis* (*Rutaceae*) ethanolic extract on *Drosophila melanogaster* courtship and course of sexual behavior, mortality of *Drosophila melanogaster* larvae (determination of lethal concentrations and lethal times), and choice of oviposition environment and reproduction in this fly's adults. The plant's aqueous extract inhibits both mating and reproduction.

KEYWORDS: *Drosophila melanogaster*, *Ruta chalepensis*, ethanolic extract, mortality, sexual behavior, oviposition.

1. Introduction

Pesticides are a major factor affecting biodiversity, along with habitat loss and climate change. They can have short-term toxic effects on organisms directly exposed to them, or long-term effects. This has resulted in a marked decline in populations of many species living in agricultural areas [7]. Insecticides can enter the human food chain in many ways, but it is not only humans that are at risk, but also the environment and natural resources, such as soil and water [1].

Plants are therefore an interesting source of new compounds in the search for bioactive molecules. [13]. *Ruta chalepensis* is an aromatic plant, belonging to the Rutaceae family, commonly called by the local population "Fidjel". It is spontaneous, widely answered in North Africa, particularly in Algeria. It is frequently found in rock gardens, lawns and dry hillsides [8].

By examining immediate and delayed effects on *D. melanogaster* sexual behavior and oviposition, this study aims to assess the toxicity of *R. chalepensis* ethanolic extracts.

2. Materials and methods

2.1 Insect

It is an easy-to-grow, resilient, forgiving, and unobtrusive organism that can be utilized to address a variety of scientific questions. The wild strain was created from rotten apples that were found in the Algerian province of Annaba. Glass tubes of 9.5 cm in length and 2.25 cm in diameter are used for rearing, and they have a nutrient-rich agar media comprised of cornmeal and brewer's yeast within. The culture is maintained at a temperature of 25 °C, a humidity of 70 to 80 %, and a scotophase of 12 hours.

2.2 *Ruta chalepensis*

Ruta chalepensis is an aromatic plant, belonging to the *Rutaceae* family, commonly called by the local population "Fidjel". In North Africa, especially Algeria, it is frequently and spontaneously answered. It can frequently be found in arid hillsides, lawns, and rock gardens [8]. Pharmacological investigations have shown that the ethanolic extract of the plant of the aerial part of *Ruta chalepensis* has anti-inflammatory and antipyretic activity [21]. It contains essential oils, which are volatile chemicals with a distinct aroma that are made up of molecules generated by specific plants; the phrase "volatile" refers to how quickly essential oils evaporate. [23] particular specialized plant tissues, where it is generated and stored. They are in charge of the plant's distinctive odor [10].

2.3 Extraction

For the extraction of the leaves of *R. chalepensis* we macerated 84.70 g in powder in 200 ml of 70% ethanol for 24 hours at room temperature and in the shade. After filtration, the filtrate obtained was evaporated using a Rotavapor at a temperature of 50°C with speed number 2. A stirrer (a bar) was placed to eliminate the ethanol solvent. The paw recovered after maceration weighed 1.34 g of the paw, making a stock solution of 6.7 µg/ml which was kept at 4°C until use.

2.4 Treatment

The larvae were treated by ingesting medicine. 10 ml of the solution for each concentration was distributed over four tubes containing 40 g of food. From the bulk rearing, twenty early 2nd instar larvae (L2) were chosen at random and put into each tube. A fifth tube with no therapy is injected with twenty larvae as a control.

2.5 Effect on mortality

Five concentrations are examined after preliminary tests: 0.25/ 0.50/ 1/ 1,5/ 2 /and 2.5 g/ml. The larval development and death are observed throughout a 15-day period (time necessary to finish the development). Following that, fatal doses and timings (LC50, LC90, TL50, and TL90) were computed.

2.6 Effect on sexual behaviour and oviposition choice

80 pairs of control and sublethal-treated *Drosophila* (0.50 g/ml) that were isolated at emergence after four different crosses—control male x control female (20 pairs), treated male x control female (20 pairs), and treated male x treated female (20 pairs)—were used for sexual behavior assays (20 pairs).

