



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE DOCTORAT

Spécialité: BIOLOGIE ANIMALE

Intitulé

**IMPACT DES MIMETIQUES DE L'HORMONE DE MUE
(RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) SUR LA
REPRODUCTION D'UN MODELE DE LABORATOIRE
Ephestia kuehniella (LEPIDOPTERA : PYRALIDAE) APRES
TRAITEMENT DES MÂLES.**

Presentée par : M^{me} SELMANE-MESKACHE RANIA.

Membres de Jury:

Pr .SOLTANI . N	Président	Université Badji Mokhtar -Annaba
Pr. SOLTANI-MAZOUNI. N	Directeur de thèse	Université Badji Mokhtar -Annaba
Pr. DOUMANDJI-MITICHE. B	Examineur	ENSA (Alger)
Pr. LAAMARI. M	Examineur	Université de Batna
Pr. KELLOUCHE . A	Examineur	Université deTizi-Ouzou
Pr. ARIBI . N	Examineur	Université BadjiMokhtar -Annaba

Année universitaire: 2014

Je dédie ce travail

A la mémoire de mes chers parents

A mon mari pour sa patience et son aide précieuse

A mes enfants : Omar, Aymen et Akram

Et à tous ceux que j'aime.

Remerciements

Je tiens à remercier avant tout, Dieu, le tout puissant pour m'avoir aidé à terminer ce travail malgré tous les problèmes de la vie, mon âge avancé et surtout mes nombreuses responsabilités.

J'exprime toute ma gratitude et ma reconnaissance à monsieur Nouredine SOLTANI, Professeur (Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Université d'Annaba) qui a suivi toutes mes recherches tout au long de ces années. J'ai eu le privilège de l'avoir pour guide depuis le diplôme de graduation, et magister. Aujourd'hui, je le remercie encore une fois car il me fait l'honneur de présider ce jury et aussi pour son aide, sa disponibilité et surtout sa patience.

Ma profonde et sincère gratitude et reconnaissance s'adressent à mon directeur de thèse Mme Nadia SOLTANI-MAZOUNI Professeur (Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Université d'Annaba) pour avoir accepté de diriger ce travail. Je ne saurais assez la remercier pour sa gentillesse, sa patience, sa compréhension et surtout son entière disponibilité tout au long de ce travail.

Je remercie infiniment madame Bahia DOUMANDJI-MITICHE Professeur (ENSA, Alger) pour m'avoir fait l'honneur d'évaluer et d'examiner ce modeste travail.

Je tiens également à remercier monsieur Malik LAAMARI Professeur (Département d'Agronomie, Université de Batna) d'avoir pris de son temps et accepté de juger ce travail.

Mes remerciements vont également à monsieur Abdallah KELLOUCHE Professeur (Université de Tizi-Ouzou) qui a bien voulu accepter de faire partie de ce jury et de juger ce travail.

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération vont à Melle Nadia ARIBI Professeur (Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Université d'Annaba) qui a bien accepté d'être membre de ce jury. Je la remercie aussi pour ses encouragements, son soutien moral et son infinie gentillesse.

Mes remerciements les plus sincères vont à tous mes amis et collègues du département de Biologie et du Laboratoire que je ne peux citer un par un : je suis fière de faire partie de ce département et je suis sûre que mes sentiments sont partagés. Merci à tous et que Dieu vous garde.

SOMMAIRE

1. Introduction	01
2. Matériel et méthodes.....	07
2.1. Présentation de l'insecte et cycle de développement.....	07
2.2. Insecticides et traitement.....	10
2.3. Détermination du potentiel reproducteur.....	13
2.4. Morphométrie des œufs.....	13
2.5. Morphométrie du testicule	13
2.6. Techniques histologiques.....	14
2.7. Composition biochimique des testicules.....	16
2.7.1. Dosage des métabolites testiculaires.....	16
2.7.2. Dosage des acides nucléiques.....	19
2.7.3. Dosage des ecdystéroïdes.....	21
2.8. Analyse statistique des données.....	24
3. Résultats.....	25
3.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur les évènements du potentiel reproducteur.....	25
3.1.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la période de préoviposition.....	25
3.1.2. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la période d'oviposition.....	27
3.1.3. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la fécondité.....	28
3.1.4. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la viabilité.....	29
3.1.5. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la durée de développement embryonnaire.....	31
3.2. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la taille des œufs.....	32
3.3. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le poids et la taille du testicule.....	36
3.3.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le poids du testicule.....	36
3.3.2. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la taille du testicule	37
3.4. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la structure du testicule.....	41
3.5. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la composition biochimique du testicule	43
3.5.1. Impact sur le taux des métabolites.....	43
3.5.2. Impact sur le taux des acides nucléiques.....	50
3.5.3. Impact sur le taux des ecdystéroïdes.....	55

4. Discussion	57
4.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur les événements du potentiel reproducteur.....	57
4.2. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la taille des œufs.....	60
4.3. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le poids, la taille et la structure du testicule.....	61
4.4. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la composition biochimique du testicule.....	63
4.4.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur les métabolites testiculaires.....	63
4.4.2. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur les acides nucléiques testiculaires.....	66
4.4.3. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur les ecdystéroïdes testiculaires.....	68
 Conclusion et perspectives.....	 70
 Résumés	
Français	72
Anglais	74
Arabe	76
 Références Bibliographiques	 78

ANNEXE : Production scientifique (publication et communications).

Liste des figures

Figure 1. Les différents groupes des régulateurs de croissance.....	04
Figure 2. Cycle de développement d' <i>Ephestia kuehniella</i> à 27°C.....	09
Figure 3. Formules de structure de l'hormone de mue et de quelques agonistes des ecdystéroïdes (d'après Dhadialla <i>et al.</i> , 1998).....	12
Figure 4. Extraction des protéines glucides et lipides selon Shibko <i>et al.</i> , 1966.....	18
Figure 5. Principales étapes d'extraction des acides nucléiques : ADN, ARN selon Shibko <i>et al.</i> , 1966.....	20
Figure 6. Principe du dosage EIA (d'après Porcheron <i>et al.</i> , 1989).....	22
Figure 7. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la période de préoviposition d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m±SD ; n=6) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	26
Figure 8. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la période d'oviposition d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m±SD ; n=6).Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	27
Figure 9. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la fécondité d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m±SD ; n=6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	28
Figure 10. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la viabilité des œufs d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m±SD ; n=6) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	30
Figure 11. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la durée du développement embryonnaire d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n= 6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	31
Figure 12. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la longueur des œufs d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n= 6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	33
Figure 13. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la largeur des œufs d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n= 6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	34

Figure 14. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le volume (mm ³) des œufs d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n= 6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	35
Figure 15. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le poids (mg) du testicule d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n= 10). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	37
Figure 16. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la longueur (µm) du testicule d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n= 10). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	38
Figure 17. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la largeur (µm) du testicule d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n= 10). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	39
Figure 18. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le volume (mm ³) du testicule d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n= 10). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	41
Figure 19 : Structure histologique du testicule d' <i>Ephestia kuehniella</i> A : Témoin ; B : Traités RH-5849 ; C : Traités RH-5992 ; D : Traités RH-0345 et E : Traités RH-2485.(x 600). T: tube séminifère; P: paroi du tube; L: lumière du tube; S: cellules spermatiques.....	42
Figure 20. Dosage des protéines dans le testicule de l'adulte d' <i>Ephestia kuehniella</i> âgé de 0 jour : droite de régression exprimant l'absorbance à 595nm en fonction de la quantité d'albumine standard.....	44
Figure 21. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés <i>in vivo</i> par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des protéines totales testiculaires (µg/mg) chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> (m±SD ; n=4).....	45
Figure 22. Dosage des lipides dans le testicule de l'adulte d' <i>Ephestia kuehniella</i> âgé de 0 jours: droite de régression exprimant l'absorbance à 530 nm en fonction de la quantité de l'huile de table.....	46
Figure 23. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des lipides totaux testiculaire (µg/mg) chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> (m±SD ; n=4).....	47
Figure 24. Dosage des glucides dans le testicule de l'adulte d' <i>Ephestia kuehniella</i> âgé de 0 jours: droite de régression exprimant l'absorbance à 620 nm en fonction de la quantité de glucose (µg)...	48
Figure 25. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des glucides totaux testiculaire (µg/mg) chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> (m±SD ; n=4).....	49
Figure 26. Dosage des acides désoxyribonucléiques (ADN) dans le testicule de l'adulte d' <i>Ephestia kuehniella</i> âgé de 0jour: droite de régression exprimant l'absorbance à 602nm en fonction de la quantité d'ADN (µg).....	51

- Figure 27.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés *in vivo* par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux d'ADN testiculaire ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ; ($m \pm \text{SD}$; $n=4$).....**52**
- Figure 28.** Dosage des acides ribonucléiques (ARN) dans le testicule de l'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jours : droite de régression exprimant l'absorbance à 660nm en fonction de la quantité d'ARN (μg).....**53**
- Figure 29.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux d'ARN testiculaire ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ($m \pm \text{SD}$; $n=4$).....**54**
- Figure 30.** Dosage EIA des ecdystéroïdes libérés par le testicule d'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jour. Courbe de référence établie avec un anticorps polyclonal (B de lapin) et exprimant B/B_0 en fonction des concentrations molaires (M) d'ecdysone (E).....**55**
- Figure 31.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ecdystéroïdes testiculaire (pg/mg de testicules) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ($m \pm \text{SD}$; $n=4$).....**56**

Liste des tableaux

- Tableau 1.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la période de préoviposition d'*Ephestia kuehniella*. (m ± SD ; n=6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....**25**
- Tableau 2.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*E. kuehniella* sur la durée de la préoviposition (jours) : analyse de la variance (m ± SD ; n = 6).....**26**
- Tableau 3.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la période d'oviposition d'*Ephestia kuehniella*. (m ± SD ; n = 6) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....**27**
- Tableau 4.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-2485, RH-5992, RH-0345 et RH-5849) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur la durée d'oviposition (jours): analyse de la variance (m±SD ; n=6)..... **27**
- Tableau 5.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la fécondité d'*Ephestia kuehniella*. (m ± SD ; n=6) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....**28**
- Tableau 6.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia. kuehniella* sur la fécondité des femelles : analyse de la variance (m±SD ; n=6).....**29**
- Tableau 7.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la viabilité des œufs d'*Ephestia kuehniella*. (m±SD ; n=6) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....**29**
- Tableau 8.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur la viabilité des oeufs : analyse de la variance (m ± SD ; n=6).**30**
- Tableau 9.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la durée du développement embryonnaire d'*Ephestia kuehniella*. (m± SD ; n=6) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....**31**
- Tableau 10.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur la durée du développement embryonnaire : analyse de la variance. (m±SD ; n=6).....**31**
- Tableau 11.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la longueur (µm) des oeufs d'*Ephestia kuehniella*. (m ± SD ; n=6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....**32**

Tableau 12. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-5849) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>E. kuehniella</i> sur la longueur des oeufs : analyse de la variance. (m ± SD ; n=6).....	33
Tableau 13. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la largeur (µm) des oeufs d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n=6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	34
Tableau 14. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur la largeur des oeufs : analyse de la variance. (m ± SD ; n=6).....	34
Tableau 15. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le volume (mm ³) des oeufs d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n=6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	35
Tableau 16. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur le volume des oeufs : analyse de la variance. (m ± SD ; n=6).....	36
Tableau 17. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le poids (mg) du testicule d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n=10). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	36
Tableau 18. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur le poids du testicule : analyse de la variance. (m ± SD ; n=10).....	37
Tableau 19. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la longueur (µm) du testicule d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n=10). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	38
Tableau 20. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur la longueur du testicule : analyse de la variance. (m ± SD ; n=10).....	38
Tableau 21. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la largeur (µm) du testicule d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n=10) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	39
Tableau 22. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur la largeur du testicule : analyse de la variance. (m ± SD ; n=10).....	40
Tableau 23. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le volume (mm ³) du testicule d' <i>Ephestia kuehniella</i> . (m ± SD ; n=10) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).....	40

Tableau 24. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur le volume du testicule : analyse de la variance. (m ± SD ; n=10).....	41
Tableau 25. Dosage des protéines dans le testicule de l'adulte d' <i>Ephestia kuehniella</i> âgé de 0 jour : réalisation de la gamme d'étalonnage.....	43
Tableau 26. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés <i>in vivo</i> par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des protéines totales testiculaire (µg/mg) chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> (m±SD ; n=4 ; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes P> 0,05).....	44
Tableau 27. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur le taux des protéines totales testiculaires : analyse de la variance.....	45
Tableau 28 : Dosage des lipides dans le testicule adulte d' <i>Ephestia kuehniella</i> âgé de 0 jour: réalisation de la gamme d'étalonnage.....	46
Tableau 29. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des lipides totaux testiculaire (µg/mg) chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> (m±SD ; n=4 ; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes P> 0,05).....	47
Tableau 30. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur le taux des lipides totaux testiculaires : analyse de la variance.....	47
Tableau 31: Dosage des glucides dans le testicule d' <i>Ephestia kuehniella</i> adulte âgé de 0 jours: réalisation de la gamme d'étalonnage	48
Tableau 32. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des glucides totaux testiculaires (µg/mg) chez les adultes d' <i>Ephestia kuehniella</i> (m±SD ; n=4 ; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes P> 0,05).....	49
Tableau 33. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur le taux des glucides totaux testiculaire : analyse de la variance.....	50
Tableau 34 : Dosage des acides désoxyribonucléiques (ADN) dans le testicule de l'adulte d' <i>Ephestia kuehniella</i> âgé de 0 jour: réalisation de la gamme d'étalonnage.....	50
Tableau 35. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur le taux d'ADN testiculaire (m ±SD ; n=4 : Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes p> 0,05).....	51
Tableau 36. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés <i>in vivo</i> par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> sur le taux d'ADN testiculaire : analyse de la variance.....	52
Tableau 37: Dosage des acides ribonucléiques (ARN) dans le testicule de l'adulte d' <i>Ephestia kuehniella</i> âgé de 0 jour: réalisation de la gamme d'étalonnage.	52

Tableau 38. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux d'ARN testiculaire ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicule) chez les adultes d'*E. kuehniella* ($m \pm \text{SD}$; $n=4$; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes $p > 0,05$).....**53**

Tableau 39. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur le taux d'ARN testiculaire : analyse de la variance.....**54**

Tableau 40 : Analyse quantitative des ecdystéroïdes libérés *in vivo* par le testicule d'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jour. Courbe de référence établie avec un anticorps polyclonal (B de lapin) et exprimant B/B₀ en fonction des concentrations molaires (M) d'ecdysone.....**55**

Tableau 41 .Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ecdystéroïdes testiculaire (pg/mg de testicule) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ($m \pm \text{SD}$; $n=4$; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes $p > 0,05$).....**56**

Tableau 42. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur le taux des ecdystéroïdes testiculaires : analyse de la variance.....**56**

INTRODUCTION

Introduction

La lutte contre les ravageurs des denrées stockées remonte jusqu'à la récente histoire de l'humanité, au moment où l'homme commençait à stocker ses denrées alimentaires afin de subvenir à ses besoins pendant les périodes difficiles où la nourriture se faisait rare. L'homme doit sans relâche protéger ses réserves alimentaires contre une multitude de concurrents, parmi lesquels les insectes. Toutes les denrées stockées attirent les insectes qui les mangent plus ou moins régulièrement, en raison de leur valeur nutritive. L'homme doit donc protéger sa production agricole, mais il doit bien le faire, notamment en respectant l'environnement et en ne nuisant pas à la santé publique. La qualité des aliments représente une condition vitale pour la nutrition humaine. Les produits agro-alimentaires doivent être sains, nutritifs et stables dans le temps. Les céréales, constituant l'alimentation de base de la majorité des habitants de la planète, subissent des pertes énormes si les conditions de stockage ne sont pas suffisantes. Chaque année, les récoltes et les denrées stockées subissent des pertes dues aux insectes ravageurs. Près de 20000 espèces d'insectes menacent la production agricole mondiale (McEwin, 1978) et détruisent une bonne partie des céréales et des légumineuses vivrières cultivés dans les pays en développement d'Afrique et d'Asie (Cilss, 2009).

Les insectes sont donc parmi les organismes qui ont su le mieux développer diverses stratégies comportementales et physiologiques afin de s'adapter à leur environnement en développant une résistance vis-à-vis de différents types d'insecticides, causant ainsi des problèmes d'environnement et de santé en incluant la pollution (Brévault *et al.*, 2009). Les capacités de reproduction des insectes, souvent impressionnantes, leur ont permis de devenir le groupe zoologique le plus abondant et le plus varié du règne animal. La connaissance des mécanismes qui contrôlent la reproduction ou le développement de ces animaux présente donc à la fois un intérêt économique des plus importants. La diversité des modes de reproduction (Thornhill & Alcock, 1983) et la complexité des mécanismes physiologiques qui leur sont associées sont à l'image de ces adaptations. Bien que le système nerveux de l'insecte soit à l'origine de l'orchestration des activités reproductrices, le système endocrinien n'en joue pas moins un rôle clé. En effet, de nombreuses études réalisées sur divers ordres d'insectes ont démontré l'implication de l'hormone juvénile, de l'ecdysone (les deux hormones régissant la métamorphose chez les

insectes), ainsi que certaines neurohormones dans le contrôle de la physiologie reproductive (Barth & Lester, 1973 ; Koeppe *et al.*, 1985 ; Hagedorn, 1985 ; Raina & Klun, 1984 ; Davies *et al.*, 2006).

Wigglesworth en 1936, fût le premier à démontrer l'activité de l'hormone juvénile, sécrétée par les corps allates et son implication dans la reproduction chez *Rhodnius prolixus*. Or, ce n'est que quarante ans plus tard que l'ecdysone fût identifiée dans les ovaires des femelles chez le moustique *Aedes aegypti* (Hagedorn *et al.*., 1975) et ainsi suspectée de jouer un rôle dans la reproduction des insectes.

Les glandes prothoraciques, source majeure d'ecdystéroïdes durant le développement larvaire, dégénèrent chez beaucoup d'espèces d'insectes après la dernière mue larvaire ou pendant le stade adulte (Srivastava, 1960 ; Romer, 1971 ; Glitho *et al.*., 1979 ; Aribi, 1997). Il existe également d'autres organes pouvant produire les ecdystéroïdes chez les insectes comme les oenocytes, les sternites (Delbecque *et al.*, 1990 ; Spindler *et al.*, 1991 ; Kelly *et al.*, 1992 ; Asahina *et al.*, 1994) et l'épiderme (Soltani *et al.*, 1997). Les testicules des mâles (Loeb *et al.*, 1982 ; 1984), tout comme les ovaires des femelles (Hagedorn, 1985) se sont avérés être également une source d'ecdysone. Plusieurs rôles au niveau du système reproducteur mâle ont été attribués à l'ecdysone. En effet, l'ecdysone est nécessaire à la différenciation des disques génitaux et à la maturation des différentes structures de l'appareil reproducteur mâle (Grimmes & Happ, 1987 ; Shinbo & Happ, 1989 ; Loeb & Hakim, 1991). Egalement, de nombreuses expériences ont démontré que l'ecdysone accélère la division mitotique durant les premiers stades de la spermatogénèse (Dumser & Davey, 1975 ; Dumser, 1980 ; Szopa *et al.*., 1985) ainsi que la différenciation et la croissance des glandes accessoires (Gallois, 1989 ; Shinbo & Happ, 1989) chez plusieurs endoptérygotes. Par ailleurs, chez les lépidoptères, l'ecdysone régule également la production des deux types de spermatozoïdes : les Eupyrènes nucléées qui fertilisent l'œuf et les Apyrènes anuclées qui jouent un rôle d'assistance (Osanaï *et al.*, 1987 ; Fredländer, 1997).

En effet, une augmentation des ecdystéroïdes stimule la production des Apyrènes (Gelman *et al.*., 1988 ; Kawamura *et al.*, 2003) tandis que l'injection de la 20-HE semble inhiber la libération des *vas deferens* (Thorson & Riemann 1982 ; Gielbutowicz *et al.*, 1990).

Pour diminuer les dégâts causés par les déprédateurs, il est très important d'étudier la reproduction des insectes, car ce phénomène représente un processus très intéressant de leur pullulation (Soltani-Mazouni & Soltani, 1995). Le contrôle de la capacité de leur reproduction est un élément fondamental auquel le physiologiste peut apporter une contribution significative (Berry, 1985). D'importantes études ont été menées dans ce domaine chez les insectes (Wyss-Huber *et al.*, 1972 ; Soltani-Mazouni, 1994). La connaissance des mécanismes qui contrôlent la reproduction ou le développement de ces insectes présente donc à la fois un intérêt fondamental et un intérêt économique des plus importants. La reproduction présente pour l'individu un acte important mettant en jeu des comportements complexes, alors que pour l'espèce, elle est fondamentale en assurant la pérennité. Le potentiel reproducteur dépend de la fécondité des femelles et de la rapidité du développement ; il est généralement important chez les insectes, mais variable selon les espèces et les facteurs de l'environnement que subissent les individus (Lamy, 2001).

La lutte donc contre ces insectes nuisibles, a été réalisée grâce à des méthodes chimiques, utilisant différents types d'insecticides, possédant chacun des caractéristiques physiques et chimiques propres, car le taux de toxicité, la dégradation, la biotransformation ou l'accumulation varient d'un insecticide à un autre (Strong *et al.*, 2000). C'est ainsi que, l'industrie phytosanitaire a développé, ces dernières années des molécules non polluantes agissant de manière sélective en perturbant des éléments vitaux dans le développement des organismes visés (El Sayed *et al.*, 1997 ; Dhadialla *et al.*, 1998). Ces molécules sont des insecticides de la troisième génération appelés régulateurs de croissance ou IGRs (Insect Growth Regulators) interférant, notamment sur les mues, la métamorphose, la reproduction et leur conditionnement endocrinologique (Degheele, 1990 ; Ishaaya, 1990 ; Dhadialla *et al.*, 1998 ; Gäde & Hoffmann, 2005). Ces insecticides se divisent en trois catégories selon leur mode d'action (Figure 1).

- La première catégorie comporte les agonistes et les antagonistes de l'hormone juvénile. Les analogues de l'HJ ou juvénoides agissent sur la sécrétion cuticulaire en induisant des mues larvaires surnuméraires et en prolongeant les durées des stades larvaires et nymphaux (Kiguchi *et al.*, 1984 ; Quennedey *et al.*, 1995 ; Dhadialla *et al.*, 1998) ; ils présentent une efficacité envers plusieurs Coléoptères et Lépidoptères des denrées stockées (Horowitz & Ishaaya, 1996 ; Oberlander *et al.*, 1998 ; Aribi & Lakbar, 2001). Les antagonistes de l'HJ sont

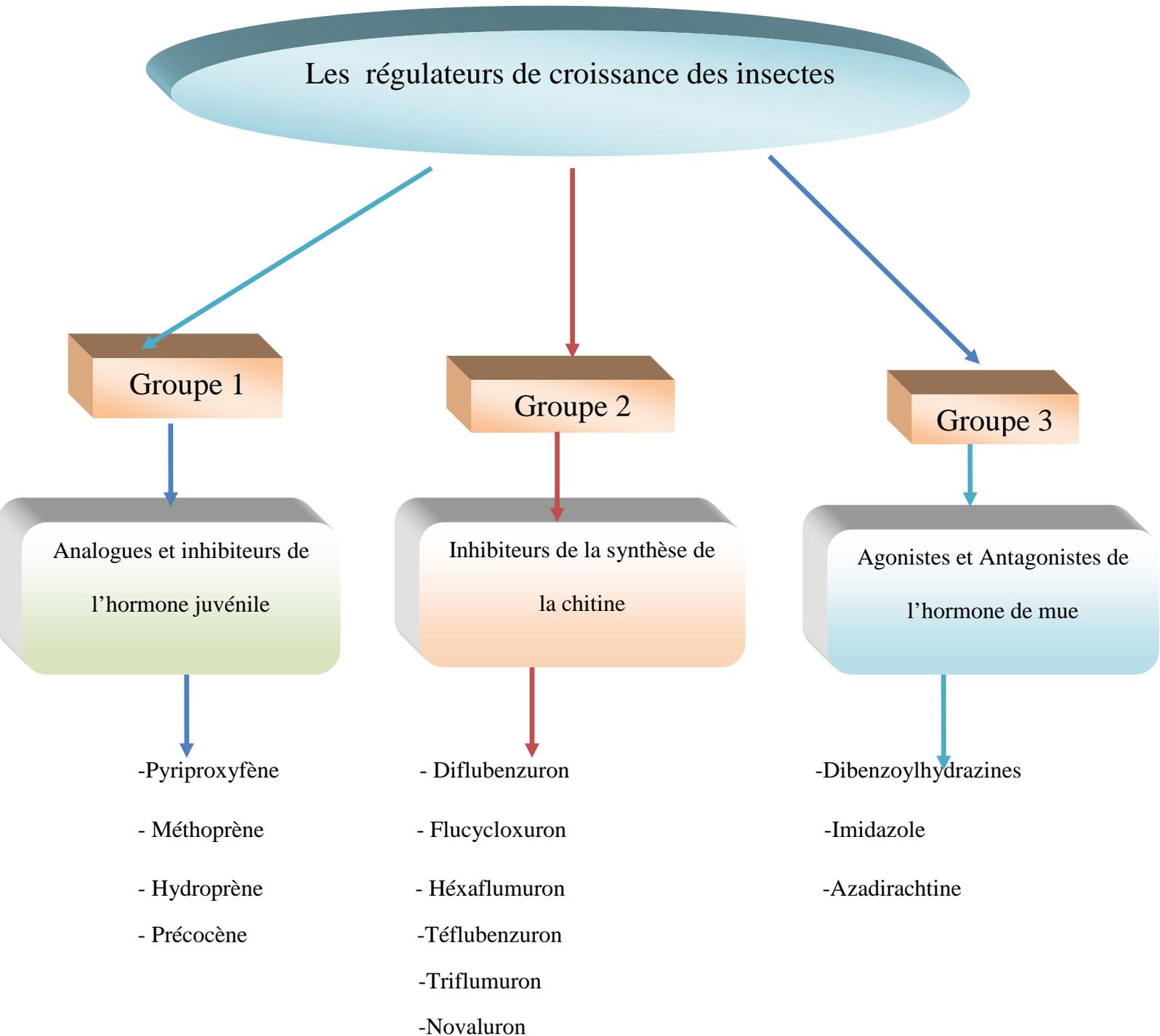


Figure 1. Les différents groupes des régulateurs de croissance.

considérés comme des anti-HJ puissants provoquant une métamorphose précoce (Masner *et al.*, 1979 ; Darvas *et al.*, 1989 ; 1990) ; ils induisent aussi une altération de la maturation des ovaires (Delbecq *et al.*, 1986) .

- La seconde catégorie comporte les inhibiteurs de la synthèse de la chitine qui sont des dérivés de la benzoylphenylurée dont le diflubenzuron (DFB) qui agit sur la sécrétion cuticulaire en réduisant l'épaisseur de la cuticule et en perturbant la synthèse de la chitine (Ishaaya, 1990 ; Soltani *et al.*, 1993 ; 1996) mais aussi la reproduction (Soltani-Mazouni & Soltani, 1995 ; Soltani *et al.* , 1996 ; Chebira *et al.* , 2006) .

-Enfin, la troisième catégorie concerne les agonistes et les antagonistes des ecdystéroïdes. Les antagonistes sont les dérivés de l'imidazole (KK-42 ; KK-22), ils inhibent la synthèse des glandes prothoraciques chez *Bombyx mori*(Koga *et al.*, 1991) et chez *Ostrinia nubilalis* (Gelman *et al.* 1995). Les agonistes sont représentés par les bisacylhydrazines à structure non stéroïdale comme le dibenzoylhydrazine (RH-5849), le tébufénozide (RH-5992), le halofénozide (RH-0345) et enfin le méthoxyfénozide (RH-2485). Ils sont les derniers représentants d'une nouvelle classe d'IGRs (Dhadialla *et al.*, 1998 ; Dhadialla *et al.*, 2005) . Ils miment l'action de l'hormone de mue en se fixant aux récepteurs nucléaires spécifiques des ecdystéroïdes (EcRs) d'une manière compétitive avec les ecdystéroïdes naturels (Wing, 1988 ; Wing *et al.*, 1988 ; Carlson *et al.*, 1994 ; Oberlander *et al.*, 1995) induisent des mues larvaires prématurées et létales (Oberlander *et al.*, 1995 ; 1998 ; Dhadialla *et al.*, 1998). Leur toxicité relative peut-être classée dans l'ordre suivant : RH-2485, RH-5992, RH-0345 et enfin RH-5849 (Smagghe *et al.*, 2002).

Des travaux antérieurs ont montré que les mimétiques des ecdystéroïdes affectent la reproduction généralement en réduisant la fécondité et la viabilité (Taibi *et a l.*, 2003 ; Pineda *et al.*, 2009; Rodriguez-Enriquez *et al.*, 2010 ; Soltani-Mazouni *et al.*, 2012), ou le comportement sexuel (Kilani--Morakchi *et al.*, 2009). Cependant, leur mécanisme d'action sur la reproduction n'est pas encore bien établi. Des travaux récents suggèrent une interférence avec la vitellogénèse (Soltani-Mazouni *et al.* , 2012). Récemment, *E. kuehniella* a fait l'objet de recherches sur les ecdystéroïdes et leur rapport avec la sécrétion de la cuticule au cours de la métamorphose (El Ouar *et al.*, 2010 ; Yezli-Touiker & Soltani-Mazouni, 2010) et les données acquises ont servi de base à des expérimentations sur des adultes femelles d'*E.*

kuehniella en vue d'approfondir le mécanisme d'action de ces nouveaux insecticides sélectifs sur la reproduction (Dhadialla *et al.* , 2005; Pineda *et al.*, 2009; Soltani-Mazouni *et al.*, 2012). De nombreuses études ont été menées à travers le monde sur cet insecte ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*, sur les plans économiques (Belles, 1975 ; Jacob &Cox, 1976), biologiques, morphologiques, physiologiques (Weiranther, 1989 ; Anderson & Hallberg, 1990) et génétiques (Marec & Mirche, 1990 ; Traut & Traut, 1991 ; Pandir & Sahingoz , 2014).

En Algérie, et dans notre laboratoire cet insecte qui est un bon modèle biologique a fait l'objet de plusieurs travaux : Bendjeddou 1993 ; Maamcha, 1997 ; Amrani *et al.*, 2004 ; Amrani & Soltani-Mazouni, 2012 ; Hami, 2005 ; 2013 ; Taibi , 2003 ; 2007 ; Chebira, 2007 ; Khebbab *et al.*, 2008 ; Soltani-Mazouni *et al.*, 2010 ; 2012 .

Très peu de travaux ont été réalisés dans notre laboratoire sur les mâles de ce lépidoptère, ravageur des denrées stockées (Bouzeraa , 2009 ; Bouzeraa & Soltani-Mazouni , 2012; Gaouaoui , 2006) auxquels s'ajoute notre étude réalisée *in vivo* et portant sur l'impact de quatre régulateurs de croissance, le RH-5849, le tébufénozide, le halofénozide et enfin le méthoxyfénozide sur la reproduction.

Notre objectif est donc de poursuivre les études menées par notre laboratoire sur ces insecticides sélectifs sur *Ephestia kuehniella* (Lepidoptère: Pyralidae), après traitement des mâles. Les recherches envisagées comportent deux parties :

- La première partie vise à évaluer l'efficacité comparée de ces quatre insecticides (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) mimétiques de l'hormone de mue sur la reproduction.
- La seconde partie traite de l'impact de ces quatre insecticides sur la composition biochimique (métabolites, acides nucléiques et écdystéroïdes).

MATERIEL
ET
METHODES

2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation de l'insecte et cycle de développement :

Ephestia kueeniella (Zeller) est un insecte holométabole, lépidoptère, de la famille des Pyralidés. C'est un insecte cosmopolite qui existe dans les régions tempérées, notamment la méditerranée. Elle se rencontre dans les silos à grains, les minoteries, les entrepôts...

Sa position systématique est la suivante :

Embranchement	Arthropodes
Sous embranchement	Antennates-Mandibulates
Super classe	Trachéates
Classe	Insectes
Super ordre	Endopterygotes
Ordre	Lépidoptères
Super famille	Pyraloidae
Famille	Pyralidae
Genre	<i>Ephestia</i>
Espèce	<i>kuehniella</i> (Zeller, 1879).

Communément appelé « mite de la farine » *E.kuehniella* est nuisible, provoquant des dégâts considérables essentiellement sur la farine (Doumandji-Mitiche, 1977), mais également sur les grains de céréales, la semoule, les flocons d'avoine, les biscuits, les pâtes alimentaires et exceptionnellement les fruits secs (raisin, figue, abricot). Ce lépidoptère est un nocturne ; durant le jour, il se tient au repos contre les murs ou caché dans la farine (Balachowsky,1972). C'est un matériel biologique commode de laboratoire et passe par quatre états de développement.

L'insecte adulte mesure 15 à 25 mm d'envergure et 7,5 à 15 mm de longueur ; il a une petite tête globulaire et ses ailes antérieures sont grisâtres et satinées, alors que les

ailes postérieures sont finement frangées et blanchâtres. La ponte débute juste après l'accouplement et la durée totale du cycle varie de 25 à 200 jours (Balachowsky, 1972).

A maturité, la larve active, peut atteindre 15 à 20 mm de longueur. Une fois leur développement achevé, les chenilles quittent la source de nourriture et partent à la recherche d'un endroit propre pour se nymphoser à l'intérieur d'un cocon blanc soyeux : la chrysalide donnera des adultes après 8 à 12 jours. La longévité du papillon est de 14 jours. Une seule génération apparaît généralement tous les ans, mais dans des conditions de chaleur, les adultes seront présents tout au long de l'année qui verra défiler 4 à 6 générations.

L'élevage se fait dans des bocaux contenant de la farine et fermés avec du tulle. Les conditions optimales de développement sont une température de 27°C, une humidité relative de 80% et une photopériode de 14h de lumière (Payne, 1966). L'accouplement a lieu quelques heures après l'émergence. Après l'éclosion, ces œufs donnent naissance à des larves qui subissent un nombre variable de mues (5 à 8) selon Balachowsky (1972).

La distinction des sexes est bien visible au stade larvaire où les larves mâles portent des tâches brunes qui sont les testicules. Le cycle biologique est résumé dans la figure 2

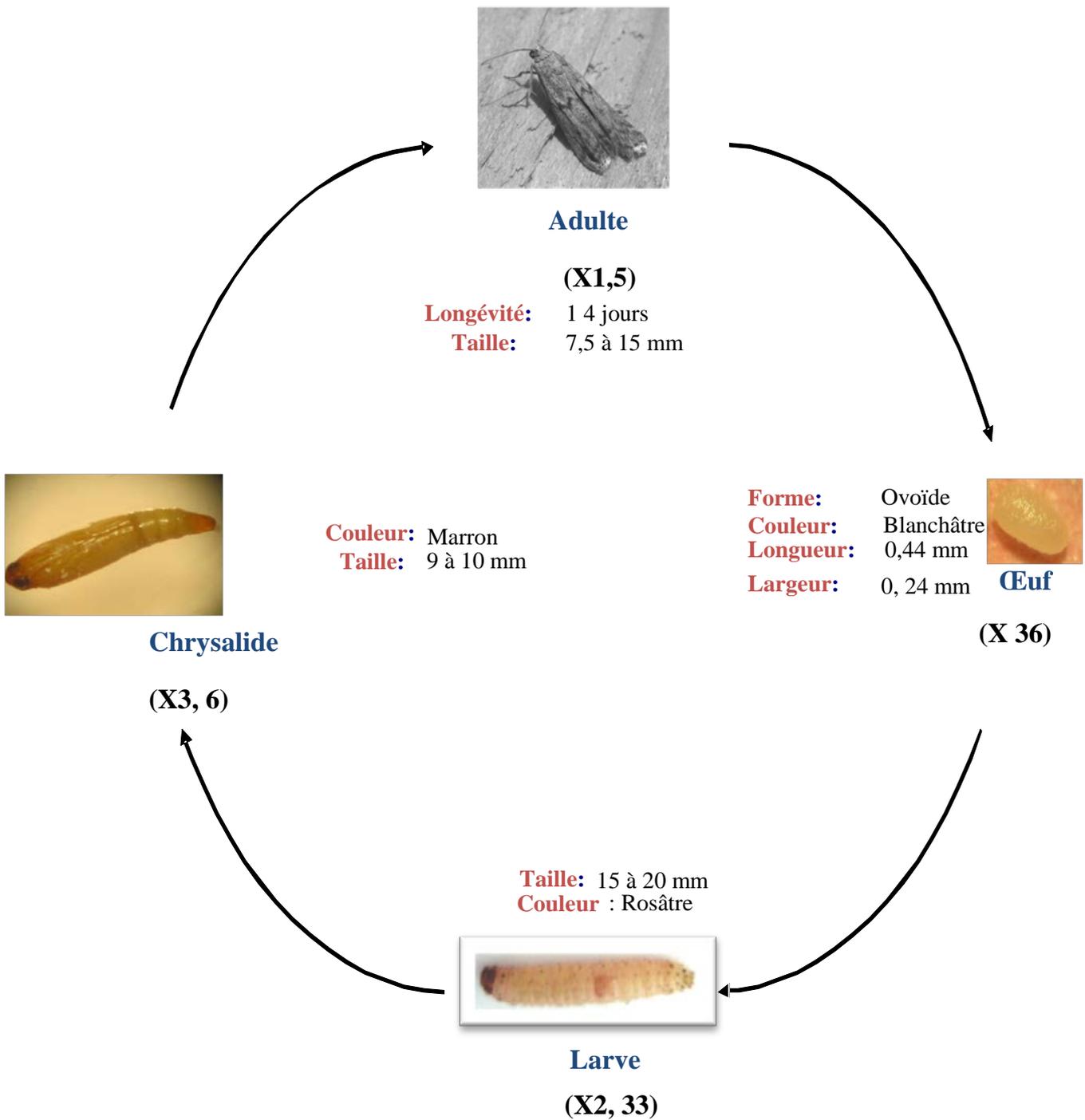


Figure 2. Cycle de développement d'*Ephestia kuehniella* à 27°C

2.2. Insecticides et traitement :

Les effets de quatre agonistes des ecdystéroïdes à structure non stéroïdale, le RH-5849, RH-5992, RH0345 et RH-2485 ont été testés afin de déterminer leur impact sur la reproduction d'*Ephestia kuehniella* après traitement des mâles.

Le RH-5849 ou Dibenzohylhydrazine : est le nom commun du 1, 2-dibenzoyl-1-test-butylhydrazine ; sa formule empirique est : $C_{18}H_{20}N_2O_2$ et son poids moléculaire est de 260,40g. Le RH-5849 (prototype, Rohm & Haas, Spring House PA, USA), est le premier agoniste des ecdystéroïdes, constituant ainsi une nouvelle classe des benzohylhydrazines (Gadenne *et al.*,1990 ; Darvas *et al.*,1992 ; Muszynka-Pyrel *et al.*,1992 ; Tateishi *et al.*,1993 ; Smaghe & Degheele,1995). Il stimule la synthèse et l'incorporation du $[C^{14}]$ Glu Nac dans le tégument chez plusieurs espèces de lépidoptères. Il a été découvert en 1983.

Le RH-5992 (nom commercial : Mimic ou Confirm, Dow AgroSciences, USA) ou Tébufénozide est le nom commun du N-tert-butyl-N'-(4 ethyl hydrazine-3-5-dimethyl-benzohylhydrazine) ; sa formule empirique est : $C_{22}H_{28}N_2O_2$ et son poids moléculaire est de 352,48g. Il interfère avec l'expression de certains gènes de la sécrétion cuticulaire (Retnakaran *et al.*, 1995 ; Dhadhialla *et al.*,1998). Il est particulièrement active contre les lépidoptères (Chandler *et al.*, 1992 ; Smaghe & Degheele,1994 ; Retnakaran *et al.*,1995). Il a été découvert en 1986.

Le RH-0345 (nom commercial :Mach, Dow AgroSciences, USA) ou halofénozide est le nom commun de N-tert-butyl-N'-(4 chloro enzohydrazide ; sa formule empirique est $C_{18}H_{19}CLN_2O_2$ et son poids moléculaire est de 330,81g. C'est un insecticide qui interfère avec le processus normal de la mue, en mimant l'action de la 20E (Soltani *et al.*, 2002 ; Dhadialla *et al.*, 2005). Il a été découvert en 1988.

Le RH-2485 (nom commercial : Runner ou Intrepid, Dow AgroSciences, USA) ou méthoxyfénozide est le nom commun du N-tert-bentyl-N'-(3-méthoxy-o-tolwoyl)-3-5-xylohydrazide. Sa formule empirique est $C_{22}H_{28}N_2O_3$ et son poids moléculaire est de 368,47g. Il agit principalement par ingestion chez les larves de lépidoptères. Son effet a été observé *in vivo* sur le développement et la reproduction. Il perturbe également la

croissance des ovocytes et la production d'ecdystéroïdes (Dhadhialla *et al.* ,2005). Il a été découvert en 1998.

Les formules de structures avec celle de la 20-hydroxyecdysone sont représentées dans la figure 3. Ces insecticides, RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485 ont été aimablement fournis par le Pr. G. Smaghe (Université de Gand, Belgique). Ils ont été testés sur des chrysalides mâles d'*E. kuehniella* , administrés *in vivo* par application topique respectivement aux doses de 0,05µg/insecte ; 0,005µg/insecte ; 0,01µg/insecte et 5,10µg/insecte pour une inhibition de 50 (DI50). Ces insecticides ont été dilués dans l'acétone et 2µl ont été déposé sur la face ventrale de l'abdomen des chrysalides mâles nouvellement exuviées. Les témoins ne reçoivent aucun traitement.

Les chrysalides traitées et témoins sont déposées dans des boîtes de pétri portant la date du traitement et l'insecticide utilisé. Elles sont ensuite mises dans l'étuve à 27°C et une hygrométrie de 80% jusqu'à l'émergence des adultes.

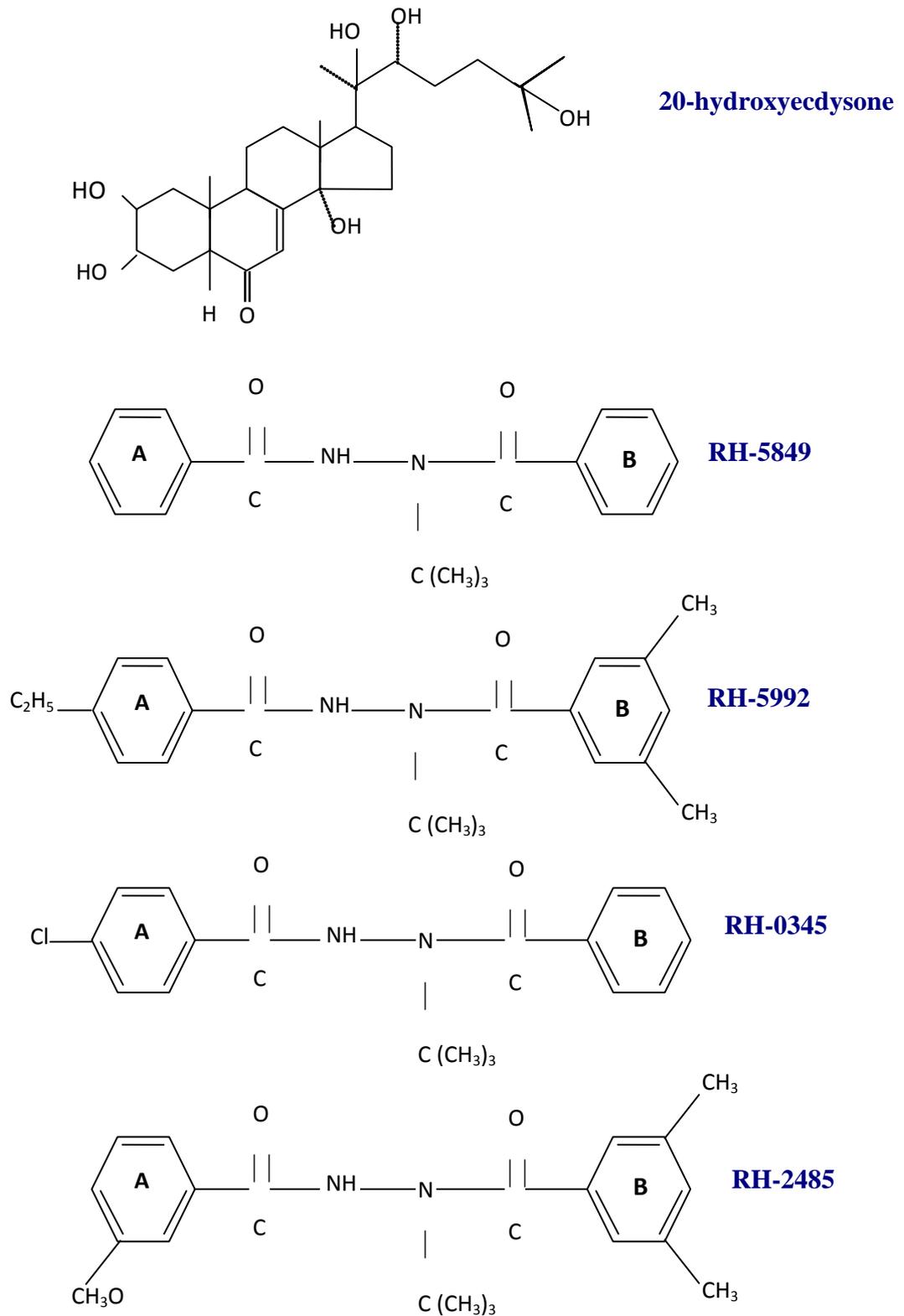


Figure 3. Formules de structure de l'hormone de mue et de quelques agonistes des ecdystéroïdes (d'après Dhadialla *et al.*, 1998).

2.3. Détermination du potentiel reproducteur :

Chaque femelle (non traitée) nouvellement émergée a été placée dans une boîte en plastique transparente avec un mâle (témoin ou traité). L'accouplement survient peu de temps après l'émergence des papillons.

Des paramètres du potentiel reproducteur ont été déterminés :

*la durée de la période de préoviposition : période (en jours) séparant l'émergence et le début de la ponte.

* la durée de la période d'oviposition : qui est la durée (en jours) de la ponte.

*La fécondité des femelles : c'est-à-dire le nombre d'œufs déposés par femelle durant toute la période d'oviposition.

* la viabilité des œufs : nombre d'œufs éclos parmi la totalité des œufs pondus par femelle.

* la durée du développement embryonnaire : déterminée par la durée (en jour) entre la ponte et l'éclosion de l'œuf.

2.4. Morphométrie des œufs :

Un suivi régulier et quotidien de l'élevage permet de prélever les œufs fraîchement pondus par des femelles qui ont été accouplées à des mâles témoins et traités, déposés sur les parois des boîtes en plastiques.

2.5. Morphométrie du testicule :

Le prélèvement du testicule des adultes témoins et des adultes traités est réalisé par une dissection sous la loupe binoculaire. Les testicules sont alors pesés à l'aide d'une balance Sartorius-Handy, avec une précision de $\pm 0,1$ mg.

Les mensurations des différents paramètres (longueur, largeur) des œufs et des testicules sont déterminées à l'aide d'une loupe binoculaire avec un micromètre préalablement étalonné. Les volumes aussi bien des œufs que des testicules sont calculés selon la formule de Lambréas *et al.* , 1991 :

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

2.6. Techniques histologiques :

Afin de déterminer et de comparer l'action des différents insecticides, (mimétiques de l'hormone de mue) sur la spermatogenèse d'*Ephestia kuehniella*, une étude histologique a été réalisée selon les indications de Martoja & Martoja, 1967.

* **Fixation** : est une étape très importante qui permet la conservation contre l'attaque microbienne et l'opposition à l'autolyse des constituants fondamentaux sous l'effet d'enzymes cellulaires, le durcissement de la pièce de façon à faciliter les coupes et la préparation de l'échantillon aux traitements ultérieurs, notamment en augmentant l'affinité du protoplasme pour les colorations.

La fixation a été réalisée sur l'abdomen entier de l'insecte adulte dans du Bouin alcoolique. La durée de la fixation est de 48heures.

* **Inclusion** : avant d'effectuer les coupes, la pièce fixée, doit être incluse dans une matière plastique chimiquement neutre. Le principe de l'inclusion consiste à traiter les pièces dans un ordre déterminé par différents solvants de manière à faire pénétrer dans un tissu, à l'origine hydraté, une substance, souvent hydrophobe, qui maintiendra ses éléments en place lors de la coupe : ceci implique que la pièce soit soumise à une série de traitements successifs par des mélanges dont chacun est destiné à préparer la pénétration de celui qui le suivra et à éliminer celui qui l'a précédé. Chaque solvant doit être évidemment miscible à celui qui le précède et à celui qui le suit.

On procède tout d'abord à deux bains de 24heures dans l'alcool 95°, puis à trois bains de 24h dans le butanol (liquide d'attente ou intermédiaire), ensuite on passe à l'inclusion dans la paraffine.

On effectue d'abord une imprégnation par plusieurs bains de paraffine. Ensuite, on réalise la mise en bloc dans des cassettes en plastique, qui nous donne des blocs de paraffine, avec la pièce à l'intérieure.

* **Confection et étalement des coupes** : les coupes sont réalisées à l'aide d'un microtome (Stassinier LEICA AN 2125 RT) qui comporte un support de rasoir, un support d'objet et un système d'avance mécanique. Le bloc, contenant la pièce est taillé et fixé sur le porte objet sous l'action de la chaleur. L'excès de paraffine, entourant la pièce est enlevé, avec une lame de scalpel, de manière à ce que soit dégagé

l'échantillon. Le bloc est orienté parallèlement au rasoir. On obtient ainsi des rubans droits de paraffine. L'épaisseur des coupes est de 5 à 7 micromètres.

Les rubans obtenus sont déposés sur un plateau, ensuite mis sur des lames soigneusement nettoyées, marquées avec une pointe de diamant sur lesquelles on dispose de l'eau gélatinée, qui permet de coller les rubans des coupes. La lame est mise sur une platine chauffante (20°C), ce qui permet le collage et le déplissage des coupes. Ces lames sont placées dans un panier de verre et mis dans une étuve à 37°C pendant 24H afin de compléter le séchage des coupes.

* **Déparaffinage et coloration** : le déparaffinage élimine le milieu d'inclusion et précède la coloration. Les coupes sont d'abord traitées par le xylène (3 bains de 3 minutes chacun). Elles sont ensuite plongées dans trois bains d'alcool 95° (2minutes chacun) et lavées à l'eau courante et à l'eau distillée.

Les coupes sont ensuite colorées à l'hématoxyline pendant 10 minutes. Le rinçage se fait dans l'eau, puis dans l'eau ammoniaquée, l'eau courante puis à l'eau distillée. On colore ensuite les coupes à l'éosine pendant 5 minutes et on les rince à l'eau courante et à l'eau distillée. On les passe dans deux bains d'alcool (95°) afin d'éliminer l'excès d'éosine puis dans un mélange acétone-xylène.

* **Montage** : les coupes colorées ne supportant pas le dessèchement, il est nécessaire d'interposer entre lame et lamelle un milieu de montage qui doit être transparent pour satisfaire les conditions d'observation et d'assurer une meilleure conservation et une meilleure adhérence. Pour cela on utilise du baume de Canada. Les lames sont séchées dans une étuve à 37°C pendant 24h. Les lames sont observées dans un microscope photonique.

2.7. Composition biochimique des testicules:

Comme décrit précédemment, les adultes d'*E.kuehniella* (0jour) sont disséqués sous la loupe binoculaire et les testicules sont prélevés, pesés et conservés dans le liquide adéquat.

2.7.1. Dosage des métabolites testiculaires :

L'extraction des différents métabolites (protéines, glucides et lipides) a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.*, (1966)(Figure 4). Les testicules au nombre de 4 sont mis dans 500µl d'acide trichloroacétique (TCA), broyés et homogénéisés avec un broyeur à ultrasons (Sonifier B-30). Le broyat est ensuite centrifugé à 5000 tours/minutes pendant 10 minutes. Le surnageant I obtenu servira pour la quantification des glucides totaux (Duchateau & Florin, 1959) ; au culot I est additionné un mélange éther/chloroforme (V/V). Une deuxième centrifugation (5000 tours /minutes pendant 20 minutes permettra de récupérer le surnageant II qui servira pour la quantification des lipides totaux selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972) et le culot II servira pour la quantification des protéines totales après addition d'un ml d'une solution de soude selon Bradford (1976).

* Dosage des protéines testiculaires :

Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de Coomassie G250 (BBC) comme réactif et l'albumine de sérum de bœuf (BSA : 1mg/ml) comme standard. Le dosage a été effectué dans une fraction aliquote de 100µl d'extrait protéique de chaque échantillon additionnée de 4 ml de BBC. Après une agitation au vortex, une coloration bleue est révélée. La lecture des absorbances est réalisée à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme.

* Dosage des glucides testiculaires :

Les glucides testiculaires sont dosés selon Duchateau & Florin (1959) qui utilise l'anthrone comme réactif et une solution mère de glucose comme standard (1g/l) qui donne un complexe vert dont l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration des glucides. Le dosage a été effectué dans une fraction aliquote de 100µl. La lecture des absorbances est réalisée à 620 nm contre un blanc de gamme.

*** Dosage des lipides testiculaires :**

Les lipides ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al* (1972) utilisant la vanilline comme réactif et une solution mère de lipides (2,5mg/ml) comme standard. Le dosage des lipides dans le testicule d'*E kuehniella* a été réalisé dans une fraction aliquote de 200µl. Les absorbances sont lues, après 30 minutes dans l'obscurité, à une longueur d'onde de 530 nm contre un blanc de gamme.