These tests are conducted in a dry tube with ambient temperature and humidity in a room that is completely sealed off from any outside noise. We record which partner approaches the other, when the first contact occurs, and how many times it occurs. Additionally, the number of songs and licks used by the male to induce copulation is noted. The timing of several mating efforts that resulted in mating or did not result in mating, as well as the quantity and length of successful or unsuccessful courtships, are noted.

In plastic boxes with two culture media: control and treatment with 0.50 g/ml, placed at the bottom of each box, fertilized females are filtered out individually. These will be recovered after 48 hours so that the precision of the chosen medium may be used to count the eggs laid under a stereoscope.

2.7 Data analysis

Finney's mathematical formulas were used to calculate lethal concentrations (LC50% and LC90%) and lethal times (LT50% and LT90%) for the extract used in the toxicological investigation (Finney, 1971). We compared the variances of the "k" samples of the various parameters evaluated in this study using the statistical analysis application XLStat 2009. (Addinosoft NY).

3. Results

3.1 Effects on mortality

The results recorded in table (01) summarize the different toxicological parameters of the ethanolic extracts of *R. chalepensis*. These show that there is a strong positive correlation between the mortality rate and the exposure time to the ethanolic extract of *R. chalepensis* ($R= 0.82$ to 0.97). Our results indicate that the TL50% is 22.91 days for the low concentrations and 13.80 days for the highest concentration. The TL90% reaches 77.62 days for the 0.50 µg/ml concentration (TAB.1.A).

The results also show that there is a very weak positive correlation between the mortality rate and the concentrations of the ethanolic extract of *R. chalepensis* after 10 days of treatment ($R=0.12$). While a correlation between mortality and concentrations used from the 5th day until the end of the treatment was recorded. After 15 days of treatment the lethal concentration LC50% is 0.57 µg/ml while the LC90% is 208.93 µg/ml (TAB.1.B).

Table 1: Toxicological parameters of *R. chalepensis* towards *D. melanogaster*

A				
Concentrations	Regression	R	LT50% (jours)	LT90% (jours)
0,25 µg/ml	$Y=-1,20+5,07X$	0,97	16,59	29,51
0,50 µg/ml	$Y=1,77+2,38X$	0,84	22,91	77,62
1 µg/ml	$Y=2,19+2,24X$	0,82	17,78	66,07
1,50 µg/ml	$Y=-1,23+5,43X$	0,96	13,80	13,99
2 µg/ml	$Y=-1,27+5,22X$	0,95	15,13	28,18
2,50 µg/ml	$Y=-1,26+5,51X$	0,94	13,80	23,44
B				
Days	Regression	R	LC50% (µg/ml)	LC90% (µg/ml)
2	$Y=1,01-0,52X$	0,12	$2,1 \times 10^{-8}$ µg/ml	$7,41 \times 10^{-11}$ µg/ml
5	$Y=3,29+0,41 X$	0,78	$1,48 \times 10^4$ µg/ml	$1,95 \times 10^7$ µg/ml
10	$Y=3,82+0,89X$	0,42	20,89µg/ml	575,43 µg/ml
15	$Y=5,12+0,50X$	0,66	0,57µg/ml	208,93 µg/ml

3.2 Effect of *R. chalepensis* on sexual behaviour

The results obtained show that the longest time to first orientation is recorded in couples with control males and treated females (0.50µg/ml) with an average of 453.37 ± 116.23 seconds, and the fastest mating time in the same couples with 476.50 ± 141.22 seconds. (Tab 2)

The results shown in table 2 show that in the treated male and female couples there is always a decrease in

the number of repetitions of the majority of the different sequences of sexual behavior (orientation 6.80 ± 1.37 touching 3.30 ± 0.53 vibration 7.95 ± 1.25 licking 2.63 ± 0.49 and number 2.17 ± 0.36 of mating attempts). The average duration of mating in the control adults was recorded as 1999.88 ± 153.95 seconds (Tab. 2). The comparison of variances shows that there is no significant difference between the recorded times (F_{obs} : 0.745; p : 0.531).

Table 2: Effect of *R. chalepensis* (0,50 μ g/ml) on courtship and different sequences of sexual behavior.