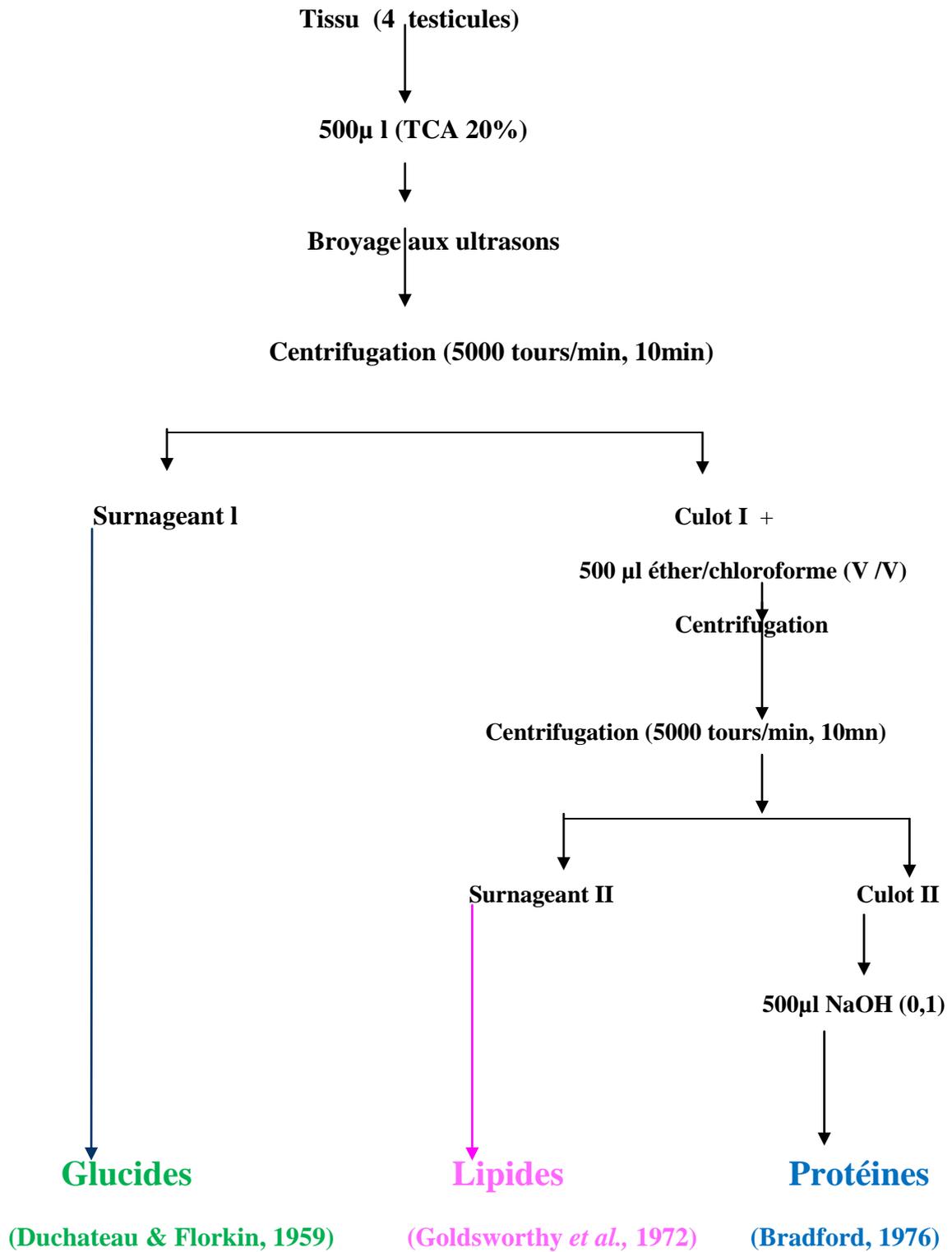


Figure 4. Extraction des protéines, glucides et lipides selon Shibko *et al.*, 1966.

2.7.2. Dosage des acides nucléiques :

L'extraction des acides nucléiques a été effectuée selon la méthode de Shibko *et al.*,(1966). Quatre testicules des séries témoins et des séries traitées sont mis dans 500 µl d'eau distillée additionnée de 2 µl phénylthylsilfluoride (PMSF) afin de les conserver (Figure5).

*** Dosage de l'ARN**

L'ARN a été quantifié selon la méthode de Burton (1956) qui utilise l'orcinol comme réactif et une solution mère d'ARN, extrait de levure de boulangerie comme standard (1mg/1ml d'eau distillée).

Après agitation, les tubes sont chauffés au bain marie à 90°C pendant 20 minutes. Il se forme une coloration bleu clair. Le dosage de l'ARN a été effectué sur des fractions aliquotes de 100µl des extraits biologiques, auquel est additionné 1,5 ml de réactif d'orcinol. Les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 660nm contre un blanc de gamme.

*** Dosage de l'ADN**

L'ADN a été quantifié selon la méthode Schneider (1957) qui utilise le diphenylamine comme réactif et une solution mère d'ADN, extrait de thymus de veau comme standard (mg/ml d'eau distillée)

Après chauffage au bain marie pendant 20 minutes à 90°C, il se développe une coloration rosâtre. Le dosage de l'ADN est effectué sur des fractions aliquotes de 100µl auquel est additionné 1ml de réactif de diphenylamine. Les absorbances sont lues dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 602 nm contre un blanc de gamme.

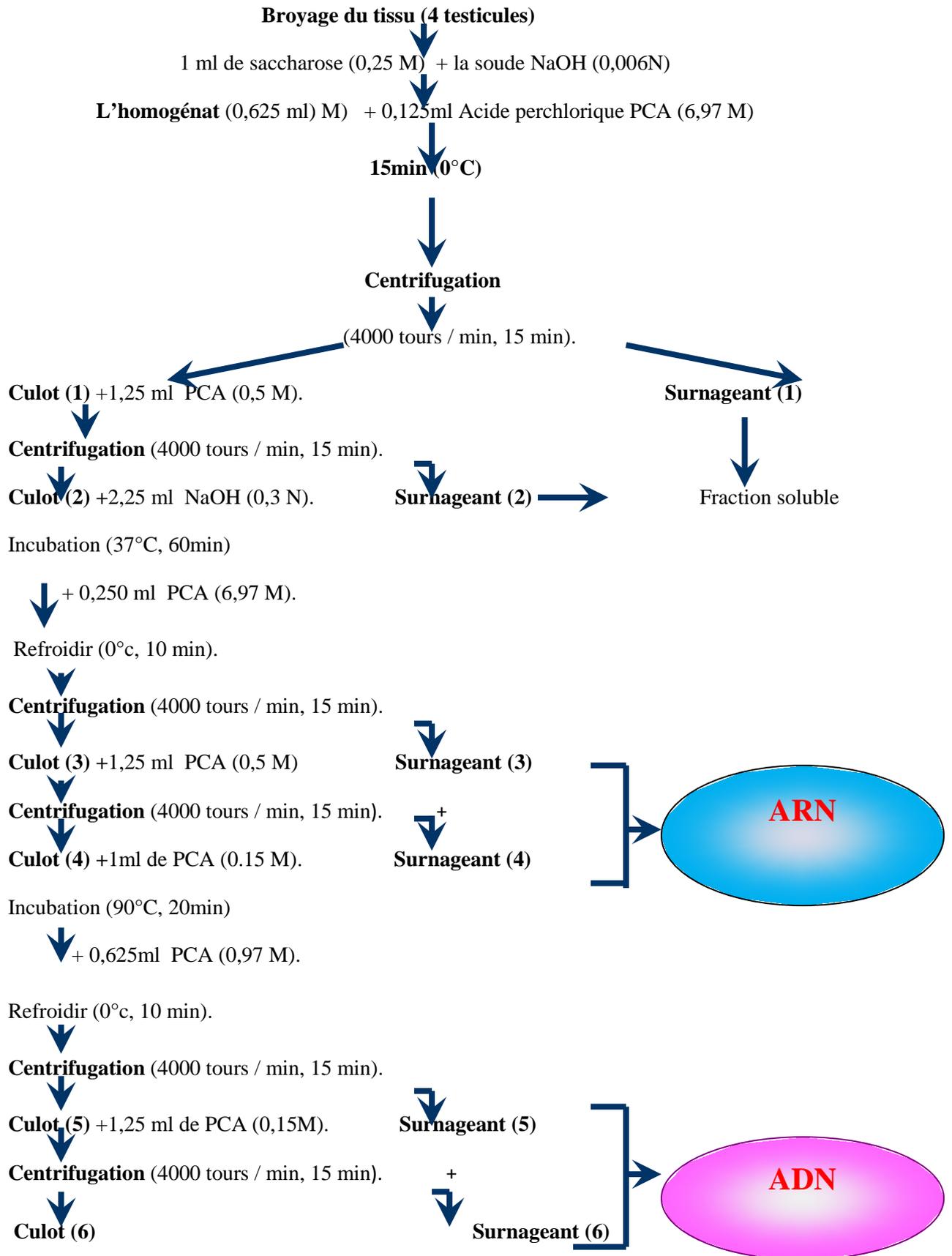


Figure 5. Principales étapes d'extraction des acides nucléiques (ARN, ADN)

selon Shibko *et al.*, 1966.

2.7.3. Dosage des ecdystéroïdes :

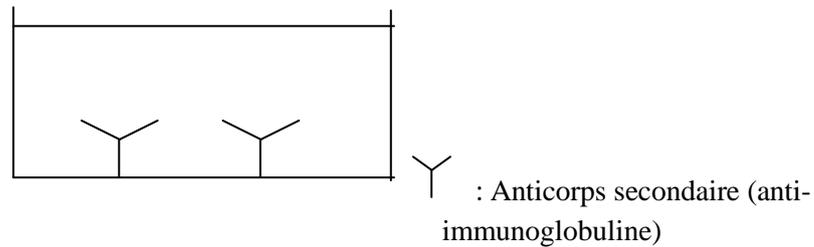
*** Extraction des ecdystéroïdes :**

Les testicules (au nombre de 10) des séries témoins et des séries traitées, préalablement pesés sont mis dans 500µl de méthanol. Après broyage aux ultrasons et centrifugation à 2700 tours pendant 10 minutes, le surnageant est évaporé et les extraits secs ont été récupérés dans 500 µl de tampon EIA qui comprend le Tampon phosphate (0,1M ; pH= 7,4)

*** Principe du dosage enzymo-immunologique :**

Le dosage enzymo-immunologique (EIA) se fait selon une technique spécifique aux ecdystéroïdes adaptée par Porcheron *et al.*, (1989), puis modifiée par De Reggi *et al.*, (1992) (Figure 6). Cette technique repose sur la compétition entre le traceur enzymatique qui est la peroxydase couplé à la 2- succinyl 20 hydroxyecdysone (Aribi *et al.*, 1997) et les ecdystéroïdes des extraits biologiques pour les sites limités d'un anticorps anti-ecdysteroides appelé anticorps primaire. Les complexes sont fixés par un second anticorps polyclonal anti- immunoglobuline de lapin (Jackson Immunoresearch) retenu sur une microplaque à 96 puits (NUCN Immunoplate Maxisorp F96, Danemark). Au bout de trois heures d'incubation, les éléments non retenus seront éliminés au cours d'un rinçage des plaques. Un réactif de révélation de la peroxydase, la tétraméthyl benzidine ou TMB (Sigma,France) est utilisé. Celle-ci se fait sous agitation pendant 15 à 20 minutes et les densités optiques sont mesurées à l'aide d'un lecteur de plaque (Labsystem, Finlande) à 630 nm sans ou avec addition d'H₂SO₄ (6N) respectivement. La mesure de la quantité peroxydase fixée permet de déterminer la quantité d'ecdystéroïdes contenue dans les échantillons biologiques par comparaison avec une courbe de référence obtenue avec des solutions standard d'ecdysone (E).

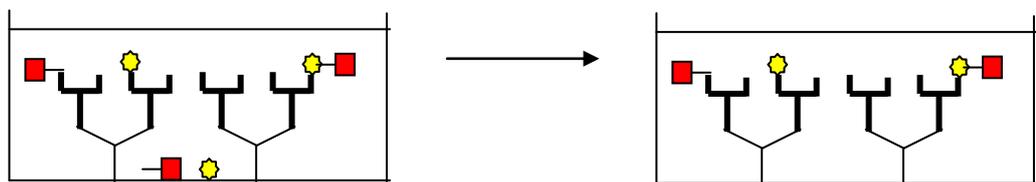
Etape 1 : Coating (24heures à température ambiante) et saturation (12heures à 4°C)



Etape 2 : Répartition des différents éléments :

■ Le traceur enzymatique ; * l'échantillon ; et l'anticorps primaire T

Etape 3 : Réaction immunologique, puis lavage.



Etape 4 : Révélation de la peroxydase avec le TMB (une heure à température ambiante)

Etape 5 : Lecture des densités optiques à 630 nm.

Coloration faible ==> forte dose d'ecdystéroïdes

Coloration forte ==> faible dose d'ecdystéroïdes

Figure 6. Principe du dosage EIA (d'après Porcheron *et al.*, 1989).

*** Présentation des différentes étapes du dosage EIA**

✓ **Coating et saturation des plaques :**

Le coating est un traitement qui permet de fixer les immunoglobulines anti-IgG de lapin (pour le dosage avec un anticorps polyclonal de lapin) sur la phase solide des microplaques, en distribuant 200µl d'une solution purifiée d'immunoglobulines anti-IgG (Sigma, Angleterre) dans chaque puits. Cette solution est préparée en rajoutant une quantité (200µl) de solution mère de tampon phosphate (0,05 N ; pH=7,4) et 400 ml d'eau distillée à 2 mg d'anti-immunoglobuline. Ce traitement est suivi d'une saturation pendant 1heure dans un tampon EIA à 0,3% d'albumine bovine (Sigma, France) distribuée à raison de 100 µl dans chaque puits. Les plaques seront conservées à 4°C et peuvent être utilisées 12 heures après la saturation.

✓ **Préparation de la courbe standard :**

Des solutions diluées (10^{-7} à 10^{-13} M) sont obtenues à partir de deux hormones ecdystéroïdes standard utilisées dans ce dosage, à savoir l'ecdysone (E) de poids moléculaire de 464,6g et la 20- hydroxyecdysone (20 E) de poids moléculaire 480,6g.

✓ **Distribution des différents échantillons :**

Après lavage de la microplaque, la répartition des échantillons dans les différents puits se fait comme suit :

- Le premier puits de la première colonne est réservé aux témoins dans lequel on distribue 100 µl de tampon EIA et 50 µl du traceur enzymatique.

- Les puits restants de la première colonne sont réservés aux blancs (B_0), en absence d'hormone dans lesquels on distribue 50µl du tampon EIA, 50µl du traceur enzymatique et 50µl d'anticorps.

- Dans la deuxième et la troisième colonne, on distribue respectivement 50µl des différentes concentrations des solutions standards (la gamme), 50µl du traceur enzymatique et 50µl d'anticorps.

-Tous les puits restants sont réservés aux échantillons à doser dans lesquels on distribue respectivement 50µl d'échantillons, 50µl du traceur et 50µl d'anticorps.

Le volume final de chaque puits doit être de 150 µl. La microplaque sera mise ensuite en agitation à l'obscurité pendant trois heures.

✓ **Lavage et révélation**

A la fin de l'incubation, la microplaque est lavée afin d'éliminer tout élément non fixé sur l'anticorps utilisé. La tétraméthyl benzidine est utilisée pour la coloration. Celle-ci se fait sous agitation pendant 15 à 30 minutes.

✓ **Lecture des densités optiques**

Les densités optiques sont mesurées à l'aide d'un lecteur de plaque à 630 nm, puis à 450 nm après addition d'acide sulfurique (6N) qui permet d'amplifier et de stabiliser la coloration. Elles sont exprimées sous forme d'un rapport :

$$\mathbf{B/B_0 (\%) = (B - T) / (B_0 - T) \times 100}$$

B : absorbances de l'échantillon ou du standard.

B₀ : absorbances en absence d'hormone.

T : absorbances en absence d'hormone et d'anticorps. T étant négligeable, la formule est donc :

$$\mathbf{B/B_0 (\%) = B/B_0 \times 100}$$

2.8. Analyse statistique :

Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins l'erreur standard ($m \pm SD$). Elles ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à un seul critère de classification suivie, en cas de rejet de l'hypothèse d'égalité des moyennes, par le test de Tukey. Enfin, la comparaison des moyennes deux à deux a été faite avec le test t de Student. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel MINITAB (Version 15, Penn State College, PA, USA) avec un seuil de signification $P \leq 0,05$. Plusieurs séries de traitement des chrysalides ont été effectuées pour donner un nombre suffisant d'adultes qui survivent. Le nombre d'adultes testés et le nombre de répétitions sont précisés avec les résultats.

RESULTATS

3. RESULTATS

3.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur les évènements de la reproduction :

Le potentiel reproducteur chez les insectes notamment chez les lépidoptères est déterminé par le temps de la vie nutritionnel au stade adulte, la qualité environnemental ainsi que par l'accouplement (Ramswamy *et al.*, 1997) .

Les quatre insecticides, régulateurs de croissance ont été évalués en application topique sur des chrysalides mâles nouvellement exuviées à la dose d'inhibition 50 (DI50). Un suivi régulier des couples permet de déterminer les périodes de préoviposition, d'oviposition, le nombre d'œufs pondus (fécondité), le pourcentage d'œufs éclos (viabilité) et la durée du développement embryonnaire.

3.1.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la période de préoviposition :

Dans nos conditions expérimentales (Température 27°C et humidité relative à 80%), la période de préoviposition débute à $1,00 \pm 0,00$ jour après l'accouplement chez les couples témoins et traités avec les RH-0345 et RH-2485. Elle est de $1,66 \pm 0,21$ jours chez les traités avec le RH-5849 et de $2,66 \pm 0,21$ jours chez les traités avec RH-5992 (Tableau 1 ; Fig.7).

Tableau 1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la période préoviposition d'*Ephestia kuehniella*. (m±SD ; n=6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).

Paramètres	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Durée de préoviposition (Jours)	1,00±0,00 a	1,66 ±0,21 b	2,66±0,21 c	1,00±0,00 a	1,00±0,00 a

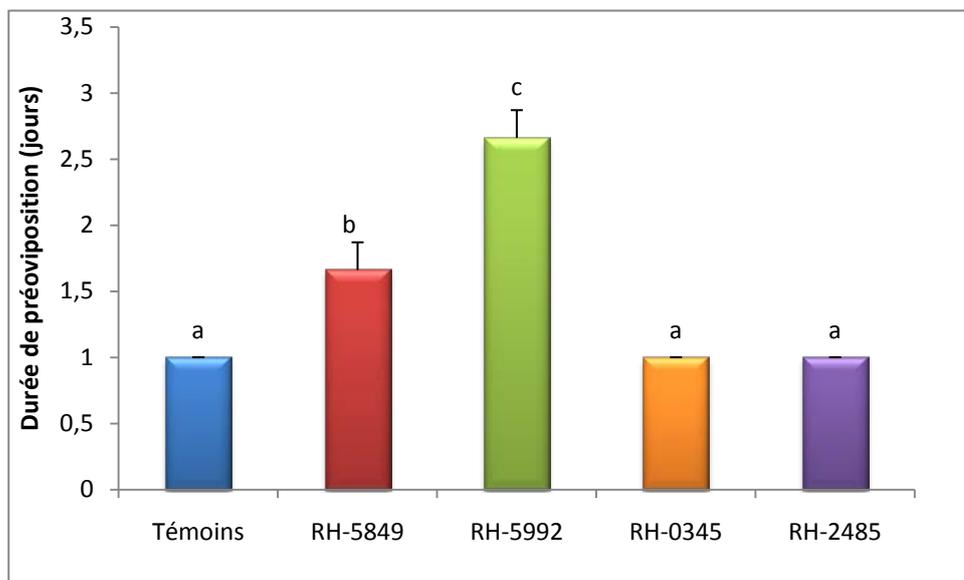


Figure 7. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles sur la période de préoviposition d’*Ephestia kuehniella*. (m±SD ; n=6) Les moyennes suivies d’une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).

Les résultats de l’ANOVA ($F_{4, 25} = 30,00$; $p < 0,001$) montrent un effet traitement hautement significatif sur la durée (en jours) de la période de préoviposition qu’ils allongent (Tableau 2). Le classement par le test de Tukey met en évidence 3 groupes par ordre décroissant : le premier groupe est représenté par les individus traités avec le RH-5992 ; le deuxième groupe par ceux traités avec le RH-5849 et enfin le troisième groupe par les témoins et ceux traités avec le RH-2485 et RH-0345.

Tableau 2. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles d’*Ephestia kuehniella* sur la durée de préoviposition (jours) : analyse de la variance (m ± SD ; n = 6).

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	12,800	3,200	30,00	<0,001
Erreur	25	2,667	0,107		
Totale	29	15,467			

3.1.2. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la période d'oviposition :

La période d'oviposition ne présente aucun effet traitement pour les quatre insecticides testés (P=0,158) (Tableaux 3 et 4 ; Fig.8).

Tableau3. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la période d'oviposition d'*Ephestia kuehniella*. (m±SD ; n=6) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).

Paramètres	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Durée d'oviposition (Jours)	3,16±0,30 a	3,50±0,22 a	3,33±0,21 a	3,16±0,16 a	3,83±0,16 a

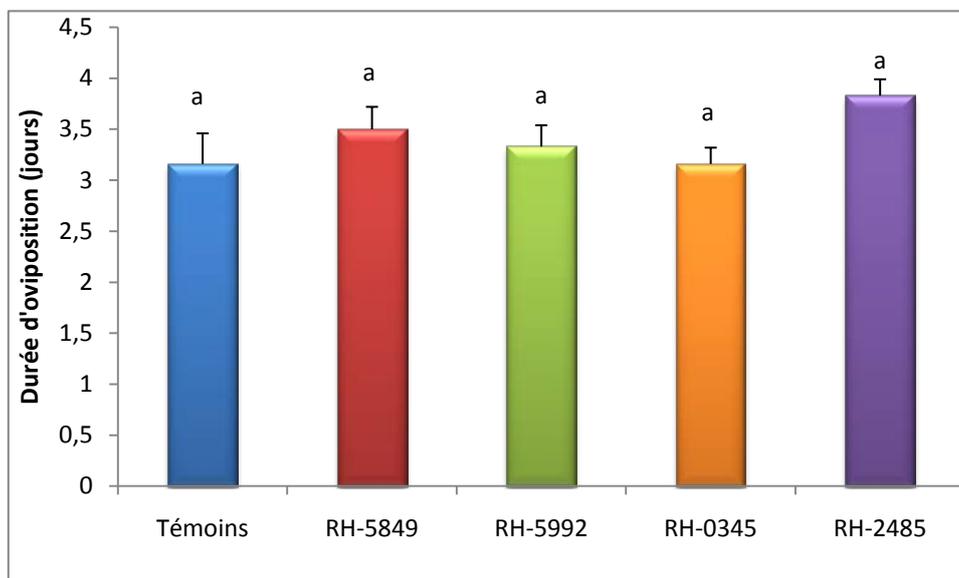


Figure 8. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la période d'oviposition d'*Ephestia kuehniella*. (m±SD ; n=6) .Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).

Tableau 4. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur la période d'oviposition (jours) : analyse de la variance (m ± SD ; n=6).

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	2,467	0,617	1,81	0,158
Erreur	25	8,5	0,340		
Totale	29	10,967			

3.1.3. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la fécondité :

La fécondité des femelles de couples traités avec le RH-5849, le RH-5992 et le RH- 2485 a été réduite d'une manière très hautement significative ($P < 0,001$) par rapport aux témoins. En effet, le nombre d'œufs pondus par les femelles de couples témoins est en moyenne de $107,50 \pm 5,14$, alors que la fécondité des femelles de couples où les mâles sont traités par le RH-5849 est $88,50 \pm 3,69$; de $95,83 \pm 2,18$ pour ceux traités avec le RH-5992 et de $88,67 \pm 1,67$ pour les traités avec le RH-2485 (Tableau 5; Fig.9).

Tableau 5. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la fécondité d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n=6$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Traitement	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Fécondité (œufs/femelle)	$107,50 \pm 5,14$ a	$88,50 \pm 3,69$ b	$95,83 \pm 2,18$ c	$102,33 \pm 2,50$ a	$88,67 \pm 1,76$ b

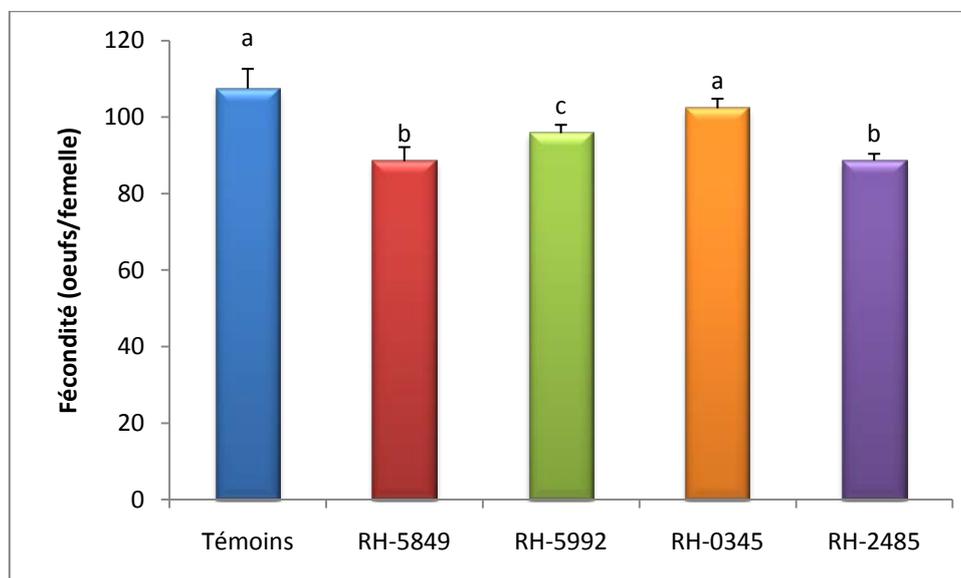


Figure 9. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la fécondité d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n=6$) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Le traitement des chrysalides mâles a une action différée sur la fécondité. L'ANOVA des données obtenues montre un effet traitement significatif ($F_{4, 25} = 6,49$; $P < 0,001$). Le test de Tukey permet le classement des divers traitements en 3 groupes : Témoins et halofénozide, tébufénozide et enfin RH-5849 et méthoxyfénozide (Tableau 6)

Tableau 6. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-2485, RH-5992, RH-0345 et RH-5849) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur la fécondité des femelles : analyse de la variance ($m \pm SD$; $n=6$).

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	1684,9	421,2	6,49	0,001
Erreur	25	1622,5	64,9		
Totale	29	3307,4			

3.1.4. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la viabilité des œufs :

Pour la viabilité des œufs, on remarque une diminution très significative du nombre d'œufs éclos ($P < 0,001$) (Tableau7; Fig 10).

Tableau7. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la viabilité des œufs d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n=6$) Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Viabilité des œufs (% œufs éclos)	80,33±3,77 a	44,83±4,32 b	88,50±3,26 a	39,67±2,44 b	36,33±3,68 b

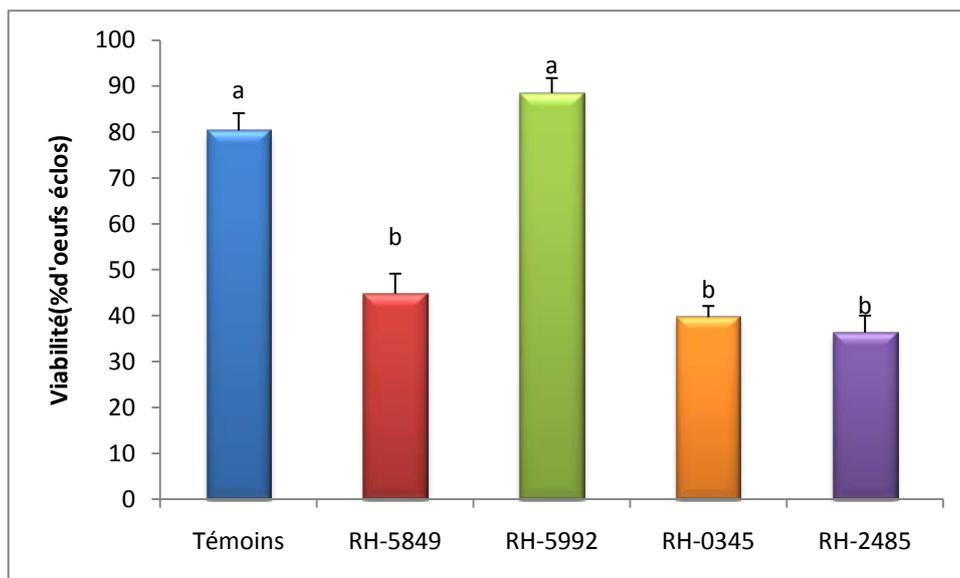


Figure10. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles sur la viabilité des œufs d’*Ephestia kuehniella*. (m±SD ; n=6) Les moyennes suivies d’une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).

Le traitement des chrysalides mâles a une action différée sur la viabilité des œufs. L’ANOVA des données obtenues montre un effet traitement significatif (F_{4, 25}= 47,72 ; P<0,001). Le test de Tukey permet le classement des divers traitements en 2 groupes : Témoins et tébufénozide ; RH-5849, halofénozide et méthoxyfénozide (Tableau8).

Tableau 8. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles d’*Ephestia kuehniella* sur la viabilité des oeufs : analyse de la variance (m ±SD ; n=6).

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	14447,5	3611,9	47,72	P<0,001
Erreur	25	1892,3	75,7		
Totale	29	16339,9			

3.1.5. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la durée de développement embryonnaire :

L'analyse statistique concernant la durée du développement embryonnaire ne révèle aucun effet traitement ($P=0,986$) et cela après administration des quatre mimétiques de l'hormone de mue (Tableaux 9 ,10 ; Fig .11).

Tableau 9. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la durée du développement embryonnaire d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n=6$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Durée de développement embryonnaire (jours)	4,50±0,42 a	4,66±0,55 a	4,66±0,42 a	4,50±0,50 a	4,83±0,47 a

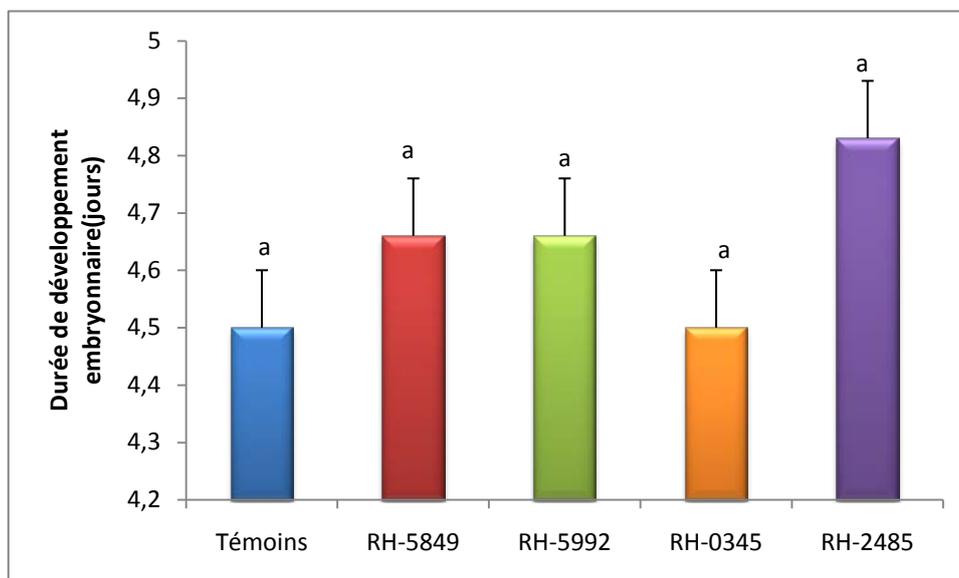


Figure11. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la durée du développement embryonnaire d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n= 6$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Tableau 10. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur la durée du développement embryonnaire : analyse de la variance. ($m \pm SD$; $n=6$).

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	0,47	0,12	0,08	0,986
Erreur	25	34,50	1,38		
Totale	29	34,97			

3.2. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la taille des œufs :

Une dizaine d'œufs pour chaque couple et six répétitions pour chaque traitement ont été prises pour l'étude de la taille des œufs.

3.2.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la longueur des œufs :

Comparativement aux témoins, la longueur des œufs déposés par les femelles accouplées à des mâles traités est identique à celle des couples formés à partir de mâles non traités. Le test de Tukey n'a mis en valeur aucun effet traitement pour les individus traités avec les différents insecticides par rapport aux témoins (P=0,161) (Tableaux 11 et 12 ; Fig. 12).

Tableau11. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la longueur (µm) des œufs d'*Ephestia kuehniella*. (m ± SD ; n=6). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Longueur des œufs (µm)	446±11,8 a	453±1,76 a	441±6,77 a	451±7,65 a	426±8,29 a

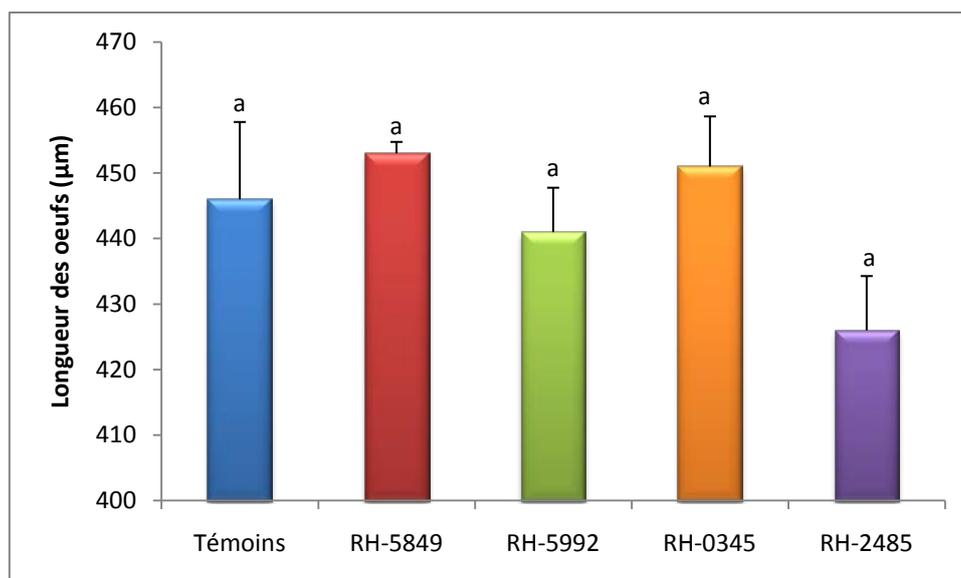


Figure 12. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles sur la longueur des œufs d’*Ephestia kuehniella*. (m ± SD ; n= 6). Les moyennes suivies d’une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).

Tableau 12. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles d’*Ephestia kuehniella* sur la longueur des oeufs : analyse de la variance. (m ± SD ; n=6).

Sources	DDL	SC	CM	F obs	P
Facteur	4	0,002727	0,000682	1,80	0,161
Erreur	25	0,009476	0,000379		
Totale	29	0,012204			

3.2.2. Impact des mimétiques de l’hormone de mue sur la largeur des œufs :

D’après les résultats obtenus et reportés dans les tableaux 13 et 14 et la figure 13, on constate que le RH-5849 réduit significativement la largeur des œufs et que les autres molécules n’ont aucun effet. L’ANOVA des données obtenus montre un effet traitement significatif ($F_{4, 25} = 4,29$; $P = 0,001$) ; deux groupes sont obtenus : le premier groupe est représenté par les témoins et les traités par le RH-5992, le RH-0345 et le RH-2485 et le deuxième groupe par les traités avec le RH-5849.

Tableau 13. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la largeur (μm) des œufs d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm \text{SD}$; $n=6$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Largeur des œufs (μm)	249 \pm 11,1 a	219 \pm 3,86 b	250 \pm 1,43 a	241 \pm 7,54 a	249 \pm 2,26 a

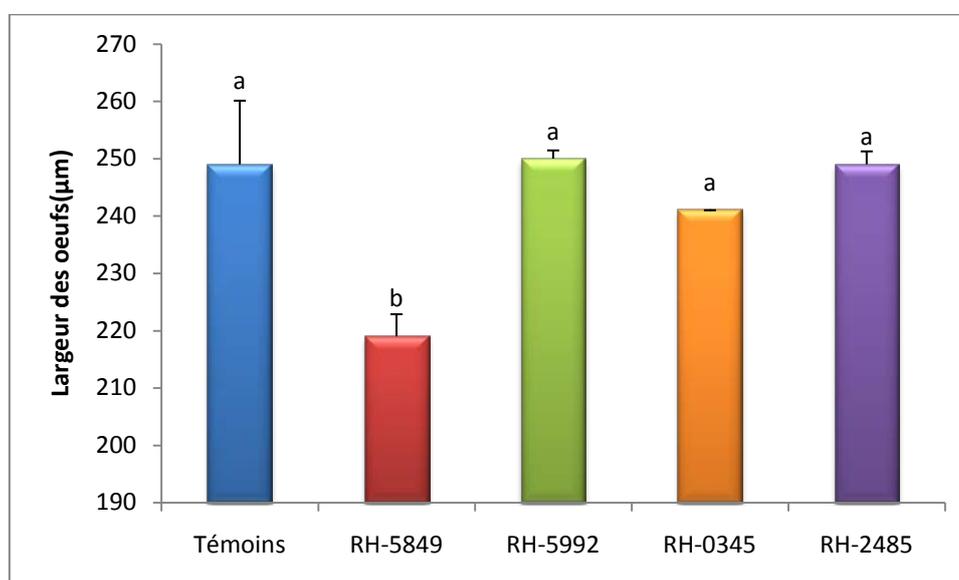


Figure 13. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la largeur des œufs d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm \text{SD}$; $n= 6$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Tableau 14. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur la largeur des œufs : analyse de la variance. ($m \pm \text{SD}$; $n=6$).

Sources	DDL	SC	CM	F obs	P
Facteur	4	0,004164	0,001041	4,29	0,009
Erreur	25	0,006070	0,000243		
Totale	29	0,010234			

3.2.3 Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le volume des œufs :

De même, les insecticides administrés par application topique à l'exuviation nymphale ont un effet sur le volume des œufs qu'ils réduisent (Tableau 15; Fig.14) ; l'ANOVA des données obtenu montre un effet traitement significatif ($F_{4, 25} = 3,42$; $P = 0,023$). Le test de Tukey a mis en évidence deux groupes : le premier représenté par les témoins et les traités avec le RH-5992, RH-0345 et RH-2485 et le deuxième groupe par les traités avec le RH-5849 (Tableau 16).

Tableau 15. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le volume (mm^3) des œufs d'*Ephestia kuehniella* ($m \pm SD$; $n=6$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$)

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Volume des œufs (mm^3)	$0,01547 \pm 0,00148$ a	$0,01141 \pm 0,01076$ b	$0,01479 \pm 0,00037$ a	$0,01375 \pm 0,00086$ a	$0,01392 \pm 0,00038$ a

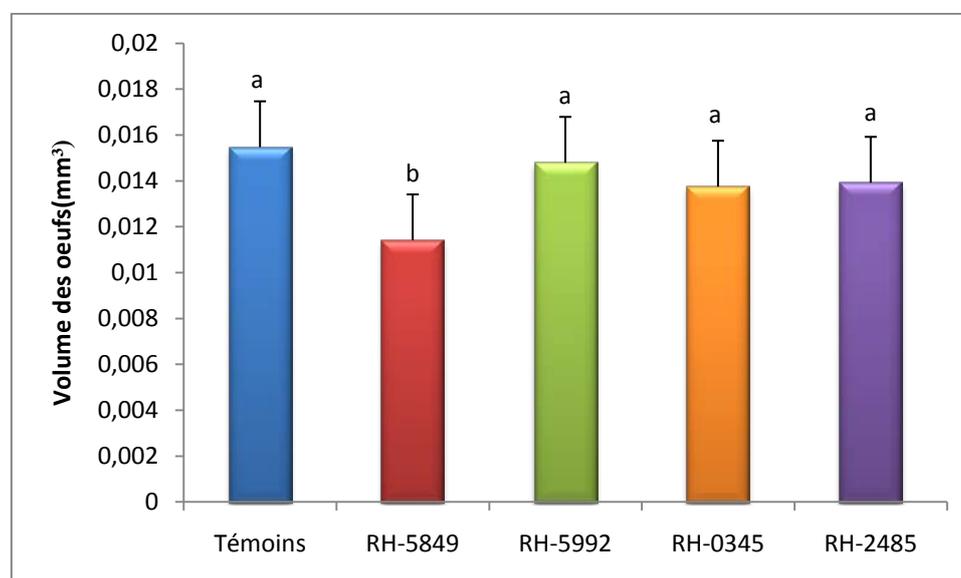


Figure 14. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le volume (mm^3) des œufs d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n = 6$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Tableau 16. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-5849) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur le volume des oeufs : analyse de la variance. ($m \pm SD$; $n=6$).

Sources	DDL	SC	CM	F obs	P
Facteur	4	0,0000556	0,0000139	3,42	0,023
Erreur	25	0,0001017	0,000041		
Totale	29	0,0001573			

3.3. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le poids et la taille du testicule :

Des dissections faites sous la loupe binoculaire dès l'émergence des adultes d'*E.kuehniella* permettent de prélever le testicule, de le peser et de prendre ses mensurations.

3.3.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le poids du testicule :

Les résultats mentionnés dans les tableaux 17 et 18 et la figure 15 montrent que ces insecticides n'ont aucun effet sur le poids du testicule ($P=0,513$). L'analyse de la variance n'a mis en évidence aucun effet traitement.

Tableau 17. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le poids du testicule d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n=10$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Poids du testicule (mg)	0,019 \pm 0,002333 a	0,017 \pm 0,00153 a	0,014 \pm 0,00163 a	0,017 \pm 0,00213 a	0,016 \pm 0,00221 a

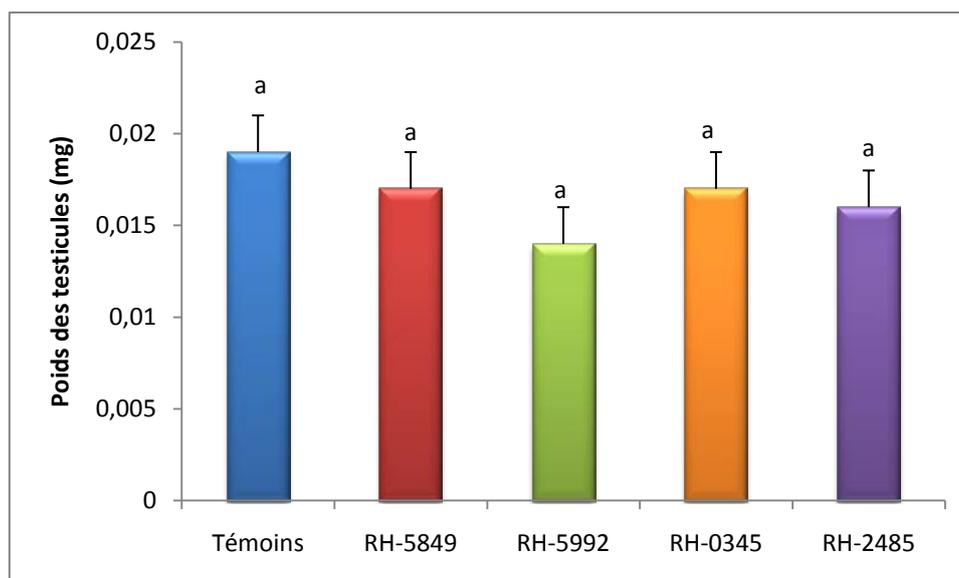


Figure15. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles sur le poids (mg) du testicule d’*Epehstia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n= 10$). Les moyennes suivies d’une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Tableau 18. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-5849) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles d’*Epehstia kuehniella* sur le poids du testicule : analyse de la variance. ($m \pm SD$; $n=10$).

Sources	DDL	SC	CM	F obs	P
Facteur	4	0,00013	0,000033	0,83	0,513
Erreur	45	0,00179	0,00039		
Totale	49	0,0048			

3. 3.2. Impact des mimétiques de l’hormone de mue sur la taille du testicule :

* Impact des mimétiques de l’hormone de mue sur la longueur du testicule :

L’étude statistique révèle une différence hautement significative chez les individus traités avec les différents insecticides sur la longueur du testicule qu’ils allongent (Tableau19; Fig 16). L’analyse de la variance met en évidence trois groupes, représentés par le groupe des témoins, le deuxième groupe par les traités avec le RH-5948, RH-0345 et RH-2485 et enfin le troisième groupe par les traités avec le RH-5992 (Tableau20).

Tableau19. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la longueur (μm) du testicule d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n=10$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Longueur du testicule (μm)	$697 \pm 4,96$ a	$775,8 \pm 12,1$ b	$748,0 \pm 21,7$ c	$796,0 \pm 15,4$ b	$788,0 \pm 14,0$ b

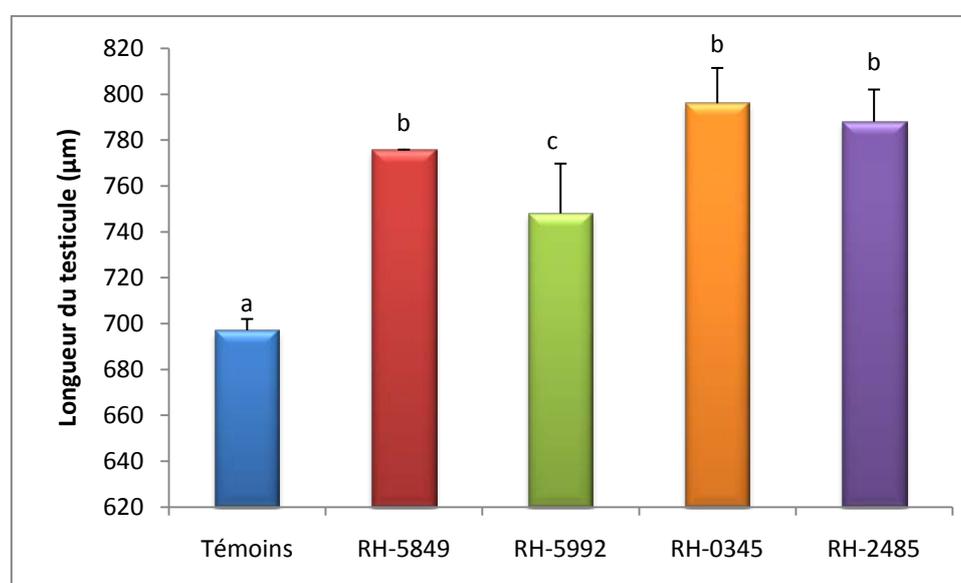


Figure16. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la longueur (μm) du testicule d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n=10$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Tableau 20. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur la longueur du testicule : analyse de la variance. ($m \pm SD$; $n=10$).

Sources	DDL	SC	CM	F obs	P
Facteur	4	61424	15356	6,66	0,000
Erreur	45	103758	2306		
Totale	49	165181			

*** Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la largeur du testicule :**

Un effet traitement a été mis en évidence sur la largeur du testicule chez les traités par le RH-5849, RH-5992 et RH-2485 où on remarque une augmentation; alors que chez les traités avec le RH-0345, on ne constate aucun effet par rapport aux témoins (Tableau21 ; Fig17)

Tableau21. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la largeur (μm) du testicule d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n=10$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Largeur du testicule (μm)	524,4 \pm 17,1 a	559,8 \pm 17,0 b	635,9 \pm 11,9 b	534,3 \pm 13,3 a	645,3 \pm 25,4 b

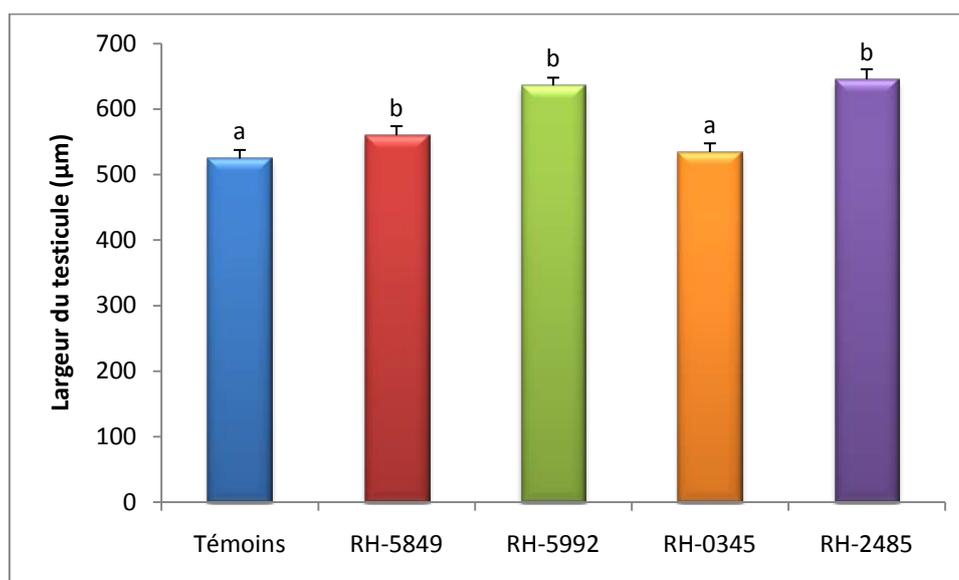


Figure17. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur la largeur (μm) du testicule d'*Ephestia kuehniella*. ($m \pm SD$; $n= 10$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($P > 0,05$).

L'analyse de la variance a mis en évidence deux groupes : Témoins, RH-0345 et traités avec RH-5849, RH-5992 et RH-2485(Tableau22).

Tableau 22. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur la largeur du testicule : analyse de la variance. (m ± SD ; n=10).

Sources	DDL	SC	CM	F obs	P
Facteur	4	112365	28091	9,09	0,000
Erreur	45	139039	3090		
Totale	49	251404			

***Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le volume du testicule**

Les tests statistiques révèlent un effet traitement significatif pour les individus traités avec les RH-5849, RH-5992 et RH-2485, alors qu'il ne semble y avoir aucun effet pour ceux traités avec le RH-0345 toujours par rapport aux témoins (Tableau 23 ; Fig18).

Tableau 23. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le volume (mm³) du testicule d'*Ephestia kuehniella*. (m ± SD ; n=10). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Volume du testicule (mm³)	0,10819 ± 0,00722 a	0,12847 ± 0,00861 b	0,15770 ± 0,00601 c	0,11930 ± 0,00634 a	0,17482 ± 0,00511 d

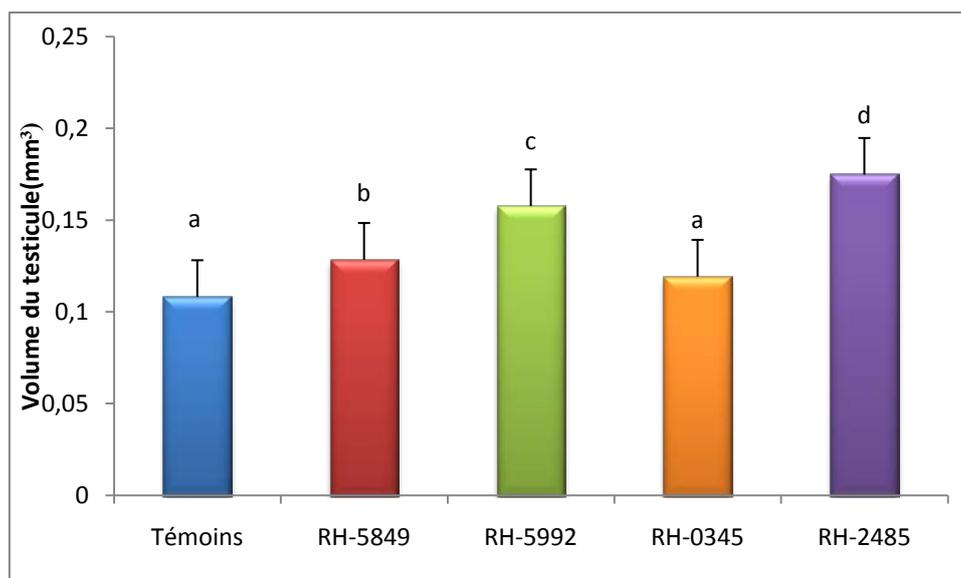


Figure18. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles sur le volume (mm³) du testicule d’*Ephestia kuehniella*. (m ± SD ; n= 10). Les moyennes suivies d’une même lettre ne sont pas significativement différentes (P> 0,05).

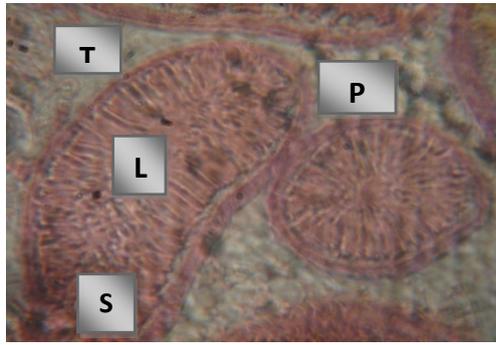
Le test de Tukey nous a permis de les classer en quatre groupes qui sont : Témoins et traités avec le RH-0345 ; les traités avec le RH-5849 ; les traités avec le RH-5992 et enfin ceux traités avec le RH-2485 (Tableau 24).

Tableau 24. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-2485, RH-5992, RH-0345 et RH-5849) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles d’*Ephestia kuehniella* sur le volume du testicule : analyse de la variance. (m ± SD ; n=10).