	First orientation time	First contact time	First vibration Time	First licking Time	First attempt Time	Coupling Time
♂C X♀C	193,95 ± 66,96	266,25 ± 68,78	273,55 ± 67,01	434,40 ± 83,77	442,60 ± 82,79	676,82 ± 107,17
♂R.c X♀R.c	377,25 ± 92,37	575,05 ± 113,96	433,60 ± 99,55	642,74 ± 122,58	672,56 ± 120,18	562,46 ± 135,17
♂C X♀R.c	453,37 ± 116,23	469,94 ± 107,91	479,53 ± 118,48	641,83 ± 117,27	639,75 ± 115,99	476,50 ± 141,22
♂R.c X♀C	228,65 ± 62,19	383,40 ± 95,14	281,75 ± 76,44	533,11 ± 99,67	638,00 ± 130,22	480,00 ± 145,87
F_{obs}	3,503	2,681	3,086	1,482	1,641	0,234
P	0,019*	0,053	0,032*	0,227	0,188	0,872
	Orientation number	Contacts number	Vibrations number	Licks number	Attempts number	Mating time
♂C X♀C	9,45 ± 1,30	4,85 ± 0,57	17,30 ± 2,39	4,90 ± 1,17	3,80 ± 0,99	1999,88 ± 153,95
♂R.c X♀R.c	6,80 ± 1,37	3,30 ± 0,53	7,95 ± 1,25	2,63 ± 0,49	2,17 ± 0,36	1082,39 ± 133,66
♂C X♀R.c	9,58 ± 1,31	6,22 ± 1,09	13,32 ± 2,18	2,77 ± 0,63	2,56 ± 0,56	948,00 ± 225,09
♂R.c X♀C	7,55 ± 1,77	3,75 ± 0,99	11,75 ± 2,66	2,74 ± 0,65	2,89 ± 0,98	1113,54 ± 129,13
F_{obs}	0,579	2,932	3,952	1,411	1,207	0,745
P	0,630	0,039*	0,011*	0,247	0,314	0,531

[♂C: Control Male; ♂R.c: Male treated with *R. chalepensis*; ♀C: Control female; ♀R.c: Female treated with *R. chalepensis*] (*: Significant, **: Highly significant, ***: Verry highly significant)

3.3 Effect on oviposition

For this part we kept the results of the crossbreeding of the control couples carried out in the previous part and we carried out three other crossbreeding: treated couples whose females are attracted by both environments (control and treated), however the statistical analysis gives an average of 37.80 ± 4.93 eggs laid by the females and 28.15 ± 2.33 larvae in the control environment, and in the treated environment we recorded an average of 28.35 ± 2.71 eggs and 22.10 ± 2.68 for the larvae (Tab 3).

While in the couples, where at least one of the two individuals was treated, a decrease in the number of larvae and eggs laid in the two environments was noted in comparison to that marked for the control couples. In the couples where the female was treated, 33.05 ± 4.08 eggs and 23.00 ± 2.72 larvae were counted in the control environment and 37.05 ± 4.23 eggs and larvae 23.25 ± 2.12 . While for the couples where the male is treated 46.55 ± 4.62 eggs and 32.95 ± 3.87 larvae were recorded in the control medium and 28.05 ± 3.32 eggs and larvae 19.20 ± 2.18 (Tab 3).

Table 3: Effect of *R. chalpensis* (0,50 μ g/ml) on oviposition site selection in *D. melanogaster*.

Couples	The control eggs number	The treated eggs number	t_{obs}	P
♂C X♀C	68,10 ± 6,63	46,75 ± 3,33	2,878	0,007**
♂R.c X♀R.c	37,80 ± 4,93	28,35 ± 2,71	1,680	0,101
♂C X♀R.c	33,05 ± 4,08	37,05 ± 4,23	-0,681	0,500
♂R.c X♀C	46,55 ± 4,62	28,05 ± 3,32	3,250	0,002**
Couples	The control larvae number	The treated larvae number	t_{obs}	P

♂C X ♀C	38,45 ± 3,03	26,80 ± 2,25	3,087	0,004
♂R.c X ♀R.c	28,15 ± 2,33	22,10 ± 2,68	1,700	0,097*
♂C X ♀R.c	23,00 ± 2,72	23,25 ± 2,12	-0,072	0,943
♂R.c X ♀C	32,95 ± 3,87	19,20 ± 2,18	3,095	0,004**

[♂C: Control Male; ♂R.c: Male treated with *R. chalepensis*; ♀C: Control female; ♀R.c: Female treated with *R. chalepensis*] (*: Significant, **: Highly significant, ***: Verry highly significant)

4. Discussion

Insects play a variety of epidemiological roles, which makes them a serious public health issue [4], [14]. Generally speaking, neither *D. melanogaster* adults nor those of other drosophile species pose a threat to people [15]. Insecticide use has increased significantly over the past 50 years, causing significant environmental damage [19].