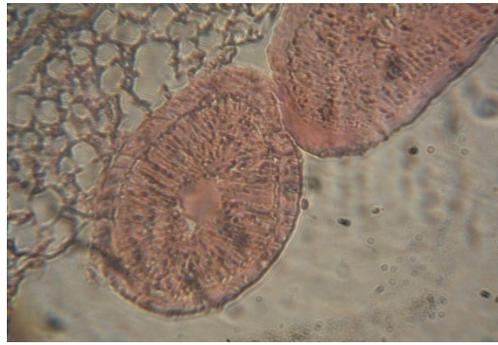
Sources	DDL	SC	CM	F obs	P
Facteur	4	0,030725	0,007681	8,94	0,000
Erreur	45	0,038644	0,000859		
Totale	49	0,069369			

3.4. Impact des mimétiques de l’hormone de mue sur la structure du testicule

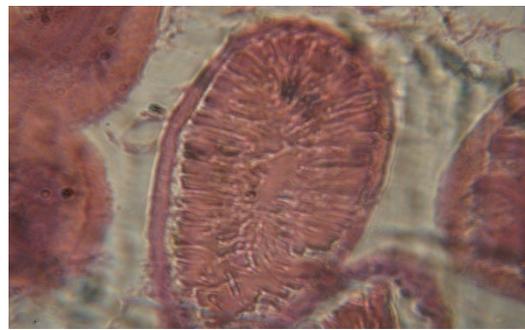
La structure du testicule ou le déroulement de la spermatogenèse a été estimé sur des coupes histologiques d’abdomens de papillons adultes, dès leur émergence (0jour). L’observation en microscopie optiques des lames préparées, ne révèle aucune altération de la structure chez les lames des séries traitées par rapport à la structure des lames séries témoins. En effet, les tubes séminifères semblent pleins et les cellules spermatiques semblent être intactes. (Figure 19).



A



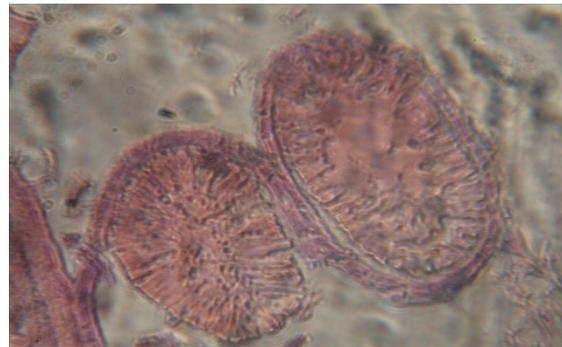
B



C



D



E

Figure19 : Coupes histologiques du testicule d' *Ephestia kuehniella* A : Témoin ; B : Traités RH-5849 ; C : Traités RH-5992 ; D : Traités RH-0345 et E : Traités RH-2485.(x 600).

T: tube séminifère; P:paroi du tube séminifère; L: lumière du tube séminifère; S:cellules spermatiques

3.5. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la composition biochimiques du testicule :

Chez *Ephestia kuehniella*, les traitements ont été réalisés à l'exuviation nymphale et l'évaluation des différents paramètres a été effectuée sur des testicules de mâles prélevés à l'émergence des papillons (0 jours). L'étude biochimique a permis de déterminer les teneurs en métabolites (protéines, lipides et glucides), en acides nucléiques (ADN et ARN) et ecdystéroïdes (hormone de mue) dans les testicules.

3.5.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le taux des métabolites.

*** Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le taux des protéines totaux**

La quantification a été faite à partir d'une courbe de régression exprimant l'absorbance en fonction d'albumine standard (Tableau 25; Fig. 20).

Tableau 25: Dosage des protéines dans le testicule de l'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jour : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité de protéines (µg)	Absorbances
0	0
20	0,100
40	0,303
60	0,474
80	0,663
100	0,770

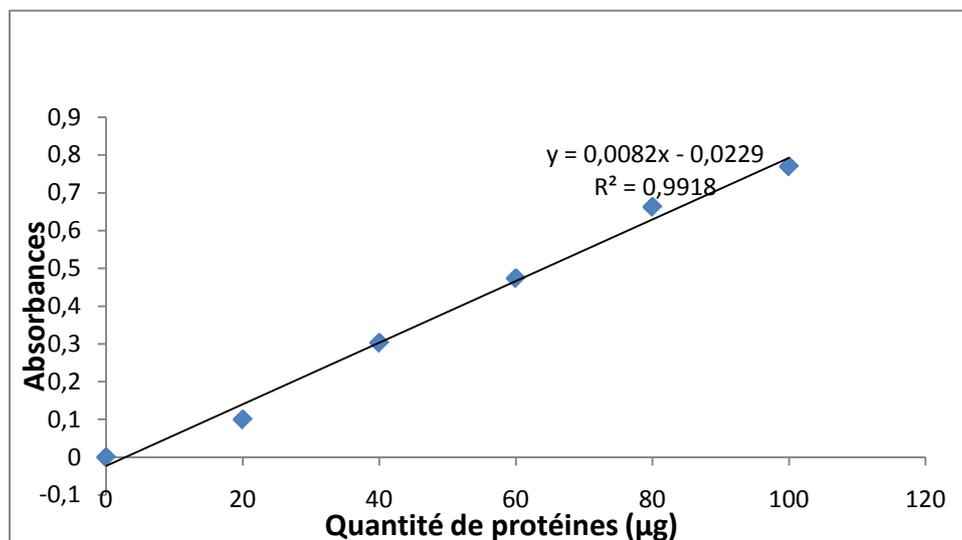


Figure 20. Dosage des protéines dans le testicule de l'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jour : droite de régression exprimant l'absorbance à 595nm en fonction de la quantité d'albumine standard.

Les résultats de l'ANOVA ne montrent aucun effets sur les taux de protéines ($F_{4,10}=1,52$; $p>0,05$) (Tableaux 26 et 27 ; Fig. 21).

Tableau 26. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés in vivo par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des protéines totales testiculaire (µg/mg) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ($m\pm SD$; $n=4$; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes $p > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Taux des protéines totales	59,73±5,26 a	61,00±11,40 a	82,73±8,85 a	69,27±5,61 a	64,17±4,30 a

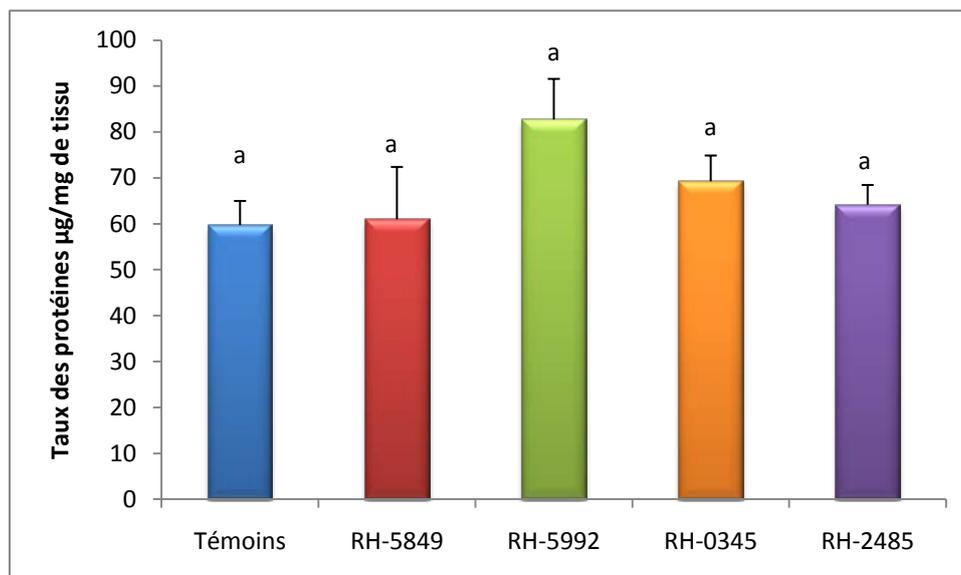


Figure 21. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés *in vivo* par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des protéines totales testiculaires (µg/mg) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ($m \pm SD$; $n=4$).

Tableau 27. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur le taux des protéines totales testiculaires : analyse de la variance.

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	1047	262	1,52	>0,05
Erreur	10	1721	172		
Totale	14	2768			

*** Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le taux des lipides totaux :**

La quantification des lipides totaux a été faite à partir d'une courbe de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides obtenue par la gamme d'étalonnage (Tableau28 ; Fig. 22).

Tableau28 : Dosage des lipides dans le testicule adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jour: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité de lipides (µg)	Absorbances
0	0
50	0,026
100	0,051
150	0,108
200	0,155
250	0,227

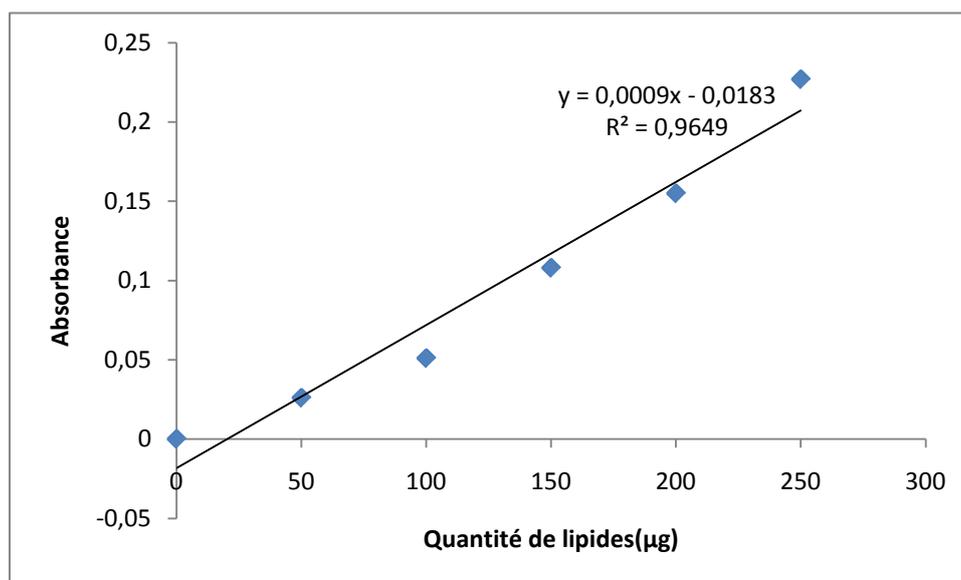


Figure22. Dosage des lipides dans le testicule de l'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jours: droite de régression exprimant l'absorbance à 530 nm en fonction de la quantité de l'huile de table.

Les résultats de l'ANOVA montrent une augmentation hautement significatif des taux de lipides chez les traités avec le RH-0345 ($F_{4,10} = 94,99$; $p < 0,001$). En effet, le taux des lipides passe de $813,6 \pm 22,8$ chez les témoins à 2228 ± 146 chez les traités avec le RH-0345 et une baisse significative chez les individus traités avec le RH-5849, RH-2485 et RH-5992 (Tableau 29 ; Fig. 23).

Tableau 29. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des lipides totaux testiculaire ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ($m \pm SD$; $n=4$; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes $p > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Taux des lipides totaux	813,6 \pm 22,8 a	575,7 \pm 38,0 c	458,4 \pm 54,1 b	2228 \pm 146 d	518 \pm 53,9 c

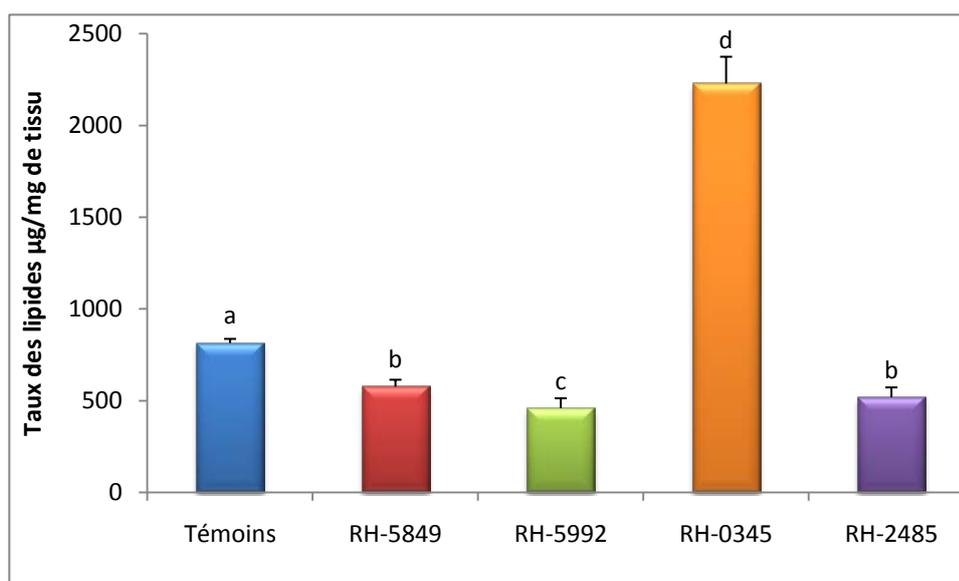


Figure 23. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des lipides totaux testiculaire ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ($m \pm SD$; $n=4$).

Le classement par le test de Tukey met en évidence 4 groupes par ordre décroissant : le premier groupe est représenté par les individus traités avec le RH-0345 ; le deuxième groupe par les témoins ; le troisième groupe par ceux traités avec les RH-2485 et RH-5849 et enfin le quatrième groupe par ceux traités avec le RH-5992 (Tableau 30).

Tableau 30. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur le taux des lipides totaux testiculaires : analyse de la variance.

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	6645410	1661353	94,99	< 0,001
Erreur	10	174893	17489		
Totale	14	6820303			

***Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le taux des glucides totaux :**

La quantification a été faite à partir d'une courbe de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucides obtenus par la gamme d'étalonnage (Tableau 31 ; Fig. 24).

Tableau 31: Dosage des glucides dans le testicule d'*Ephestia kuehniella* adulte âgé de 0 jours: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité de glucose (µg)	Absorbances
0	0
20	0,256
40	0,476
60	0,634
80	1,018
100	1,293

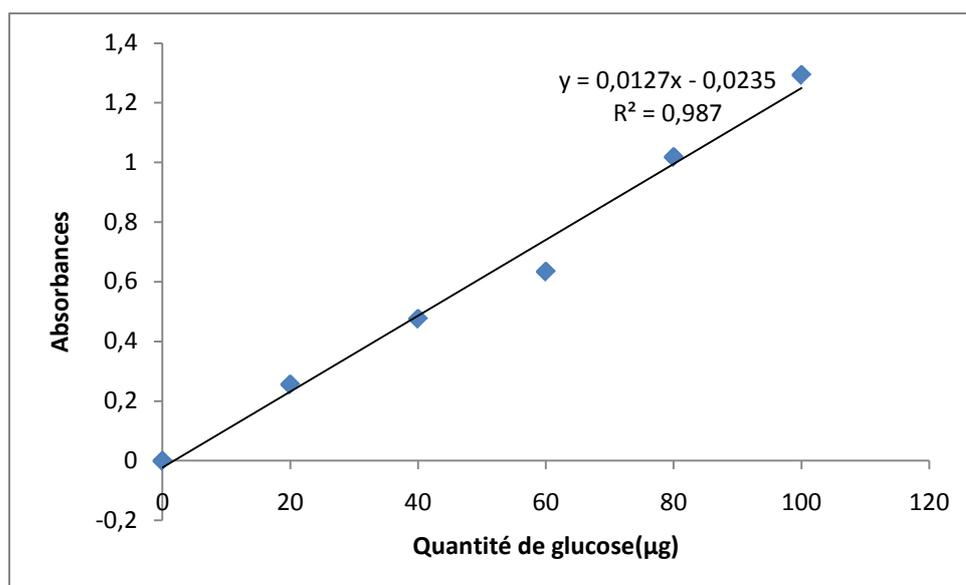


Figure 24. Dosage des glucides dans le testicule de l'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jours: droite de régression exprimant l'absorbance à 620 nm en fonction de la quantité de glucose (µg).

Les résultats de l'ANOVA montrent un effet traitement hautement significatif sur la concentration en glucides. ($F_{4,10} = 69,27$; $P < 0,001$). En effet, le taux des glucides augmente uniquement chez les traités avec le tébufénozide, tandis qu'une réduction significative est notée chez les traités avec le RH-5849 (Tableau 32; Fig. 25)

Tableau 32. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des glucides totaux testiculaires ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ($m \pm SD$; $n=4$; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes $p > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Taux des glucides totaux	71,33 \pm 2,43 a	48,94 \pm 1,93 c	195,22 \pm 4,75 b	67,95 \pm 6,64 a	77,4 \pm 13,1 a

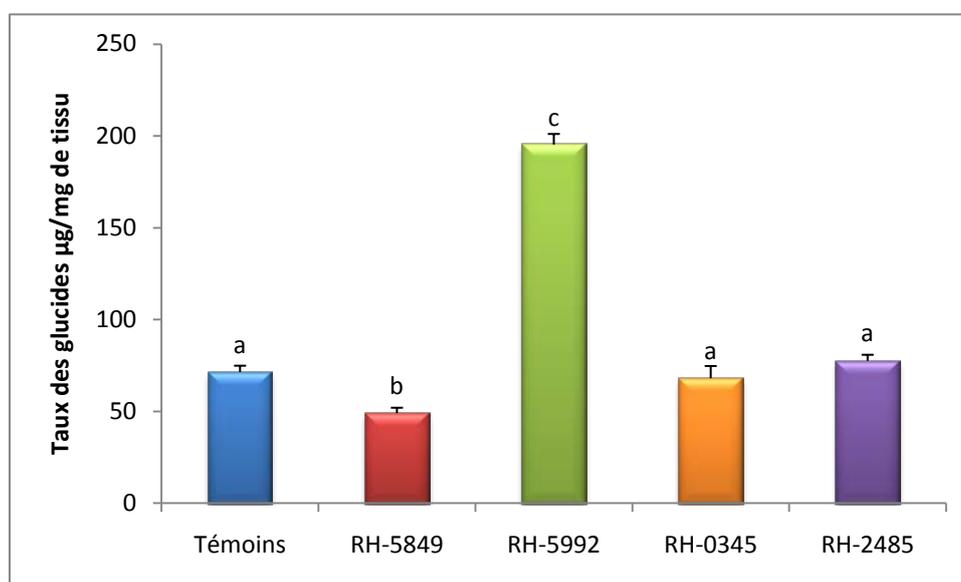


Figure 25. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur les glucides totaux testiculaire ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les adultes d'*Ephestia kuehniella* ($m \pm SD$; $n=4$).

Le classement par le test de Tukey met en évidence 3 groupes. Le premier groupe est représenté par ceux traités avec le RH-5992, le second groupe par les témoins et les traités avec le RH-2485, RH-0345 et enfin le troisième groupe par ceux traités avec le RH-5849 (Tableau 33).

Tableau 33. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur le taux des glucides totaux testiculaire : analyse de la variance.

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	41180	10295	69,27	< 0,001
Erreur	10	1486	149		
Totale	14	42666			

3.5.2. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le taux des acides nucléiques :

Les résultats révèlent que les traitements effectués sur les chrysalides mâles nouvellement exuviées présentent des effets variables sur la quantité d'acides nucléiques.

*** Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le taux d'ADN**

La détermination des taux d'ADN a été réalisée à partir des courbes de références exprimant l'absorbance en fonction des quantités d'ADN standard (Tableau34 ; Fig.26).

Tableau 34 : Dosage de l'ADN dans le testicule de l'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0jour: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité d'ADN (µg)	Absorbances
0	0
20	0,066
40	0,144
60	0,180
80	0,224

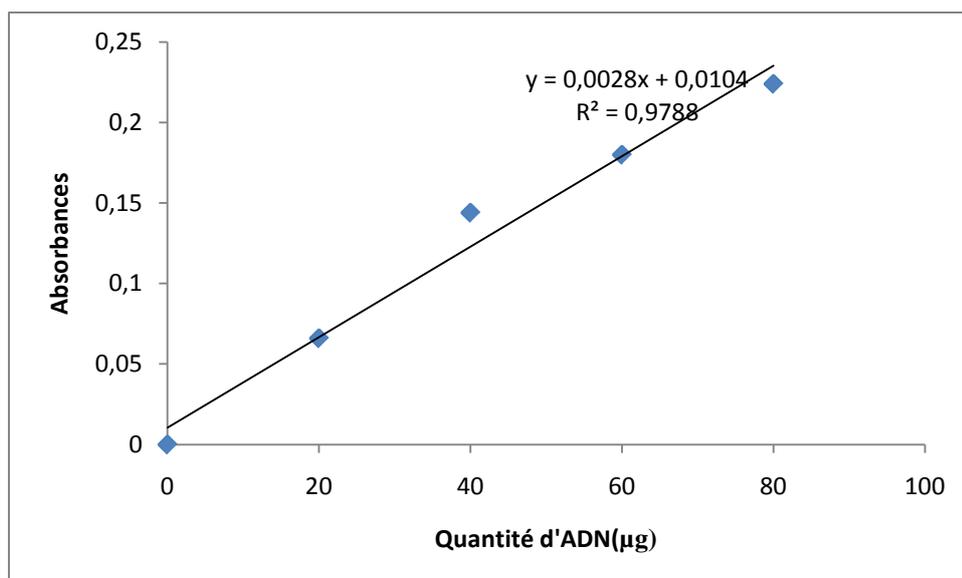


Figure 26. Dosage des acides désoxyribonucléiques (ADN) dans le testicule de l'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0jour: droite de régression exprimant l'absorbance à 602nm en fonction du taux d'ADN standard (µg).

L'ANOVA ($F_{4, 15} = 1170,43$; $p < 0,001$) révèle un effet traitement hautement significative sur le taux d'ADN testiculaire comparativement aux témoins. La quantité d'ADN augmente significativement chez les individus traités avec le tébufénozide et diminue d'une manière significative chez ceux traités avec les trois autres agonistes comparativement aux témoins. Le classement par le test de Tukey met en évidence quatre groupes par ordre décroissant : le premier groupe est représenté par les individus traités avec RH-5992, le deuxième groupe par les témoins, le troisième groupe par ceux traités avec le RH-2485 et enfin le quatrième groupe par les individus traités avec les RH-5849 et RH-0345 (Tableaux 35 et 36 ; Fig. 27).

Tableau 35. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*Ephestia kuehniella* sur le taux d'ADN testiculaire ($m \pm SD$; $n=4$) : Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Taux d'ADN	81,72±1,21 a	22,10±0,80 d	199,30±4,53 c	21,83±0,81 d	41,76±0,64 b

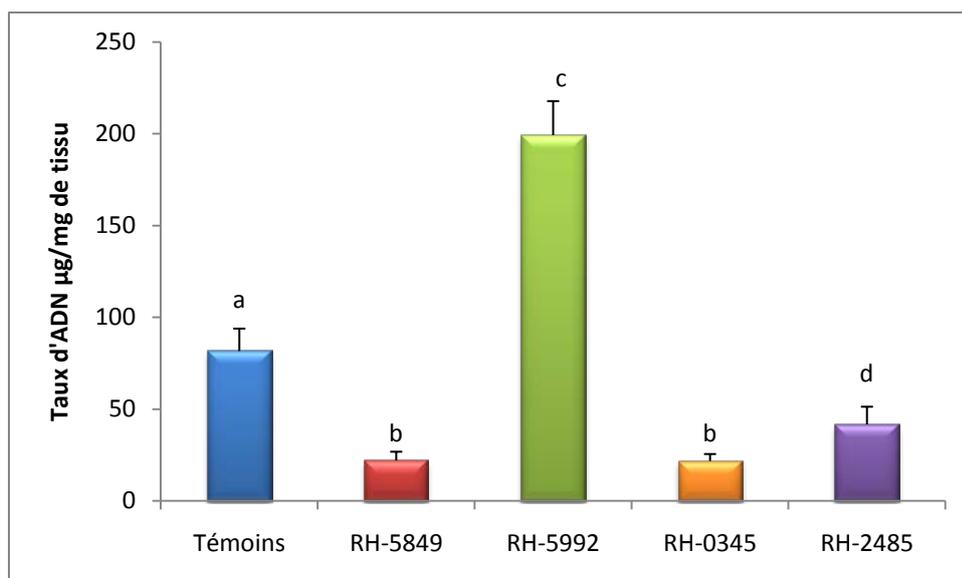


Figure 27. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés *in vivo* par application topique à l’émergence des chrysalides mâles sur le taux d’ADN testiculaire (µg/mg) chez les adultes d’*Ephestia kuehniella* ; (m±SD ; n=4).

Tableau 36. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés *in vivo* par application topique à l’émergence des chrysalides mâles d’*Ephestia kuehniella* sur le taux d’ADN testiculaire : analyse de la variance.

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	88842,0	22210,5	1170,43	<0,001
Erreur	15	284,6	19,0		
Totale	19	89126,6			

*** Impact des mimétiques de l’hormone de mue sur le taux d’ARN**

La détermination des taux d’ARN a été réalisée à partir d’une courbe de régression exprimant l’absorbance en fonction du taux d’ARN standard (Tableau 37 ; Fig .28).

Tableau 37: Dosage de l’ARN dans le testicule de l’adulte d’*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jour: réalisation de la gamme d’étalonnage.

Quantité d’ARN (µg)	Absorbances
0	0
20	0,031
40	0,067
60	0,094
80	0,127

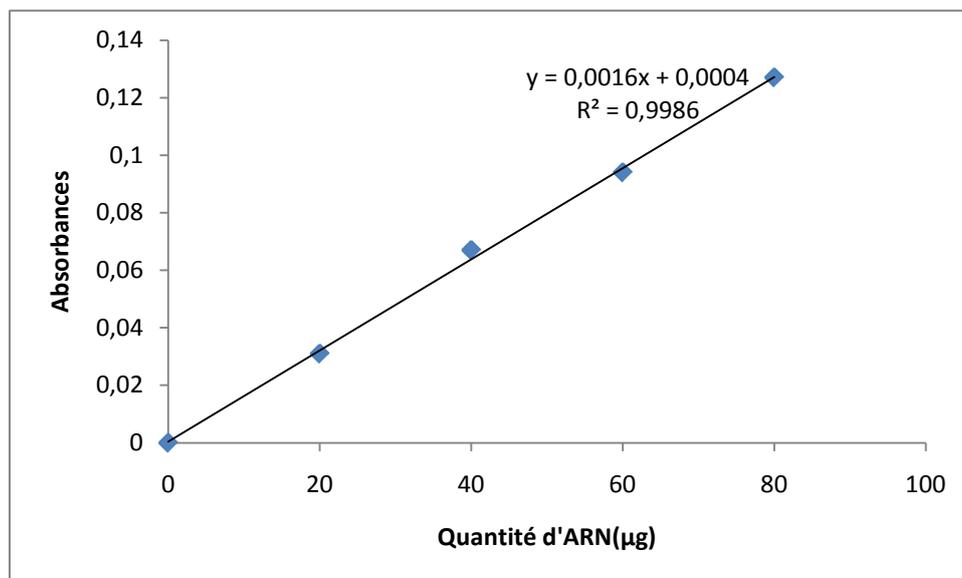


Figure 28. Dosage des acides ribonucléiques (ARN) dans le testicule de l'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jours : droite de régression exprimant l'absorbance à 660nm en fonction de la quantité d'ARN standard (µg).

Concernant les ARN testiculaires, l'ANOVA indique également un effet traitement significatif ($F_{4,5}=885,65$; $p<0,001$) et le test de Tukey permet de classer les traitements en quatre groupes par ordre décroissant de la quantité d'ARN : RH 5849, RH-0345, Témoins, RH-2485 et RH-5992. Ainsi, les quantités d'ARN diminuent significativement chez les séries traitées avec le tébufénozide et méthoxyfénozide par rapport aux témoins. Par contre, une augmentation significative est observée chez les séries traitées avec le RH-5849 et le halofénozide (Tableaux 38 et 39 ; Fig. 29).

Tableau 38. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux d'ARN testiculaire (µg/mg de testicule) chez les adultes d'*E. kuehniella* ($m \pm SD$; $n=4$; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes $p>0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Taux d'ARN	145,45±2,46 a	293,79±3,79 b	109,89±2,96 c	202,40±1,73 d	113,09±1,45 c

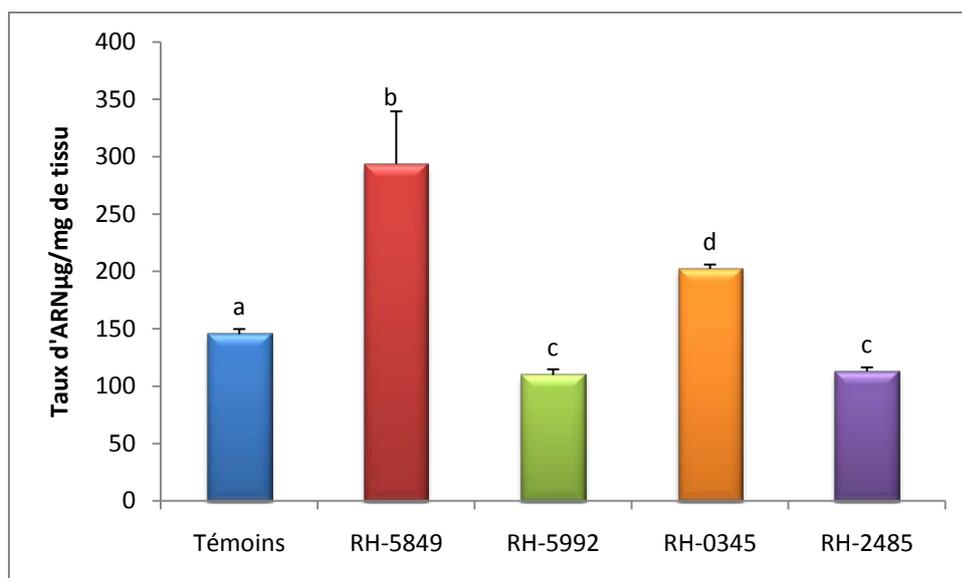


Figure 29. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles sur le taux d’ARN testiculaire ($\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes d’*E. kuehniella* ($m \pm SD$; $n=4$)

Tableau 39. Impact des mimétiques de l’hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l’émergence des chrysalides mâles d’*E. kuehniella* sur le taux d’ARN testiculaire : analyse de la variance.

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	97091,7	24272,9	885,65	<0,001
Erreur	15	411,1	27,4		
Totale	19	97502,8			

3.5.3. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le taux des ecdystéroïdes :

La quantification des ecdystéroïdes a été faite dans les testicules avec une méthode EIA chez des mâles d'*Ephestia kuehniella* témoins et traités avec les différents mimétiques de l'hormone de mue à partir d'une courbe de référence exprimant le rapport B/B₀ en fonction des logarithmes décimal des concentrations molaires (M) de l'hormone standard : l'ecdysone. Les résultats sont exprimés en pg d'équivalents E/mg de tissu testiculaire et représentés dans le tableau 40 et la figure30 .

Tableau 40 : Analyse quantitative des ecdystéroïdes libérés *in vivo* par le testicule d'adulte d'*Ephestia kuehniella* âgé de 0 jour. Courbe de référence établie avec un anticorps polyclonal (B de lapin) et exprimant B/B₀ en fonction des concentrations molaires (M) d'ecdysone.

Solution standard	Concentration (M)	B/B ₀
1	10 ⁻⁷	6,2
2	10 ⁻⁸	13,9
3	10 ⁻⁹	52,4
4	10 ⁻¹⁰	65,6
5	10 ⁻¹¹	87,0
6	10 ⁻¹²	89,3
7	10 ⁻¹³	100,2

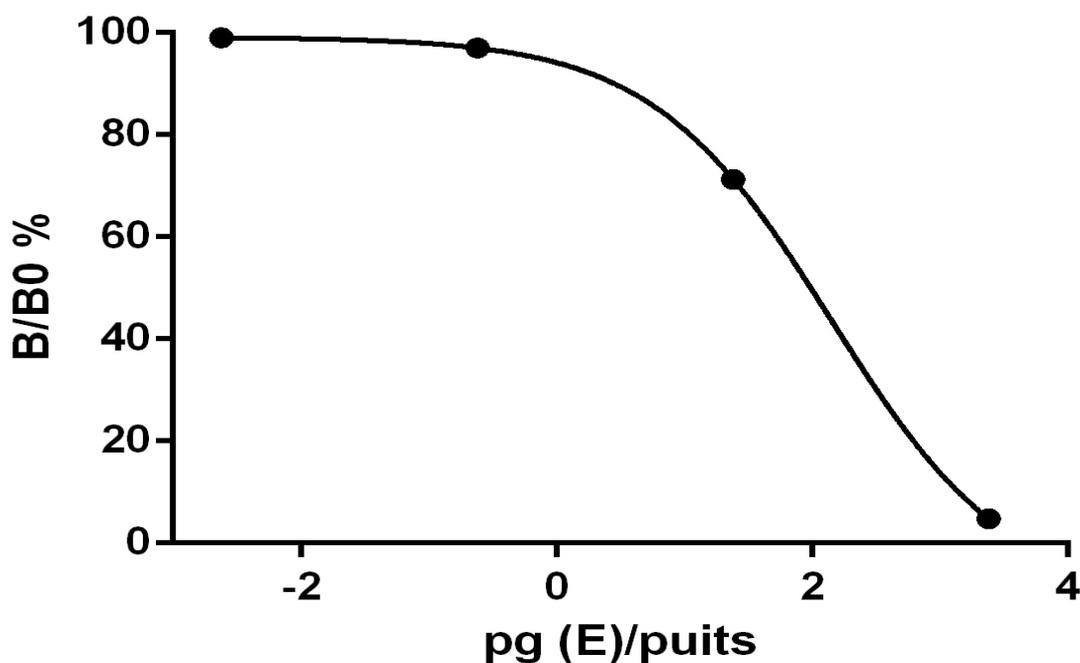


Figure 30. Dosage EIA des ecdystéroïdes libérés par le testicule d'adulte d'*E.kuehniella* âgé de 0 jour. Courbe de référence établie avec un anticorps polyclonal (B de lapin) et exprimant B/B₀ en fonction des concentrations molaires (M) d'ecdysone (E).

Les résultats de l'ANOVA montrent qu'il n'y a aucun effet de ces molécules par rapport aux témoins sur le taux des ecdystéroïdes ($P=0,664$). (Tableaux 41 et 42 ; Fig.31).

Tableau 41 .Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ecdystéroïdes testiculaire (pg/mg de testicule) chez les adultes d'*E. kuehniella* ($m \pm SD$; $n=4$; les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes $p > 0,05$).

Traitements	Témoins	RH-5849	RH-5992	RH-0345	RH-2485
Taux des ecdystéroïdes	$39,78 \pm 2,70$ a	$38,51 \pm 1,86$ a	$41,20 \pm 1,38$ a	$39,29 \pm 3,59$ a	$40,00 \pm 2,60$ a

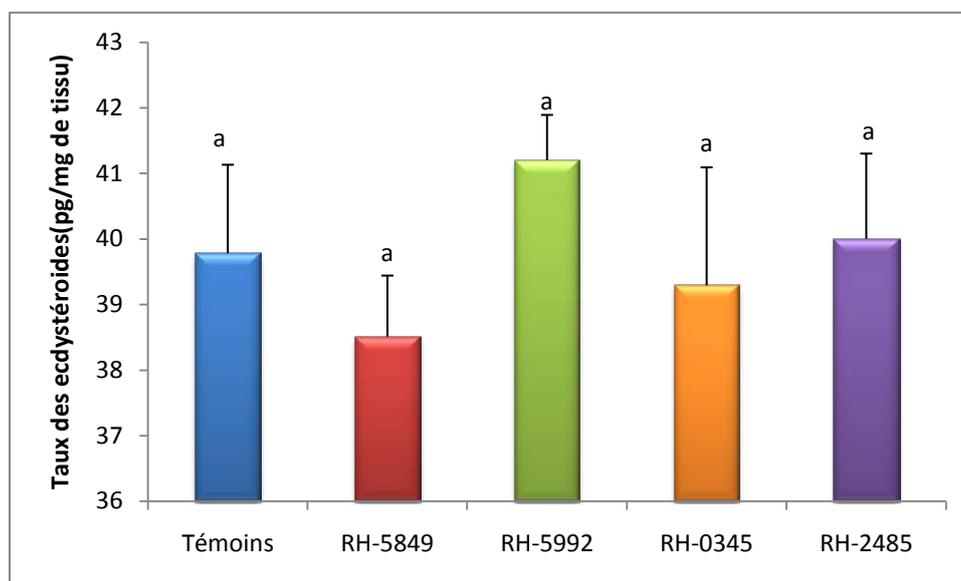


Figure 31. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ecdystéroïdes testiculaire (pg/mg de testicules) chez les adultes d'*E. kuehniella* ($m \pm SD$; $n=4$).

Tableau 42. Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d'*E. kuehniella* sur le taux des ecdystéroïdes testiculaires : analyse de la variance.

Sources	DDL	SC	CM	Fobs	P
Facteur	4	15,72	3,93	0,61	0,664
Erreur	15	97,19	6,48		
Totale	19	112,91			

DISCUSSION

4. Discussion

4.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur les événements potentiel reproducteur :

Chez les insectes, comme chez toutes les espèces vivantes, les femelles ont développé des stratégies afin de maximiser leur potentiel reproducteur, la probabilité que leur progéniture survive jusqu'à l'âge de la maturité sexuelle. En effet, celles-ci produisent un nombre restreint de gros gamètes, qui contiennent de bonnes quantités de réserves cytoplasmiques, conférant ainsi aux zygotes un avantage dans leur développement (Trivers, 1972; Rutowski, 1982).

Quel que soit le groupe taxinomique, il est important que l'ovulation chez la femelle survienne en même temps que l'insémination par le mâle de façon à éviter la fécondation d'ovules trop âgés pouvant entraîner des désordres dans le développement du zygote, voire sa mort (Tarin *et al.*, 2000). Ceci est aussi vrai concernant les spermatozoïdes, qui peuvent être trop âgés au moment de la fécondation (Tarin *et al.*, 2000). Dans les heures qui suivent la fin de l'accouplement, les spermatozoïdes quittent le spermatophore, logé dans la bourse copulatrice de la femelle et empruntent le conduit de la bourse pour se diriger vers la spermathèque où ils seront stockés jusqu'à la fertilisation des œufs (Marcotte, 2003).

Chez *E. kuehniella*, les étapes de la vitellogénèse s'effectuent pendant la vie nymphale. L'accouplement et la fécondation ont lieu pendant les 12 premières heures après l'exuviation adulte (période de préoviposition) et la période d'oviposition dure 3 à 4 jours (Taibi, 2007 ; Khebbeb *et al.*, 2008 ; Soltani-Mazouni *et al.* 2012) .

Nos résultats montrent que le traitement des chrysalides mâles dès leur exuviation nymphale perturbe significativement la période de préoviposition, la fécondité, et la viabilité des œufs. Les durées d'oviposition et de développement embryonnaire ne semblent pas être significativement affectées par ces insecticides. Les effets sont différents d'une molécule à l'autre. Le RH-5849 a un effet traitement sur la période de préoviposition qu'il allonge et sur la fécondité et la viabilité qu'il réduit. Le RH-5992 augmente aussi la période de préoviposition et réduit la fécondité et n'a aucun effet sur la viabilité des œufs. Le RH-0345 réduit la viabilité des œufs et n'a aucun effet ni sur la période de préoviposition ni sur la fécondité. Le RH-2485 a un effet sur la fécondité et sur la viabilité des œufs qu'il réduit.

Pineda *et al.*, 2009 ont montré une réduction de la fécondité des femelles de *Spodoptera littoralis* lorsque les mâles sont traités avec le RH-2485 et accouplés à des femelles non

traitées. L'inhibition de la fécondité pourrait être causée par le transfert de l'insecticide lors de la spermatogénèse. Ils supposent que le transport du RH-2485 aux œufs pourrait se faire par le sperme et cela pendant le processus de la copulation car lors de l'accouplement, les mâles lépidoptères transfèrent aux femelles un spermatophore qui contient en plus des spermatozoïdes des sécrétions produites par les glandes accessoires (Marcotte, 2003).

De même, Sun & Barrett (1999) et Knight (2000) ont observé une réduction de la fécondité des femelles de *C. pomonella* de 33% après traitement avec le RH-5992 et 60% avec le RH-2485. Cette réduction pourrait être expliquée par l'accumulation des insecticides dans les œufs transmis lors de l'accouplement par le mâle traité provoquant la réduction des ovocytes en affichant une apparence dégénérative ou parce que les mâles sont moins vigoureux.

Par ailleurs, la fécondité a été plus affectée lorsque les larves sont traitées par ingestion. En effet, les travaux menés par Rodriguez Enriquez *et al.* (2010) sur *S. littoralis* montrent que l'administration du RH-2485 par ingestion aux larves du troisième stade à une concentration sub létale (CL25), provoque une réduction importante des taux d'éclosion des œufs. Des résultats comparables ont été retrouvés après administration du RH-2485 par ingestion chez *S. exigua* (Luna *et al.*, 2011). Pineda *et al.* (2009) ont aussi rapporté que le Spinosad et le RH-2485, réduisent d'une manière dose-dépendante, la fécondité et la fertilité des femelles de *S. littoralis*. La présence de ces composés dans les œufs peut aider à comprendre la perte de la fertilité des œufs, due aux spermatozoïdes qui sont affectés (Carpenter & Chandler, 1994). Le pouvoir fertilisant des mâles subit des variations importantes, bien que la production de spermatozoïdes débutant dès la période nymphale se poursuive durant toute la vie de l'insecte. Ces insecticides pénètrent dans le corps de l'insecte par diverses voies et franchissent plusieurs barrières avant d'atteindre leurs cibles. Ils peuvent être réversiblement absorbés par tous les tissus puis détoxifiés et finalement excrétés (Ishaaya, 1995).

En effet, le tébufénozide, le halofénozide et le méthoxyfénozide réduisent la fécondité et la fertilité chez plusieurs espèces d'insectes comme *Choristoneura rosaceana* (Dallaire, 2003); *Cydia pomonella* (Sun & Barrett, 1999; Knight, 2000); *Spodoptera exigua* (Osario *et al.*, 2008); *Spodoptera littoralis* (Pineda *et al.*, 2009), *Leptinotarsa decemlineata* (Farinos *et al.*, 1999) et *T. molitor* (Taibi *et al.*, 2003).

Dhadialla *et al.* (1998) expliquent l'inhibition de l'oviposition par l'absence de sécrétion des facteurs stimulants l'oviposition qui sont normalement présents dans l'hémolymphe des femelles fécondées non traitées chez *S. exempta*, *S. exigua* et *L. decemlineata*.

La viabilité des œufs diminue chez les individus traités avec les RH-5849, RH-0345 et RH-2485. De même, Bouzeraa (2009) a noté une diminution de la viabilité des œufs d'*E. kuehniella* lorsque les mâles sont traités avec le RH-2485 et une réduction importante de la fécondité et la létalité de tous les œufs lorsque le RH-2485 est appliqué à la fois aux chrysalides mâles et femelles (Bouzeraa & Soltani-Mazouni, 2012). De plus, la réduction des taux de lipides et de sucres ainsi que l'augmentation des ecdystéroïdes libres dans les ovaires *E. kuehniella* après traitement avec le RH-2485 (Soltani-Mazouni *et al.*, 2012) suggère une réduction de la fécondité via une interférence de l'insecticide avec la vitellogénèse et son contrôle endocrine. A cette réduction de la fécondité s'ajoute une réduction de la viabilité des œufs.

D'autres études ont démontré que le RH-5992 réduisait la fertilité des mâles chez certains Lépidoptères comme *Helicoverpa zea* induisant ainsi une chute du nombre d'eupyrènes transférés aux femelles lors de l'accouplement (Carpenter & Chandler, 1994) et de *C. pomonella* (Sun & Barrett, 1999).

Le traitement des mâles et des femelles avec le RH-5992 et RH-2485 provoquerait un ralentissement de la période d'oviposition (Bouzeraa & Soltani-Mazouni, 2012) et une diminution de la période d'oviposition, de la fécondité et de la viabilité des œufs (Soltani-Mazouni *et al.*, 2012). De plus, le RH-5849 interfère dans l'ovulation et l'oviposition, puisque les ecdystéroïdes stimulent les cellules neurosécrétrices pour la synthèse de l'hormone myotropique d'ovulation (Smagghe & Degheele, 1994a). La sécrétion de l'hormone de l'ovulation se fait après la libération d'un pic d'ecdystéroïdes (Hagedorn, 1985). La réduction du nombre d'œufs pondus par femelle et de la viabilité des œufs pourrait être attribuée à une action des agonistes des ecdystéroïdes sur la vitellogénèse mais également sur la production et la qualité des spermatozoïdes et le comportement sexuel (Soltani-Mazouni *et al.*, 2012 ; Bouzeraa & Soltani-Mazouni, 2012). Un certain nombre de travaux appuient cette dernière hypothèse ; en effet, l'halofenozide modifie le comportement sexuel chez *Blattella germanica* (Kilani-Morakchi *et al.*, 2009), tandis que le tébufenozide induit l'émergence d'adultes malformés avec une incapacité d'accouplement et de ponte chez *C. fumiferana* (Sundaram *et al.*, 2002). Enfin, selon Tunaz & Uygun (2004), les adultes peuvent ainsi être stériles ou posséder des organes génitaux anormalement développés, ce qui entrave le processus de

l'accouplement ou la capacité de produire une descendance fertile. Cet impact des agonistes des ecdystéroïdes sur la spermatogenèse est suggéré par plusieurs travaux : ainsi, il a été rapporté que le tébufenozide réduit la fertilité des mâles avec une chute du nombre de spermatozoïdes eupyrrènes chez *Helicoverpa zea* (Carpenter & Chandler, 1994), *C. pomonella* (Sun & Barrett, 1999), *Argyrotaenia velutiana* et *Choristoneura rosaceana* (Sun *et al.*, 2000) ainsi que leur succès d'accouplement (Dallaire, 2003). Selon Smagghe *et al.* (2004), l'oviposition et la viabilité des œufs sont moins affectés quand les mâles de *C. pomonella* sont traités avec le RH-5992. Sun & Barrett (1999) ont montré une diminution de la fécondité chez *C. pomonella* lorsque les mâles sont traités avec le RH-2485, ainsi qu'une diminution de l'activité de l'accouplement (Bruce & Barrett, 2008). Enfin, le halofenozide (RH-0345) administré par application topique aux femelles de *T. molitor* allonge la période de préoviposition, diminue la fécondité et la viabilité des œufs (Taibi *et al.*, 2003). De même, le méthoxyfénozide administré aux mâles de *C. pomonella* diminue la fécondité (Sun & Barrett, 1999) et affecte l'activité de l'accouplement (Bruce & Barrett, 2008).

4.2. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la morphométrie des œufs :

Nos résultats sur l'impact de ces insecticides, mimétiques de l'hormone de mue sur la morphométrie des œufs révèlent un effet traitement sur le volume des œufs chez seulement les individus traités avec le RH-5849, alors qu'avec les autres insecticides aucun effet n'est constaté. Taibi, 2007, en traitant les chrysalides femelles nouvellement exuviées (0 jours) a aussi mis en évidence un effet traitement sur les œufs pondus d'*E. kuehniella* traité par le RH-0345 qu'il réduit ainsi que le chorion.

Smagghe & Degheele, 1992 ; 1994 et Salem *et al.* (1997) ont aussi signalé que le tébufénozide affectait le développement des œufs. Celui-ci provoque une perturbation de la différenciation cellulaire avec une réduction évidente des cellules dans le germanium. Il réduit aussi la croissance ovocytaire, impliquant ainsi la réduction du volume des œufs. La structure des enveloppes de l'œuf ainsi que le développement de la couche cristalline ont été étudié chez *D. melanogaster* (Margaritis, 1985a ; Margaritis & Mazzini, 1989 ; Trougakos & Margaritis, 2002) et chez *Hygus lineolaris* (Peter *et al.* 2002). Au cours de la choriogénèse le dépôt successif de l'enveloppe vitelline, l'endochorion et l'exochorion par les cellules folliculaires nécessite la présence de l'hormone de mue ce qui a été mis en évidence *in vitro* chez *B. germanica* (Bellés *et al.*, 1993). Chez les insectes, la sécrétion des enveloppes protectrices nécessite la présence conjointe de la 20E et de la JH (Cassier *et al.*, 1997 ;

Kidokoro *et al.*, 2006).). On peut donc penser, que la réduction du volume observé sur les œufs pondus par les femelles traitées est probablement liée à des interactions endocrines des insecticides régulateurs de croissance avec les ecdystéroïdes ovariens au cours de la formation des œufs. Lors de l'accouplement, des sécrétions produites par les glandes accessoires accompagnent généralement les nombreux spermatozoïdes transférés à la femelle. Ces sécrétions sont connues pour avoir un rôle nutritif (Marshall & McNeil, 1989). Une étude effectuée par Boggs & Gilbert (1979) à l'aide de marqueurs radioactifs montre, chez trois espèces de papillons, qu'il ya transfert direct de ces éléments nutritifs du mâle à la femelle et que ceux-ci sont subséquemment incorporés soit dans les œufs, soit dans les tissus somatiques de la femelle ou dans les deux. Ces sécrétions accessoires emmagasinés dans les tissus de la femelle (Pivnick & McNeil, 1987 ; LaMunyon, 1997) pourraient être impliquées dans le transport et l'activation des spermatozoïdes (Xue & Noll, 2000) et la stimulation de la ponte (Léopold, 1976 ; Chen, 1984).

4.3. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur le poids, la taille et la structure du testicule :

Les gonades mâles des insectes sont constituées de deux testicules fusionnés en un seul organe médian (Phillips, 1970). Chaque testicule est formé de 4 tubes séminifères ou follicules testiculaires. Chaque follicule est entouré par une couche de cellules épithéliales suivie par des couches successives de cellules germinales de différents stades de développements qui sont : spermatogonies, spermatocytes, spermatides et enfin spermatozoïdes.

Chez les insectes, on distingue deux types de spermatozoïdes : les eupyryènes (avec noyaux) et les apyryènes (sans noyaux, plus courts et de diamètre inférieur à celui des eupyryènes ; Silberglied *et al.*, 1984 ; Gage & Cook, 1994 ; Friedlander, 1997). Lors de l'accouplement, les eupyryènes sont transférés sous forme de faisceaux peu motiles (Gage & Cook, 1994). Ces derniers ne s'activent qu'à leur arrivée dans la spermathèque (Katsuno, 1978) et jouent un rôle dans la fertilisation des œufs (Friedländer & Gitay, 1972) et la stimulation de la ponte (Flint & Kressin, 1969 ; Karpenko & North, 1973 ; Sugai & Sugita, 1976 ; Lachance *et al.*, 1978 ; Thibout, 1979). A l'inverse, les apyryènes sont libres et très motiles (Ferro & Akre, 1975 ; Katsuno, 1978 ; Friedlander, 1977 ; Silberglied *et al.* , 1984) et ils le demeureront jusqu'à leur dégénérescence complète (Katsuno, 1978). Leur rôle reste toujours incertain, bien que leur présence peut contribuer à la prolongation de la durée de la période réfractaire chez les femelles accouplées (Silberglied *et al.*, 1984 ; Friedlander, 1997). Ils ont aussi pour rôle de

faciliter le passage des spermatozoïdes eupyrènes à travers la membrane basale des testicules (Katsuno, 1977).

La spermatogenèse des spermatozoïdes apyrènes se déroule de la même façon que celle des spermatozoïdes eupyrènes du moins jusqu'à la phase de maturation. A ce moment là, et plus précisément lors de la deuxième division méiotique, les chromosomes des spermatozoïdes apyrènes, contrairement à ceux des eupyrènes, vont se répartir de façon irrégulière et finir par se dissoudre dans les spermatides, d'où l'absence de chromatine chez ce type de spermatozoïdes (Fain-Maurel, 1966). La régulation du cycle spermatique et du cycle de mue est contrôlée par les mêmes hormones (Wigglesworth, 1972) qui sont les ecdystéroïdes et les hormones juvéniles (Braquart, 1988) où leur mécanisme d'action lié au cours du développement et de la reproduction (Lafont *et al.*, 2005 ; Gäde *et al.*, 1997).

Nos expériences mené *in vivo* sur des chrysalides mâles nouvellement exuviées (0jours) ont porté sur le poids, la morphométrie et la structure des testicules. Le traitement des chrysalides nouvellement exuviées avec les différents mimétiques de l'hormone de mue ne révèle aucun effet significatif sur le poids frais des testicules. Les expérimentations menées par Hami (2012) ont montré que le RH-2485 et le pyriproxifène administrés *in vivo* aux chrysalides femelles d'*E.kuehniella* à l'émergence, réduisent significativement le poids frais des ovaires et le nombre d'ovocytes. Des perturbations de la morphométrie de l'ovaire avec le RH-5849, RH-5992 sont également observées chez *Plodia interpunctella* (Silhacek *et al.*, 1990) , *S.littoralis* (Smagghe & Degheele,1994c) et chez *Choristoneura fumifirana* (Retnakaran *et al.*, 2005).

Par contre un effet traitement hautement significatif est observé sur la taille des testicules des adultes d'*E.kuehniella* où l'on remarque une augmentation du volume. De même, le tébufénozide, le halofénozide et le méthoxyfénozide, réduisent le poids frais des ovaires, le nombre d'ovocyte par paire d'ovaires et la longueur de l'ovocyte basal chez *E. kuehniella* (Hami *et al.*, 2005 ; Khebeb *et al.*, 2008 ; Soltani-Mazouni *et al.*, 2012). L'halofénozide (RH-0345), affecte la morphométrie des ovaires chez *T. moltor* (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001 ; Taibi,2007) et chez *Blatella germanica* (Kilani-Morakchi *et al.*, 2009a). Le dibenzoylhydrazine (RH-5849), provoque une perturbation du développement des ovaires chez les lépidoptères (Aller & Ramsay, 1988 ; Salem *et al.*, 1997 ; Hami *et al.*, 2005) , les coléoptères (Wing & Ramsay, 1989) ou encore les diptères (Smagghe & Degheele,1992). Le tébufénozide (RH-5992) induit une réduction du poids des testicules chez *E.kuehniella*

(Khebbab *et al.*, 2008), réduit la fertilité des mâles avec une chute du nombre de spermatozoïdes eupyrènes chez *Helicoverpa zea* (Carpenter & Chandler, 1994), *C. pomonella* (Sun & Barrett, 1999), *Argyrotaenia velutinana* (Sun *et al.*, 2000).