Significant advancements in the synthesis of pesticides were made last century. In addition to their persistence in nature, which disturbs ecological balances, synthetic pesticides have quickly demonstrated their aggressiveness toward organisms that are not targeted, including beneficial insects, mammals, and humans. Over the past few years, a new strategy has emerged. We have been evaluating alternative substances like biopesticides because of the environmental risks associated with the widespread use of conventional insecticides [24].

The focus of this study is the biological activity of aqueous and ethanolic extracts of the supposedly toxic plant in the context of the search for plant-derived bioactive molecules effective in the fight against the mouche of the vinaigre *D. melanogaster* and the *germanic leaf B. germanica*. Our goal in studying *R. chalepensis* is to ascertain both its toxic and differential effects on *D. melanogaster*. This ornamental plant is found in gardens; it is thought to be mellow and its presence keeps insects away. She pushes the insects away. [18] and is used to combat the tick parasites gale and the tick [9].

In this work, we tested the impact of the ethanol extract 0,25 µg/ml 0,50 µg/ml 1 µg/ml 1,50 µg/ml 2 µg/ml and 2,50 µg/ml Our ability to demonstrate that *D. melanogaster* larvae are sensitive to *R. chalepensis* extracts through eating on wine bottle corks allowed us to record an up to 100% larval mortality rate.

These results are consistent with previous research from several studies [16], [12]. The larvicide activity of the ethanolic extract of *R. chalepensis* is progressive since we see an increase in mortality as exposure time increases to a maximum level, and these mortality rates are strongly correlated with exposure time. These findings are similar to those reported by [3], [5] pertaining to plant effects *Nicotiana glauca* Graham (*Solanaceae*) on the mosquito *Culiseta longiareolata*. [16]. Indiquent une activité larvicide des extraits des plantes contre le moustique *Culex pipiens*. [20] have shown a toxic effect of *P. harmala* on mosquitoes.

The many behaviors of insects are primarily governed by a collection of nervous system-controlled motor actions in response to chemical cues from outside sources (food, sex pheromones, alarm pheromones, aphrodisiac secretions, gregarious pheromones,...) [17].

This study shown that the ethanolic extract of *R. chalepensis* has an impact on *D. melanogaster* fly mating and entirely alters adult *Drosophila* behavioral patterns. This might be caused by a change in the flies cuticular profile. Pairs treated with the ethanol extract of *Ruta chalepensis* in oviposition experiments showed a striking reduction in the quantity of eggs deposited.

Recently, several studies have been carried out indicating the effect of plants on sexual and oviposition behavior as well as on reproduction (fecundity and fertility) of insects; such as the inhibitory effect of *Peganum harmala* and *Daphne gnidium* on oviposition behavior and reproduction in *Culex pipiens* [2], [6]. The harmel plant is the most studied, studies indicate its effect on the sexual behavior of *B. germanica* [22] and feeding behavior, sexual behavior and oviposition behavior of *D. melanogaster* [15], [11].

5. Conclusion

We conducted a toxicological study using the ethanolic extract of *R. chalpensis* towards the larvae of the 2nd stage in order to determine the impact of this molecule on the vinegar fly. We demonstrated that treatment of the adults with the sublethal concentration (0,50 g/ml) of the plant extract disrupted the adult's ability to reproduce. The study demonstrates that treating adults disrupts the mating patterns of the species and the behavior of oviposition. It also demonstrates that treating adults causes a considerable drop in the quantity of eggs and larvae in the treated couples.

6. References

- [1] Alexandre Charles Kiss 1973, La protection de l'environnement et les organisations européenne , Annuaire francais des droits internationales ;19, pp 895-921.
- [2] Benhissen S., 2016. Identification, composition et structure des populations Culicidiennes de la région d'Ouled-Djellal (Biskra). Effet des facteurs écologiques sur l'abondance saisonnière. Essais de lutte. Doctoral These. University of Annaba (Algeria). 126 Pp.
- [3] Benhissen S., Rebbas K., Habbachi W., Masna F., 2018. Bioactivity of *Nicotiana glauca* Graham (Solanaceae) and its toxic effects on *Culisetalongiareolata*(Diptera; Culicidae). International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy. 9 (1): 123-126.
- [4] Berge., 1975. International catalogue of Arboviruses, including certain other viruses of Vertebrates. US Depart. Hlth. Educ. And Welfare. Public.N°75-8301,2 edition.
- [5] Benhissen S., Rebbas K., Habbachi W., Masna F., 2018. Bioactivity of *Nicotiana glauca* Graham (Solanaceae) and its toxic effects on *Culisetalongiareolata*(Diptera; Culicidae). International Journal of Research in Ayurveda and Pharmacy. 9 (1): 123-126.
- [6] Benhissen S., 2016. Identification, composition et structure des populations Culicidiennes de la région d'Ouled-Djellal (Biskra). Effet des facteurs écologiques sur l'abondance saisonnière. Essais de lutte. Doctoral These. University of Annaba (Algeria). 126 Pp.
- [7] Boatman ND, et al 2007. Impacts of agricultural change on farmland biodiversity in the UK, In: Hester RE, and Harrison RM (eds), Biodiversity under threat, RSC Publishing, Cambridge, pp. 1-32.
- [8] BENISTON W. N., 1984. Fleurs d'Algérie. Ed. Entreprise Nationale du livre, Alger, 359 p
- [9] Bonnier G., 1999. La Grande Flore en Couleur; Ed : BELIN; Tome 3; p:205 – 206. octospinosus (Reich) d'une sélection de plantes à usages ethnopharmacologiques TRAMIL. Thèse de Doctorat. Université des Antilles et de la Guyane, France. 169 pp.
- [10] Eberhard, T., Robert, A. et Annelise, L. 2005. Plantes aromatiques:épices, aromates, condiment et leurs

huiles essentielles. Ed. Tee & Doc, Paris, 521p.

[11] Elbah D., Habbachi W., Ouakid M.L., Tahraoui A., 2016. Sublethal effects of *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) on sexual behavior and oviposition in fruit fly *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 4(6): 638-642.

[12] Elbah D., 2017. Etude de deux modèles d'insectes nuisibles coloniaux des milieux urbains : *blattella germanica* (L.) et *drosophila melanogaster* : aspect toxicologique et comportemental., université badji mokhtar : 172.

[13] Goudoum A. 2010. Impact des huiles essentielles sur le potentiel technologique et nutritionnel des grains et farine de maïs au cours du stockage. Thèse de Doctorat, ENSAI, Université de Ngaoundéré, Cameroun, 180 p.

[14] Jolivet., 1980. Les insectes et l'homme. PUF, collect. Que sais-je ?, 128 PP

[15] Habbachi S., Cheddadi N., 2016. Effets des éthanoïques de *peganum harmala* sur la mortalité, le développement et le comportement de *drosophila melanogaster* . Mémoire de Master. Université de Annaba. pp52.

[16] Habbachi W., Benhissen S., Ouakid M.L., Farine J.P. & Bairi A., 2014. Toxicity of aqueous extracts from Mediterranean plants on *Culex pipens* (Mosquitoes). Case of *Daphne gnidium* (Thymelaeaceae) and *Peganum harmala* (Zygophyllaceae). *J. Wulfenia*, 21(12): 244 252.

[17] Kaiser L., 1999. Le comportement des insectes. *Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S)*, 35 (suppl.) : 136-147. Section 4 : Comportement

[18] LE MOINE E., 2001. Les Plantes : Aromatiques et Médicinales; Ed : MOLIERE (Paris); p : 92.

[19] Louat F., 2013. Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle. *Drosophila melanogaster*. Thèse de Doctorat. Université d'Orléans. 224 pp.

[20] Mahmoudian M., Jalilpour H., Salehian P., 2002. Toxicity of *Peganum harmala*, Review and a Case Report. *Iranian Journal of Pharmacology and Therapeutics*, 1 (1), 1-4.