Pour ce qui est du déroulement de la spermatogénèse, les coupes histologiques n'ont mis en évidence aucun effet traitement. En effet l'étude de la structure de l'abdomen d'*E. kuehniella* montre clairement que l'administration des différents insecticides par voie topique ne provoque aucune altération des tubes séminifères qui semblent pleins, donc intacts : aucune différence avec les tubes séminifères des séries témoins. D'autres études sur le déroulement de la spermatogénèse ont été effectuées sur des orthoptères. En effet, Bakr *et al.*, (2010), en traitant les larves du 5ème stade (DL50) de *Schistocerca gregaria* avec deux autres régulateurs d'insectes, Héxaflumuron et Fénoxycarbe ont mis en évidence des anomalies dans les tubes séminifères et dans le déroulement de la spermatogénèse ; les mêmes effets ont été observés chez *Locusta migratoria* (Nath *et al.*, 1976) et *Earias insulina* (Hussein *et al.*, 1993), *Heteracris littoralis* (Ghazawi *et al.*, 2007) traités respectivement avec hexaméthylmélanine, pyriproxifène et azadirachtine.

4.4. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la composition biochimique des testicules :

La plupart des travaux se sont intéressés à l'ovaire et à sa maturation ainsi qu'à l'accumulation de certains constituants biochimiques notamment lors de la vitellogénèse. Les métabolites (protéines, lipides et glucides), les acides nucléiques (ADN et ARN) et les ecdystéroïdes ont des rôles essentiels dans la physiologie de l'insecte en particulier dans la reproduction et le développement (Cassier *et al.*, 1997 ; Ramswany *et al.*, 1997 ; Taibi *et al.*, 2003). Mais peu de travaux ont été effectués sur les testicules.

4.4.1. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur les métabolites testiculaires :

Le métabolisme intermédiaire est directement impliqué dans plusieurs processus physiologiques (croissance, immunité, mue, reproduction, maturation sexuelle...), qui nécessite un apport quantitatif et qualitatif des divers métabolites à savoir les protéines, les lipides et les glucides (Cole, 2002). Ces constituants biochimiques jouent un rôle métabolique essentiel dans le développement du tractus génital (Kanost *et al.*, 1990).

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes. Ces dernières entrent dans divers réactions et peuvent assurer la catalyse biochimique, la régulation hormonale et s'intègrent dans la cellule en tant qu'éléments structuraux en même temps que les glucides et les lipides (Jacobe *et al.*, 1961). Les protéines qui sont nombreuses et variées sont représentées par les vitellines, qui proviennent des vitellogénines présentes dans l'hémolymphe et produites par le corps gras. Ces vitellogénines sont captées par les ovocytes grâce à des récepteurs spécifiques présents sur leurs membranes sous l'effet de la JH (Harnish & White, 1982 ; Engelman, 1983 ; Kunkel & Nordin, 1985). La vitellogénine représente 60 à 90% du vitellus chez la plupart des insectes.

Les glucides représentent l'élément énergétique principal de l'organisme. Les taux de glycogène et de tréhalose, dans les tissus et l'hémolymphe, sont étroitement liés aux événements physiologiques comme la mue et la reproduction (Wiens & Gilbert, 1967). Les glucides, dont la synthèse semble être effectuée au contact des membranes ergastoplasmiques, représentent également l'élément énergétique de l'organisme jouant un rôle essentiel dans la physiologie des insectes (Cassier *et al.*, 1997)

Les lipides constituent également une source d'énergie essentielle chez les insectes (Beenaker *et al.*, 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leur synthèse et de leur stockage vers les organes utilisateurs via l'hémolymphe (Keeley, 1985). Les globules lipidiques paraissent élaborés à partir d'un matériel qui transite par le réticulum puis l'appareil de Golgi. Il provient des corps gras *via* l'hémolymphe sous forme de lipoprotéines ; il présente une partie importante des réserves (Cassier *et al.*, 1997).

La maturation sexuelle chez les insectes nécessite un apport quantitatif et qualitatif des divers métabolites. Cet apport est sous la dépendance d'un contrôle hormonal exercé par les ecdystéroïdes et la JH (Bellés, 1995 ; Ramswany *et al.*, 1997). L'importance des ecdystéroïdes dans le processus de la vitellogénèse dépend principalement du moment où cette activité est initiée dans le développement de l'insecte.

Les effets de ces analogues observés chez les nymphes d'*E.kuehniella*, notamment biochimiques vont se répercuter chez les adultes. Dans ce contexte, les protéines interviennent dans la formation des gamètes comme source énergétique (Borsa & Millet, 1992). Les glucides sont destinés entre autre à l'élaboration des produits génitaux (Chalabi, 2001). Les lipides représentent aussi une source importante d'énergie chez les insectes ; ils jouent également un rôle très important lors de la vitellogénèse ainsi que dans la synthèse des prostaglandines (Stanley-Samuels & Loher, 1986).

Durant la maturation sexuelle, le corps gras libère ces nutriments ou précurseurs (protéines, glucides et lipides) qui seront captés *via* l'hémolymphe par les gonades pour y être utilisés à des fins énergétiques (Downer, 1985 ; Stanley-Samuelson *et al.*, 1988 ; Raikhel & Dhadialla, 1992 ; Stanley-Samuelson & Pedibothla, 1996 ; Soulages & Wells, 1994). L'activité des spermatozoïdes est également assurée par ces métabolites grâce à l'énergie fournie par le fluide séminal riche en phospholipides, glycogène et en acides aminés (Charniaux-Cotton & Payen, 1988).

Le dosage des principaux constituants biochimiques testiculaires a mis en évidence un effet traitement hautement significatif sur les taux de lipides et de glucides, alors que les taux de protéines ne sont pas affectés chez les séries traitées par rapport aux témoins.

De plus, les concentrations des différents métabolites dans les gonades sont significativement réduites chez les adultes traités ; dans le même contexte, Bensalem & Soltani-Mazouni (2013), en dosant les principaux métabolites dans les testicules d'*E. kuehniella* ont trouvé que l'administration de l'enalapril et le lisinopril entraîne une diminution significative du taux des glucides et des protéines testiculaires, alors que le taux des lipides n'est pas affecté. De même, une réduction dans les concentrations des protéines, glucides et lipides est décrite chez *Blatella germanica* traité au RH-0345 (Rouibi , 2002) ainsi que chez *T. molitor* (Soltani-Mazouni & Soltani, 1992) et chez *C. pomonella* (Soltani & Soltani-Mazouni , 1992) traités par le DFB. Le KK-42 et le RH-0345 utilisés *in vivo*, réduisent les concentrations des protéines ovariennes chez *T. molitor* (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001) et chez *Anastrepha suspensa* par le RH-5849 (Lawrence ,1992). La diminution de taux en protéines testiculaires chez *S. littoralis* après traitement par le chlorfluazuron est expliquée par l'accumulation des protéines dans l'hémolymphe et l'interférence avec les mécanismes contrôlant la spermatogénèse (Perveen, 2011). Cette réduction enregistrée au niveau de la composition biochimique des gonades est accompagnée par une diminution significative du poids frais des ovaires et des testicules, ce qui a été reporté par d'autres travaux, notamment chez *B. germanica* traité par le RH-0345 (Rouibi , 2002).

4.4.2. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur les acides nucléiques testiculaires :

L'ecdysone, présent dans l'hémolymphe se lie à des sites spécifiques de la paroi du testicule, altère sa perméabilité et permettrait l'entrée de macromolécules (ADN ; ARN) : l'ecdysone est donc indispensable à la spermatogenèse, puisqu'elle contrôle le fonctionnement de l'appareil reproducteur. De nombreuses expériences ont démontré que l'ecdysone accélère les divisions mitotiques durant les premiers stades de la spermatogénèse (Dumser & Davey, 1975 ; Dumser, 1980 ; Szopa *et al.*, 1985) .

On trouve les acides nucléiques dans les cellules de presque chaque organisme. Chez les lépidoptères, au moment de la maturité sexuelle (phase nymphale chez les lépidoptères), les cellules germinales se transforment en spermatozoïdes après un certain nombre de divisions successives. Selon Ramswamy & Cohen (1992), l'ARN messager joue un rôle dans la synthèse des protéines nécessaire à la formation des organites des spermatozoïdes tels que les mitochondries. Plusieurs processus biologiques peuvent influencer sur la quantité d'ARN dans une cellule incluant les processus de détoxification ou de stress ainsi que les variations des autres formes d'ARN.

Le dosage des acides nucléiques réalisé dans les testicules des individus témoins et traités par les différents insecticides chez *E.kuehniella* révèle une modification de la composition des taux d'ADN et d'ARN en fonction du traitement. Nos résultats mettent en évidence un effet traitement hautement significatif sur la quantité d'ADN testiculaire chez les adultes d'*E.kuehniella*. Celle-ci est réduite par le RH-5849, l'halofénozide et le méthoxyfénozide contrairement au tébufénozide qui la stimule.

Les insecticides, analogues de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) perturbent les concentrations en ADN au niveau du testicule chez *E.kuehniella* où on remarque une hausse hautement significative chez les individus traités avec le RH-5992 et une baisse significative chez les traités avec les RH-2485, RH-5849 et RH-0345. Un effet similaire a été constaté chez *B. germanica* traité par le RH-0345 (Rouibi, 2002) et *Eupolybothrus nudicornis* (Daas-Maamcha, 2006). Le DFB testé *in vivo* chez *T. molitor*, affecte le contenu ovarien (Soltani-Mazouni & Soltani, 1994) et peut aussi affecter les mitoses et les synthèses d'ADN dans l'épiderme sternal de *T. molitor* (Soltani *et al.*, 1998) . Chez *Stomoxys calcitrans*, l'inhibition de l'ADN par le DFB est spécifique aux cellules originaires des histoblastes épidermiques imaginaux (De Loach, 1981) . Le traitement par trempage avec

le DFB des adultes d'*Anthrenomus grandis* provoque une inhibition de la synthèse de l'ADN qui est à l'origine d'une diminution de la fécondité. Le flucycloxuron (FXC), un inhibiteur de la synthèse de la chitine, perturbe aussi l'évolution de l'ADN ovarien chez *E. kuehniella* entraînant une augmentation dans le contenu d'ADN (Bendjeddou, 1993). Des résultats similaires ont été obtenus chez les larves de *Tribolium castaneum* après traitement au malathion et au perméthrin (Schakoori & Saleem, 1989) et également chez *Choristoneura funifera* après traitement au cyromazine (Binnington & Retnakaran, 1991). Après traitement avec le FME (Farnesyl-Méthyle-Ether) un autre analogue de la JH, des chenilles de *Malacosoma americanum* présentent un retard dans le développement ovarien dû à l'inhibition de la synthèse d'ADN dans les ovocytes des femelles traitées (Mansirgh & Steele, 1974).

Le dosage quantitatif de l'ARN testiculaire, révèle une augmentation du taux d'ARN chez les individus traités avec le RH-5849 et le RH-0345 et une légère baisse chez les traités avec le RH-5992 et RH-2485. Les agonistes des ecdystéroïdes présentent une activité insecticide à l'égard d'*E. kuehniella* en affectant les concentrations en ARN au niveau des testicules des mâles adultes.

L'application topique des divers insecticides nous a permis d'observer les désordres entraînés dans les différents processus physiologiques comme la reproduction ou le développement. La 20E et ses mimétiques sont ainsi capables d'affecter tous les compartiments corporels régulés par la 20E et la JH. Les agonistes des ecdystéroïdes présentent un potentiel pesticide très important, car les substituts sont plus actifs que les ecdystéroïdes du fait d'un plus lent métabolisme (Oberlander *et al.*, 1995 ; Wing, 1988).

Le spermatozoïde accumule en grande quantité les matériaux protéiques, mais l'élaboration des protéines dépend de la synthèse préalable d'ARN, pour laquelle l'ADN chromosomique et nucléolaire sert de matrice. Le nucléole donc, lieu de synthèse de l'ARN ribosomal, émet des extrusions qui se répartissent dans le nucléoplasme et correspondent à une augmentation de la quantité d'ADN qui sert de matrice pour la synthèse de l'ARNr.. D'autres études ont montré (Pandir & Sahingoz, 2014) que l'exposition des larves d'*E. kuehniella* pendant un temps déterminé à un champ magnétique créait un stress oxydatif entraînant des dommages irréversibles de l'ADN des cellules.

4.4.3. Impact des mimétiques de l'hormone de mue sur la production des ecdystéroïdes testiculaires :

Les ecdystéroïdes, sont des stérols poly hydroxylés présents, chez tous les insectes. Ils sont essentiels à chaque mue et à chaque changement morphologique qu'un insecte subit (Svoboda & Feldlaufer, 1991).

De nombreuses études réalisées sur divers ordres d'insectes ont démontré l'implication de l'HJ et de l'Ecdysone ainsi que certaines neurohormones dans le contrôle de la physiologie de la reproduction, la vitellogénèse, la spermatogénèse et le développement des glandes accessoires (Raikhel & Dhadialla, 1992 ; Bellès, 2005 ; Bellès & Maestro, 2005). Les ecdystéroïdes sont impliqués dans le contrôle de la réinitiation méiotique dans l'ovocyte (Yamashita & Suzuki, 1991), la synthèse de la vitellogénine, l'augmentation de la compétence des cellules folliculaire à incorporer cette protéine dans les ovocytes en développement (Ramaswamy *et al.*, 1997), l'ovulation (Ruegg *et al.*, 1992), la spermatogénèse (Alrubeai & Gorell, 1982), l'induction de la sclérotisation des œufs par la stimulation de la formation du chorion (Sahlen, 1994 ; Lafont *et al.*, 2005) et l'inhibition de la production de l'HJ (Lanot *et al.*, 1989).

La quantification des ecdystéroïdes synthétisés par les testicules des mâles adultes d'*E. kuehniella* témoins et traités avec les quatre analogues de l'hormone de mue, RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485 a été réalisée par un dosage enzymo-immunologique.

Les effets de ces quatre molécules, ont été envisagés *in vivo* sur le taux hormonal des testicules d'adultes d'*E.kuehniella*. Les données obtenus révèlent que le traitement des chrysalides mâles nouvellement exuviées est sans effet sur le profil hormonal testiculaire. Contrairement à nos résultats, les travaux menés *in vivo* sur *T. molitor* par Soltani-Mazouni *et al.*, (2004) ont révélé que le RH-0345 , le RH-5992 et le RH-5849 augmentent le taux des ecdystéroïdes ovariens chez les femelles adultes de *T. molitor*.

Toujours dans le même contexte et contrairement à nos résultats, le traitement des adultes de *T. molitor* avec différents agonistes des ecdystéroïdes (RH-5849 , RH-5992 et RH-0345) dès l'émergence adulte , diminue la production d'ecdystéroïdes par les ovaires de 2 et 4 jours correspondant au début et à la fin de la vitellogénèse avec un effet plus significatif enregistré avec le RH-5992 comparativement au RH-0345 et le RH-5849 (Boukachabia *et al.*, 2003). Hami *et al.*, (2005) et Soltani-Mazouni *et al.*, (2012) ont montré que le traitement des chrysalides femelles par le RH-2485, le RH-0345 et RH-5992 augmente significativement le taux des ecdystéroïdes ovariens par rapport aux témoins. Une autre molécule, l'enalapril, un inhibiteur de l'enzyme de conversion de l'angiotensine, administré à des chrysalides mâles

d'*E.kuehniella*, augmente le taux des ecdystéroïdes dans les testicules et est sans effet sur le taux des ecdystéroïdes ovariens chez la même espèce (Bensalem & Soltani-Mazouni, 2013).

Des mimétiques de la 20 E (RH-5849 et RH-5992) ont aussi été testés par Wing, (1988) et Oberlander *et al.*, (1995) qui ont détecté après traitement *in vitro*, des taux élevés d'ecdystéroïdes dans des explants tégumentaires qui sont probablement dus à l'action directe de l'agoniste qui est en compétition avec les ecdystéroïdes naturels sur les mêmes récepteurs.

La métamorphose des insectes est régie par un équilibre hormonal complexe dans lequel l'hormone juvénile (HJ) joue un rôle important. Au dernier stade larvaire, la teneur en HJ est particulièrement faible dans le corps de l'insecte. Si un régulateur de croissance d'insecte est appliqué à ce moment là, la mue nymphale est perturbée provoquant des déformations ou perturbations (Chen & Gu, 2006).

Chez les arthropodes, les ecdystéroïdes servent d'hormones de croissance, voire de régulateurs d'embryogenèse, et ils servent aussi chez certains à synchroniser les événements liés à la reproduction. Plusieurs travaux ont été consacrés à la régulation endocrine, notamment chez les insectes ; ils montrent que les ecdystéroïdes jouent un rôle majeur et sont présents à tous les stades de la vie de l'insecte : pendant le stade larvaire : dans le cadre de la mue imaginale où on notera le rôle de l'ecdysone dans la différenciation de nombreux tissus et organe et dans le phénomène d'apoptose et chez l'adulte où il existe plusieurs sources d'ecdystéroïdes: les testicules et les ovaires en font partie. Les ecdystéroïdes sont formés par les insectes à partir de stérols alimentaires ; ils les transforment après ingestion en cholestérol. Ce dernier subit diverses oxydation et hydroxylation pour fournir l'ecdysone qui sera à son tour convertie en 20 E par l'enzyme Ecdysone-20-monooxygénase (Feyereisen & Durst, 1978 ; Smith, 1985).

Contrairement aux insecticides classiques, ces produits s'avèrent plus sélectifs et sécuritaires, permettant ainsi d'épargner les organismes non visés tels les prédateurs et les parasitoïdes (Dadhialla *et al.*, 1998). La présence de ces produits dans l'organisme de l'insecte perturbe le système hormonal en initiant une mue prématurée, incomplète et létale. Les RH-5992 et RH-2485 se sont avérés spécifiques aux lépidoptères et les RH-0345 et RH-5849 aux coléoptères. Quoique toujours spéculative, cette différence pourrait avoir pour origine la variabilité interspécifique dans la structure du récepteur de l'ecdysone des différents ordres d'insectes (Smagghes *et al.*, 1996a). Ces produits sont employés dans le but de contrôler les populations d'insectes ravageurs. En tout, ils régulent la mue, la métamorphose et la reproduction.

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

Conclusion et perspectives

L'étude menée a permis d'évaluer l'action de quatre molécules sélectives appartenant à la classe des régulateurs de croissance des insectes, les agonistes non stéroïdiens des ecdystéroïdes sur la reproduction d'un modèle d'insecte, ravageurs des denrées stockées : *Ephestia kuehniella* Zeller. Ces mimétiques de l'hormone de mue ont été administrés, par application topique à l'émergence des chrysalides mâles afin d'évaluer leurs impacts sur la reproduction (événements du potentiel reproducteur, les œufs et les testicules) et sur la composition biochimique (métabolites, acides nucléiques et ecdystéroïdes).

L'administration de ces insecticides, provoquent des modifications qui affectent la reproduction et la composition biochimique. L'activité comparée du RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485 révèle une perturbation tant au niveau reproduction qu'au niveau composition biochimique.

Pour ce qui est du potentiel reproducteur, les résultats obtenus montrent que les RH- 5849 et RH-5992 allongent la période de préoviposition et aucun effet n'est constaté sur la durée d'oviposition ni sur la durée du développement embryonnaire. Par contre, la fécondité (nombre d'œufs/femelle) et la viabilité (%d'œufs éclos) sont réduites par les RH-5849, RH-5992 et RH-2485.

De plus, les mensurations des œufs révèlent un effet traitement chez les individus traités avec le RH- 5849 où on remarque une réduction du volume hautement significative.

Pour ce qui est du poids des testicules, aucun effet traitement n'est constaté. Cependant, ces molécules ont un effet sur la morphométrie des testicules, qui augmentent chez les individus traités avec les RH-5849, RH-5992 et RH-2485.

L'étude histologique des testicules montre que ces molécules, régulateurs de croissance testés n'ont aucun effet sur le déroulement de la spermatogenèse où on constate des tubes séminifères pleins qui ne semblent pas altérés.

L'étude de la composition biochimique a permis de quantifier le taux des métabolites (protéines, lipides et glucides) le taux des acides nucléiques (ADN et ARN) et le taux des ecdystéroïdes dans les testicules.

Le dosage des métabolites réalisés sur des testicules de mâles adultes (papillons) indique que le taux des protéines testiculaire n'a pas été affecté, alors que le RH-0345 augmente d'une manière significative le taux des lipides et qu'une baisse est observée chez les individus traités avec les RH-5849, RH-5992 et RH-2485. La production des glucides testiculaires est elle aussi perturbée chez les individus traités avec le RH-5992 où on remarque une augmentation significative. Une baisse est aussi observée chez les individus traités avec le RH-5849.

Le dosage des acides nucléiques est aussi perturbé par ces insecticides où on remarque une augmentation du taux d'ADN testiculaire chez les individus traités avec le RH-5992 et une baisse chez les traités avec les autres insecticides à savoir les RH-5849, RH-0345 et RH-2485. Le taux d'ARN est aussi affecté où on remarque une nette perturbation. Une hausse est observée chez les traités avec le RH-5849 et le RH-0345 et une baisse chez les individus traités avec les autres molécules c'est-à-dire le RH-5992 et RH-2485.

L'analyse quantitative des ecdystéroïdes dans le testicule, au cours du stade adulte a été réalisée par une méthode immuno-enzymatique (EIA). La comparaison entre les testicules de mâles témoins et mâles traités ne révèle aucun effet traitement sur la production des ecdystéroïdes testiculaires.

En perspective, il serait intéressant de poursuivre ces études en étudiant:

- L'ultra-structure du testicule.
- L'analyse qualitative et quantitative des ecdystéroïdes dans les œufs pondus.
- Le développement nymphal en quantifiant les taux des ecdystéroïdes.

RESUMES

RESUME

Les effets de quatre régulateurs de croissance ont été évalués *in vivo* sur la reproduction d'un insecte nuisible aux denrées stockées *Ephestia kuehniella* Zeller (Lépidoptera : Pyralidae). Ces insecticides ((RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) ont été testés en application topique sur des chrysalides mâles nouvellement exuviées à des doses correspondantes à leur DL₅₀ (RH-5849 : 0,05µg/insecte ; Tébufénozide : 0,005 µg/insecte ; Holofénozide : 5,10µg/insecte et Méthoxyfénozide : 0,001µg/insecte). Les évènements du potentiel reproducteur sont suivis sur des couples dont les adultes mâles survivent aux traitements des chrysalides accouplés à des femelles non traitées et le dosage des métabolites, des acides nucléiques et des ecdystéroïdes est effectué dans le testicule d'adultes mâles nouvellement émergés.

Les résultats obtenus montrent que ces insecticides entraînent des perturbations au niveau :

Du potentiel reproducteur : Les traitements aux différents insecticides induisent un allongement de la période de préoviposition par les RH-5849 et RH-5992, une réduction de la fécondité et de la viabilité par les RH-5849, RH-5992 et RH-2485. Aucun effet n'est constaté ni sur la période d'oviposition, ni sur la durée du développement embryonnaire.

De la morphométrie : L'étude morphométrique des œufs a révélé une réduction du volume chez les individus traités avec le RH-5849 alors que chez les autres traités aucun effet n'est constaté.

L'étude morphométrique des testicules montre qu'il n'y a aucun effet sur le poids, mais on observe une augmentation de la taille des gonades des individus traités avec les RH-5849 et une diminution chez ceux traités avec les RH-5992 et RH- 2485.

De la biochimie : L'étude biochimique a permis de déterminer les effets de ces molécules sur l'évolution des concentrations des principaux métabolites, des acides nucléiques et des ecdystéroïdes.

Les résultats obtenus montrent une augmentation du taux des lipides chez les traités avec le RH-0345 et une réduction chez les traités avec le RH-5849, RH-5992 et le RH- 2485 ; une diminution des glucides est observée chez les traités avec le RH-5849. Aucun effet n'est observé sur le taux des protéines pour les quatre molécules.

Le dosage des acides nucléiques montre une diminution du taux d'ADN chez les traités avec le RH-5849, RH-0345 et RH-2485 et une augmentation chez les traités avec le RH-5992. Une augmentation du taux d'ARN est observée chez les traités avec le RH-5849 et RH-0345 et une réduction chez les traités avec le RH-5992 et RH-2485.

L'analyse quantitative des ecdystéroïdes des séries traitées n'a donné aucun effet par rapport aux séries témoins.

Cependant, l'étude Histologique, sur des coupes d'abdomens d'insectes mettent en évidence des tubes séminifères intacts, non altérés par les différents mimétiques de l'hormone de mue.

Toutes ces modifications ou perturbations tant au niveau événements du potentiel reproducteur ou biochimie du testicule suggèrent une interférence de ces agonistes des ecdystéroïdes avec le processus de la spermatogenèse affectant ainsi la reproduction.

Mots clés : *Ephestia kuehniella* ; Insecte ; Agonistes de l'hormone de mue ; Reproduction ; Testicules ; Métabolites ; Acides nucléiques ; Ecdystéroïdes .

SUMMARY

The effects of four growth regulators were evaluated in-vivo on the reproduction of a pantry pest *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). These insecticides (RH-5849, RH-5992, RH-0345 and RH-2485) were tested topically on male chrysalis newly emerged corresponding to their respective LD50 (RH-5849: 0.05 g / insect; Tebufenozide: 0.005 g / insect; Halofenozide: 5.10 g / insect and Methoxyfenozide: 0.001 g / insect). Events of the reproductive potential are followed in couples whose adult males survived treatment of chrysalis and mated to untreated females, and, the dose determination of metabolites, nucleic acids and ecdysteroids is performed in the newly emerged adult male testicles.

The results show that these insecticides lead disturbances in:

Reproductive potential: Treatments with different insecticides induce a longer pre-oviposition period by RH-5849 and RH-5992, a reduction in fertility and viability by RH-5849, RH-5992 and RH-2485. No effect has been found either on the oviposition period, or the duration of embryonic development.

Morphometrics: The morphometric study of eggs showed a reduction of volume in individuals treated with RH-5849 whereas in other treated individuals, no effect was seen.

Morphometric study of testis shows that there is no effect on weight, but an increase in the size of the gonads of individuals treated with RH-5849, and a decrease was observed in those treated with RH-5992 and RH - 2485.

Biochemistry: The biochemical study determined the effects of these molecules on the evolution of the concentrations of the major metabolites, nucleic acids and ecdysteroids.

The results show an increase in lipid levels in treated individuals with RH-0345 and a reduction in those treated with RH-5849, RH-5992 and RH-2485, a decrease of carbohydrates was observed in the groups treated with RH-5849 and increase with RH-5992. No effect is observed on protein levels for the four molecules.

The determination of nucleic acids shows a decrease in DNA levels in individuals treated with RH-5849 and RH-2485 and an increase in those treated with RH-5992 and RH-0345. An

increase in RNA levels was observed in the groups treated with RH-5849 and RH-0345 and a reduction in those treated with RH-5992 and RH-2485.

Quantitative analysis of ecdysteroids series processed yielded no effect compared to control series.

However, the histological study on sections of abdomens insects highlight intact seminiferous tubules, unaltered by the various moulting hormone mimetics.

These modifications or interferences shown by reproductive potential and by biochemical changes of the testicles represented by the current data suggest an interference of the current ecdysteroid agonists with spermatogenesis, thus, affecting reproduction.