[21] MANSOUR. S , M.A. TARIQ, M.A. YAHYA, S. RAFATULLAH, O.T. GINNAWI and A.M. AGEEL. 1981. *J. Ethnopharmacol*, 28 (1990) 305-312. .

[22] Masna F., 2016. Inventaire de la faune Blattoptère urbaine et forestière dans la région aride de Laghouat. Caractérisation des principales espèces nuisibles et essais de lutte. Thèse de Doctorat en Ecologie Animale. Université Badji Mokhtar d'Annaba, Algérie. 94 pp.

[23] Moro Buronzo, A. 2008. *Le Grand Guide des Huiles Essentielles*. Santé, Beauté, Bien être, Ed. HACHETTE PRATIQUE, p14- 43.

[24] Ouakid M.L., 2006. Bioécologie de *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) dans les subéraies d'El Tarf : comportement alimentaire et essais insecticides. Thèse de Doctorat d'État en Sciences Naturelles.

Université Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 150 pp.



This work is licensed under a Creative Commons Attribution Non-Commercial 4.0 International License.



Université Mostefa BEN BOULAID - Batna 2
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



Association Biologie, Biodiversité et Durabilité "BBD"

L'Organisation Internationale de La Lutte Biologique et Intégrée "OILB-SROP"

ATTESTATION DE COMMUNICATION

Nous soussignons, le président du CILBIAI et le président du comité scientifique du "Premier Colloque International sur la Lutte Biologique et Intégrée en Algérie", tenu du 4 au 6 février 2019 à l'université Mostefa Ben Boulaïd (Batna 2), attestent que :

Mme. Saliha AMRANI

Co-auteur (s) : Sara HABBACHI; Saliha BENHISSEN; wafïa HABBACHI & A TAHRAOUI

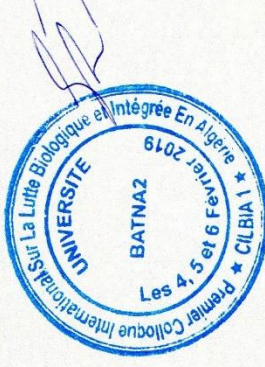
Ont présenté une communication: **Affichée**

Intitulée : EFFETS DES EXTRAIT AQUEUX DE RUTA CHALEPENSIS (RUTACEAE) SUR LE COMPORTEMENT D'OVIPOSITION DE DROSOPHILA MELANOGASTER (DIPTERA ; DROSOPHILIDAE)

Le Président du comité scientifique



Le Président du CILBIAI



Association Tunisienne
de Biotechnologie et
Valorisation des Bio-Ressources

Tunisian Association
of Biotechnology
and Bio-Resources Valorization

ATTESTATION DE PARTICIPATION

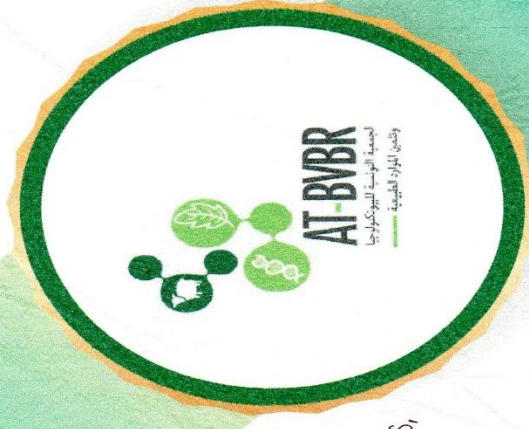
Le Président de l'AT-BVBR, atteste que

AMRANI SALIHA

a présenté au VI^{ème} congrès international de Biotechnologie et Valorisation des Bio-Ressources,
organisé par l'AT-BVBR du 20 au 23 Mars 2019 à Tabarka - Tunisie, une communication
par affiche intitulée:

**EFFETS DIFFERE DE RUTA CHALEPENSIS (RUTACEAE) SUR LE COMPORTEMENT ALIMENTAIRE DE
DROSOPHILA MELANOGASTER**

AMRANI Saliha, HABBACHI Sara, BENHISSEN Saliha, REBBAS K, HABBACHI Wafaa, TAHRAOUI Abdelkrim



Président de l'AT-BVBR
Prof. Mohamed Lamjed MARZOUKI

M. J. Amrani