Keywords: *Ephestia kuehniella* ; Insects; Moulting Hormone Agonists; Reproduction; Testicles; Metabolites; Nucleic Acids; Ecdysteroids.

ملخص

تم تقييم أربعة منظمات النمو في المختبر على عملية تكاثر حشرة ضارة بالمحاصيل المخزنة تنتمي لرتبة حرشفيات الأجنحة (*Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera :Pyralidae)

قد تمت معاملة عذارى الذكور حديثة الانسلاخ موضعيا بالمبيدات (RH-2485, RH-0345, RH-5992, RH-5849) باستعمال الجرعات المميتة لـ 50 بالمئة و المتمثلة في : DL 50 لـ RH-5849 مقدرة بـ 0.05 مكغ/حشرة , Tebufénozide : 0.005 مكغ / حشرة , Halofénozide : 5.10 مكغ/حشرة و أخيرا Methoxyfénozide بـ 0.001 مكغ/حشرة .
و قد تم متابعة الأحداث المحتملة لعملية التكاثر من خلال أزواج تكون بها الذكور ناجمة عن معاملة العذارى و الإناث غير معاملة , في حين تم معايرة نواتج الأيض النووية و الهرمونات على خصي الذكور البالغين حديثي الخروج .
النتائج المتحصل عليها أظهرت بأن هذه المبيدات أدت إلى حدوث اضطرابات على مستوى كل من :

عملية التكاثر: أحدثت المعاملة بالمبيدات المختلفة إطالة في فترة ما قبل وضع البيض بعد المعاملة بكل من RH-5849 و RH-5992 أيضا نقص في عملية الخصوبة و البقاء عند كل من RH-5849 , RH-2485 , RH-5992 .
في حين لم يلاحظ أي تأثير لا على فترة وضع البيض ولا على مدة التطور الجنيني .

القياسات : الدراسة القياسية للبيوض أظهرت انخفاض في الحجم عند الأفراد المعاملة بمبيد RH-5849 ولم يلاحظ أي تأثير عند البقية .

إن الهراسة المرفومترية للخصي أظهرت عدم وجود تأثير على الوزن , لكن نلاحظ زيادة في حجم الغدد التناسلية عند الأفراد المعاملة بـ RH-5849 وانخفاض لدى المعاملين بكل من RH-5992 و RH-2485 .

الدراسة ببيوكيميائية: مكنت المعايرة البيوكيميائية من تحديد تأثيرات هذه المركبات على تطور تراكيز النواتج الأيضية الأساسية , الأحماض النووية و الهرمونات .

فأظهرت النتائج المتوصل إليها زيادة في كمية اللبيدات الكلية عند المعاملة بـ RH-0345 وانخفاض عند المعاملة بـ RH-5849 و RH-2485 , نقص في كمية السكريات تم ملاحظتها عند المعاملة بـ RH-5849 .
ولم يسجل أي تأثير في البروتينات الكلية عند الأربع مركبات .
معايرة الأحماض النووية أظهرت انخفاض في مجموع ADN عند المعاملة بـ RH-5849 و RH-2485 و ارتفاع عند المعاملة بـ RH-5992 و RH-0345 على التوالي. كما تم ملاحظة ارتفاع في مجموع ARN عند المعاملة بـ RH-5849 و RH-0345 و انخفاض عند كل من المعاملة بـ RH-5992 و RH-2485 .
إن التحليل الكمي لهرمونات الإنسلاخ عند المجاميع المعاملة لم تبدي أي تأثير مقارنة بالشاهد .

ومع ذلك، فإن دراسة المقاطع النسيجية لبطن الحشرات تسلط الضوء على الأنابيب المنوية سليمة ، دون أي تغيير عند المعاملة بواسطة مختلف مشابهاة هرمون الإنسلاخ .
كل هذه التغيرات أو الإضطرابات على مستوى أحداث ومراحل عملية التكاثر و كذا بيوكيميائية الخصي تشير إلى تداخل مشابهاة هرمون الإنسلاخ مع عملية تكوين الحيوانات المنوية مؤثرة بذلك على عملية التكاثر .

الكلمات المفتاحية : *Ephestia kuehniella* , حشرة , مشابهاة هرمون الإنسلاخ , تكاثر , خصي , عملية الأيض , أماض نوية , هرمون الإنسلاخ .

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

References Bibliographiques

Aller, H., & Ramsay, J.R. 1988. RH-5849 a novel insect growth regulator with a new mode of action .Brighton Crop Protection *Conf.Pests Dis.* **2** :511-518

Alrubeai H.F., & Gorell, T. A.1982. Electrophoreti analysis of testicular protein components in the developing *Tenebrio molitor*. *Insect. Biochem.*, **12**, 171-175

Amrani, L., Zerguine, K., Farine,J.P., Smaghe,G.,& Soltani-Mazoui,N. 2004. Imidazole derivative KK 42 reduces ecdysteroids titers and reproduction in adult female of *Tenebrio molitor* . *Pest.Biochem. Physiol.***80**: 163-172.

Amrani, L., & Soltani-Mazouni , N. 2012. Comparative activity of three inhibitors of the angiotensin converting enzyme on growth, development, and ecdysteroid contents of the Mediterranean flour moth , *Ephestia kuehniella* Zeller; *African Journal of Biotechnology*, **11(56)**: 11972- 11975.

Anderson, P., & Hallberg, G. 1990. Structure and distribution of tactile and bimodal taste /tactile sensilla on the ovipositor, tarsi and antennae of the flour moth *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Intern Morph .Emb* . 19 (1) : 13-23.

Aribi ,N. 1997. L'entrée en métamorphose chez *Zophoba atratus* (Coleoptera : Tenebrionidae) : Analyse des ecdysteroides ; effets de l'isolement (groupement) ; effets de régulateurs de croissance et étude des sources hormonales. Thèse de Doctorat, Université d'Annaba, Algérie.

Aribi, N., Quennedy,A., Soltani ,N.,& Delbecque, J.P. 1999. L'initiation de la métamorphose chez *Zophobas atratus* (Coleoptera : Tenebrionidae) effets des ligatures et des régulateurs de croissance . *Ann.Soc. Entomol. Fr.* (NS35) 59-64.

Aribi , N., & Lakbar, C. 2001. Effets du pyriproxifène sur certains aspects physiologiques dudéveloppement de *Tenebrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae). *Synthèse*, **9** :78-94.

Asahina, M., Fugo, H., & Takeda, S. 1994. Ecdysteroids synthesis in dissociated cells of the prothoracique glands of silkworm, *Bombix mori*. *Zool.*, **11(1)** 107-111.

Bakr, R.F.A., Mohamed, M.I., Abd Elazeem, El-Gammal., & Mahdy M, Noura. 2010. Histopathological change in the testis of the desert locust *Schistocerca gregaria* (Forsk.) induced by the IGR Consult and Lufox. *Egypt.Acad. J.biolog.Sci.*,(Histology)1(1):23-28(2010).

Balachowsky. 1972. Blood sucking ticks (Ixodoidea) - Vectors of diseases of man an and animals. *Mix. Publ. Ent. Soc. Am.* **8**: 161-376.

References Bibliographiques

- Barth, R.H., & Lester, L.J. 1973.** Neurohormonal control of sexual behavior insects. *Ann Rev. Entomol.* **18** :445-472.
- Bellés, X. 1975.** Interactions between corpora allata, fat body and ovary in insect reproduction : which controls which , Netherlands. *J Zool.*,**45** : 152-156.
- Bellés X., Cassier P., Cerdà X., Pascual N., André M., Rosso Y., & Piulasha M D. 1993.** Induction of choriogenesis by 20-hydroxyecdysone in the German cockroach *In*: Schal, C., Holbrook, G.L., Bachmann, J.A.S., V.L., Reproductive biology of the German cockroach, *Blattella germanica*: Juvenile hormone as a pleiotrophic master regulator. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* **35**: 405-426.
- Bellés , X. 1995.** Interaction between corpora allata fat body and ovary in insect reproduction : which controls which Netherlands. *J. Zool.*, **45**: 152-156.
- Bellés, X. 2005.** Vitellogenesis directed by juvenile hormone. In: *Reproductive Biology of invertebrates*, Vol. 12, Part B: *Progress in vitellogenesis*, A. S. Raikhel (ed), Science Publishers, Enfield, USA/Plymouth, UK, pp. 157-197.
- Bellés, X., & Maestro, J. L. 2005.** Endocrine peptides and insect reproduction. *Invert. Repro. Devel.*, **47** (1): 23-37.
- Beenakers, A M., T H., Vander Host , D G., & Van Marrewijk W J A. 1985 .** Insect lipids and lipoproteins and their role in physiological processes. *Prog. lipid. Res.***24**: 19-67.
- Bendjeddou , F. 1993.** La reproduction chez *Ephestia kuehniella* Zeller et effet du flucycloxonurone : Aspects toxicologiques, biologiques et biochimiques (ADN, ARN , Acides aminés et Protéines).Thèse de Magister .Université d'Annaba. Algérie.
- Bensalem F.,& Soltani-Mazouni, N. (2013).** Effect of Two Inhibitors of the Angiotensin Converting Enzyme in the Mediterranean Flour Moth: Biochemical Composition and Ecdysteroid Amount of Gonads. *European Journal of Scientific Research.* Vol.107 No **2**:186-194.
- Berry, S.J. 1985.** Reproductive system ; Fundamentals of insect physiology ,. M.S (Eds) .J wiley and Sons, New york. Pp 437-466., New york.
- Binnington ,C., & Retnakaran , A.1991.** Epidermis a biologically active target for metabolic inhibitors, pp. 307-334. In K. Binnington et Retnakaran (eds): *Physiology of the insect epidermis.* CSIRO Publications, Australia.
- Boggs, C. L., & Gilbert, L.E. 1979.** Male contribution to egg production in butterflies: Evidence of transfer of nutrients at mating. *Science* 206, 83-84.

References Bibliographiques

- Borsa, P., & Millet, B. 1992.** Recruitment of the clam *Ruditapes decussatus* in the lagoon of thau, mediterranean. Estuarine, coastal and shelf Science 35, 289-300.
- Boukachabia, A., Soltani-Mazouni, N., Smaghe G., & Soltani N. 2003.** Comparative effects of some ecdysteroid agonists in mealworms : Ecdysteroid amounts and protein analysis in developing ovaries under *in vivo* conditions. *Comm.Appli.Biol.Sci.*, Ghent University. **68(4A)** :307-312.
- Bouzeraa, H. 2009.** Impact de deux mimétiques de l'hormone de mue (RH-2485) et (RH-5992) sur le devenir des œufs d'un lépidoptère, ravageur des denrées stockées : *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera : Pyralidae) après traitement des mâles. Mémoire de Magister Physiologie Animale. Université Annaba. Algérie.
- Bouzeraa, H., & Soltani-Mazouni, N. 2012.** Effets du méthoxyfénoside et du tébufénoside sur le développement et quelques paramètres de la reproduction d'*Ephestia kuehniella* après traitement des mâles et des femelles. *Bull. Soc. zool. Fr.*, **137(1-4)**: 153-163.
- Bradford, M. M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal .Biochem.***72** : 284-254.
- Braquart, C. 1998.** Rôles des ecdystéroïdes et des hormones juveniles au cours du développement des insectes (Cycles de mue et reproduction). Thèse de Doctorat .Université de Bourgogne. Dijon. France.
- Bruce, A., & Barrett. 2008.** Assessment of methoxyfénoside exposure on the sexual attractiveness and responsiveness of adult codling moth, *Cydia pomonella* L., in small orchard blocks. *Entomology Program Area*, Université of Missouri, Columbia.
- Burton, A. 1956.** Study of the condition and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of desoxyribonucleic acid. *Biochemistry*, **62** : 315-323.
- Carlson G. R., Dhadialla T.S., Thompson C., Ramsay R., Tiragnam M., James W., & Slawechi R. 1994.** Insect toxicity, metabolism and receptor binding characteristics of the non steroidal ecdysone agonist, RH-5992, Prox XI th. Ecdysone Workshop, 43 .
- Carpenter, J. E., & Chandler, L.D. 1994.** Effects of sublethal doses of two insect growth régulateurs on *Helicoverpa zea* (Lépidoptera: Noctuidae) reproduction. *J.Entomol.Sci.***29**, 428-435.
- Cassier, P., Lafont, R., Descamps, M., & Soyez, D. 1997.** La reproduction des invertébrés : stratégies, modalités et régulation. *Edition Masson.*, 354p.

References Bibliographiques

- Chalabi, L. 2001.** Cycle de reproduction et composition biochimique de la palourde *Ruditapes decussatus* dans la baie d'Alger, *Rapp.Com.Int. Mer.Medit.*, **36** : 370p.
- Chandler, L.D., & Harrison, W.E. 1992.** RH-5992 a new insect growth regulator against earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ.Entomol.*, **85** :1099-1103.
- Charniaux-Cotton, H., & Payen, G. 1988.** Crustacean reproduction. In *Endocrinology of Selected Invertebrate Types* (ed. H. Laufer and R. G. H. Downer), New York: Alan R. Liss, pp.279 -303.
- Chebira, S., Soltani, N., Muylle, S., & Smagghe, G. 2006 .** Uptake and distribution of three insect growth regulators – diflubenzuron, flucycloxyuron and halofenozide in pupae and adults of *Tenebrio molitor*. *Phytoparasitica* **34(2)**:187-196.
- Chebira , S. 2007.** Evaluation de quelques insecticides sélectifs, inhibiteur de la chitine et d'un mimétique de l'hormone de mue, sur le développement de deux ravageurs des denrées stockées : *Tenebrio molitor* et *Ephestia kuehniella*. Thèse de Doctorat. Université d'Annaba. Algérie.112p
- Chen, P.S. 1984.** The functional morphology and biochemistry of insect male accessory glands and their secretions. *Annual Review of Entomology* **29**, 233-255.
- Chen, C. H., & Gu, S. H. 2006.** Stage -dependent effects of starvation on the growth, metamorphosis, and ecdystoidgenesis by the prothoracic glands during the last larval instar of the silkworm, *Bombyx mori* .*J.Insect .Physiol*: **52**: 968-974.
- Cillss. 2009.** Sahel PV- INFO. *Bull. Inf. Prot. Végét. UCTR/PV*, **48**: 25.
- Cole, S. T. 2002.** Comparative mycobacterial genomics as a tool for drug target and antigen discovery. *Eur Respir J* (in press)
- Daas-Maamcha, O. 2006.** Etude biologique de deux espèces de Myriapodes Chilipodes : *Eupolybothrus nudicornis* et *Lithbius forficatus*. Effets de traitement hormonaux et insecticides sur l'ovogenèse .Thèse de Doctorat. Université d'Annaba. Algérie. 191p.
- Dallaire, R. 2003.** Effets sous-létaux du tébufénozide, un régulateur de croissance d'insectes, sur la communication chimique et le succès reproducteur chez *Choristoneura fumeferana* et *C. rosaceana* (Lepidoptera : Tortricidae). Mémoire pour l'obtention du grade de maitre és sciences (M.Sc).
- Darvas, B., Timar ,T., Varjas L., Kulescar, P., & Bourdas ,B. 1989.** Synthesis of novel 2,2-Dimethylchloromene derivatives and their toxic activity on larva of *Pieris barassicae* (Lepidoptera : Pieridae) and *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera : Pieridae).*Art. Phytopathol. Entomol. Hungaria.* **24** : (3-4) : 455-472.

References Bibliographiques

- Darvas ,B ., Kuwano, E., Eto ,M., El Din, M.H.T., & Timar . 1990.** Effects of some anti juvenile hormone agents (Precocene II, J-2710 , KK-110) on post –embryonic development of *Neobillieria bulatta*. *Agri.And Biol. Chem.*,**54** :3045-3047.
- Darvas .B., Polgar L., Dinan M.H.T., Eross K. & Wing K.D. 1992.** Developmental disturbance in different order caused by an ecdysteroid agonist, RH-0345. *J.Econ. Entomol.*,**85** : 2107-2112.
- Davis ,R.E., Williams D.R., Turner, P.C., & Rees, H.H. 2006.** Characterization in relation to development of an ecdysteroid agonist-responsive cytochrome P450, CYP18A1, in *Lepidoptera*. *Arch.Biochem.biophysics*. **453** :2-10.
- Degheele, P. 1990.** Chitin synthesis inhibitors: effects on cuticle and components. In: J. Casida (ed). *Pesticides and alternatives*: pp: 377-388 .Elsevier.Amsterdam.
- Delbecque , J.P., Bitsch C ., Mathelin J., & Bitsch. 1986.** Effects of precocene on intermoult length and ecdysteroid titers in relation to ovarian maturation in *Thermobia domestica*. *J. Insect. Physiol.***32(6)** : 535-541.
- Delbecque , J.P., Weidner K. & Hoffmann K.L. 1990.** Alternative sites of ecdysteroid Production in insects. *Invert.Reprod. Develp.*, **18** :29-42.
- De Loach, C.J. 1981.** Prognosis for biological control of weeds of southwestern U.S. rangelands. pp. 175-199. In: E. Delfosse (Ed.). *Proc. V Internat. Symp. Biol. Control Weeds*, Brisbane, pp. 175-199.
- De Reggi, H. L., Pitoizet, N., Gharib, B., & Delbecque, J. P. 1992.** New enzyme immuno-assay for écdystéroïdes using peroxydase enzyme and polyclonal or monoclonal antibodies. Xth Ecdysone Workshop, Liverpool 6-7th April,
- Dhadialla, T .S., Carlson , G.R., & Le D.P. 1998.** New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu Rev Entomol*. **43**:545-569.
- Dhadialla , T.S., Retnakaran ., & Smagghe, G. 2005.** Insect Growth-and Developpement Disrupting Insecticides. *Article Number in press: NSCT: 00076*
- Doumandji-Mitiche, B. 1977.** Etude d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* (Zeller). *Ann. Ent.* El-Harrach.
- Downer, R. G. H. 1985.** Lipid metabolism. In *comprehensive Insect physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Vol. 10 (G. A .Kerkert. & L.I. Gilbert, eds). Pergamon Press, Oxford, pp: 77-113.

References Bibliographiques

- Duchateau ,G.H & Florkin M. 1959.** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification .*Arch.Inter .Physiol.Biochem.* **67(2)** : 306-314.
- Dumser, J.B. & Davey K.G. 1975.** The *Rhodinus* testis: hormonal effects on cell division. *Can.J.Zool.* **53** ,1682-1689.
- Dumser, J.B. 1980.** *In vitro* effects of ecdysterone on the spermatogonial cell cycle in *Locusta*. *Int.J. Invert.Reprod.* **2**, 165-174.
- Dumser, J. B. 1980.** The regulation of spermatogenesis in insects. *Ann. Rev. Entomol.* **25**,341-369
- El Ouar, I., Aribi, N., & Soltani-Mazouni, N. 2010.** Dosage des ecdystéroïdes chez *Ephestia kuehniella* (Lépidoptéra) . Travaux de l'institut scientifique, Série Zoologie, Rabat, 47(1).137-140.
- El Sayed, K.A., Dunbar D.C., Perry T.L.,Wilkins S.P & Hamann , M.T. 1997.** Marine natural product as prototype insecticidal agent.*J.Agric .Food Chem .*,**45** :2735-2739.
- Engelmann, F. 1983.** Vitellogenesis controlled by juvenile hormone. *In* : Downer R.G.H, Laufer H. (Eds) : Endocrinology of insects. New York : Alan R. Liss,INC, 259-270
- Farinôs, G.P., Smaghe , G.,& Castanera P.1999.** Action and pharmacokinetics of a novel insect growth regulator, Halofenozide, in adulte beetles of *Aubeonymus mariaefranciscas* and *Leptinotarsa decemlineata*. *Arch.Insec. Biochem. Physiol*, **41** :201-213.
- Fain-Maurel, M.A. 1966.** Acquisitions récentes sur les spermatogénèses atypiques. Année Biologiques Fascicule **11-12**, 513-564.
- Ferro, D.N.,& Akre R.D. 1975.** Reproductive morphology and mechanisms of mating of the codling moth, *Laspeyresia pomonella*. Annals of the Entomological Society of America **68**, 417-424.
- Feyreisen, R., & Durst, F. 1978.** Ecdysone biosynthesis : A microsomial cytochrome P450 linked ecdysone 20-monooxygenase from tissues of the African migratory locust; *Eur.J.Biochem.*, 88, 37-47.
- Flint, H.M., & Kressin, E.L.1969.** Transfer of sperm by irradiated *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae) and relationship to fecundity. The Canadian Entomologist 101, 500-507.
- Friedländer,M., & Gitay, H. 1972** .The fate of normal–anucleated spermatozoa in inseminated female of the silkworm, *Bombyx mori*. Journal of Morphology **138**, 121-130.

References Bibliographiques

- Friedländer, M. 1997.** Control of the eupyrene- apyrene sperm dimorphism in lepidoptera. *Journal of Insect Physiology* **43**, 1085-1092.
- Gâde, G., Hoffman K H., & Spring, J .H. 1997.** Hormonal regulation in insect's facts, gaps and future directions, *Physiol. Rev.* **77**: 963–1032.
- Gâde, G., & Hoffmann, K.H. 2005.** Neuropeptides regulating development and reproduction in insects. *Physiol. Entomol*, **30** :103-121.
- Gadenne, C., Varjas, L., & Mauchamp . B. 1990.** Effects of the non steroidal ecdysone Mimic, RH-5849, on diapause larvae of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* Hbn.*J. Insect. Physiol.*, **36/8** 555-559.
- Gage, M.J.G., & Cook, P.A. 1994.** Sperm size or numbers. Effects on nutritional stress upon eupyrene and apyrene production strategies in the moth *Plodia interpunctella* (Lepidoptera : Pyralidae). *Functional Ecology* **8**, 594-599.
- Gallois, D. 1989.** Control of cell differentiation in the male accessory reproductive glands of *Locusta migratoria* : acquisition and reversal of competence to imaginal secretion . *J.Insect Physiol.* **35** , 189-195.
- Gaouaoui, R. 2006.** Activité d'un agoniste des ecdystéroïdes, le tébufenozide, sur la maturation sexuelle et le potentiel reproducteur d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* Zeller. Mémoire de Magister. *Ecotoxicologie Animale*. Université d'Annaba. Algérie.
- Gelman, D. B., Woods, C.W., & Borkovec, A.B. 1988.** Effects of ecdysone and 20-hydroxy-ecdysone on apyrene spermiogenesis in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *J. Insect Physiol.* **35** , 733-738.
- Gelman, D.B., Bell, R. A., De Milo, A.B. & Kochansky, J.P. 1995.** Effect of KK-42 on growth, development molting and metamorphosis of the European corn borer *Ostrinia nubilalis* (Hubner) . *Arch.Insect.Biochem. Physiol.* **28**: 1-15.
- Ghazawi,A.N., El-Shranoubi, E.D., El-Shazly,M., & Abd El-Rahman,A. 2007.** Effects of Azadriachtinon mortality and reproductive system of the grasshopper, *Heteracris littoralis* Rambo.(Orthoptera: Acrididae). *J. Othoptera Res.* **16**(1): 57-65.
- Giebultowicz,M.,Blackburn,M.B.,Thomas-laemont,P.A.,&Raina,A.K. 1990.** Sterilization of the gypsy moth by disruption of sperm release from testes. Dans ACS Conference Proceedings: Series on pest management: biological based technology .Lumsden, R.D.and Vaughn, J.L.(eds), ACS, Washington, D.C.p114-116

References Bibliographiques

- Glitho, I., Delbecq, J.P., & Delachambre, J. 1979.** Prothoracic gland involution related to moulting hormone levels during the metamorphosis of *Tenebrio molitor*. *J. Insect Physiol.*, **25** :187-191.
- Goldsworthy, G.J., Mordue,W., & Guthkelch,J. 1972.** Studies on insect adipokinetic hormones *Gen Comp Endocrine* **18** :545-551.
- Grimnes, K. A., & Happ, G.M. 1987.** Ecdysteroids *in vitro* promote differentiation in the accessory glands of male mealworm beetles. *Experientia* **43**, 906-907.
- Hagedorn,H.H.,O'Connor,J.D.,Fuchs,M.S.,Sage,B.,Schlaeger,D.A .,&Bohm,M.K. 1975 .** The ovary as a source of ecdysone in an adulte mosquito. *Proc .Natl.Acad .SciU.S.A* **72** : - 3255-3259 .
- Hagedorn, H.H. 1985.** The role of ecdysteroids in reproduction.In: Kerkut G.A.,Gilbert L.I.(Eds),Comprehensive Insect Physiology,Biochimistry and Pharmacology,*Pergamon Press*,Oxford ,pp.205-262
- Hami, M., Taibi ,F., Smaghe,G., & Soltani-Mazouni,N. 2005.** Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the Mediterranean flour moth. *Comm. Appl. Biol. Sci Ghent University*, **70(4):767-772.**
- Hami, M. 2012.** Activité comparée de quelques effecteurs des ecdystéroïdes en traitements combiné chez un modèle de laboratoire, *Ephestia kuehniella Zeller* : mécanisme d'action . Thèse de Doctorat. Université d'Annaba ; 116 pages.
- Harnish, D.G., &White, B.N.1982.** Insect vitellins . Identifcation, Purification and Characterization from eight orders. *J.Zool.*, **220** : 1-10.
- Horowitz, A. R., & Ishaaya, I. 1996.** Chemical control of Bemisia tabact management and application In Gerling G., Mayer R.T.(eds) Bemisia 1995 : Taxonomy, Biology, damage control and management. **pp.** 537-556.
- Hussein, N.M., Enan, R. A.,& Mohamed , M . I. 1993.** Effects of the juvenoid pyriproxyten on gonad development in male. *Earias insulana* Boisd. (Lepidoptera: Noctuidae). *Al-Azhar. I. Agric.Res.***17**: 129-140.
- Ishaaya, I. 1990.** Benzoylphenyl-ureas and other selective control agent,mechanism and application In : J.E.Cassida (Ed) *Pesticid and alternatives* : 365-376 . *Elsevier Sciences*, Amsterdam.
- Ishaaya, I., Yablonski , S., & Horowitz, A. R. 1995.** Comparative toxicity of two ecdysteroid agonists,RH-2485 and RH-5992 on susceptible and pyrethroid –resistant strains of the egyptian cotton leafwoem,*Spodoptera littoralis* .*Phytoparasitica* **23** ,139-145.

References Bibliographiques

- Jacobe ,F., & Monod, J., (1961).** Genetic regulatory mechanism in the synthesis of proteins. *J. Biol. Med.* n° 3: 318 – 321.
- Jacob, T.A., & Cox, P.D. 1976.** The influence of temperature and humidity on life cycle of *E.kuehniella*.Zeller (Lepidoptera : Pyralidae). *J.Stored.Pro. Res.* **13** : 107-118.
- Kanost, M., Kawooya,J.K., Lan.,R.O., Van Heudsdén ,M.C., & Ziegler, R.1990.** Insect hemolymph proteins , pp:299-396. In : P.D.Evans et V.B.Wigglesworth(Eds). *Adv. Insect Physiol.*, Vol. 22. Acad.Press, London.
- Karpenko, C.P., & North, D.T. 1973.** Ovipositional response elicited by normal irradiated, F1 male progeny or castrated male *Trichoplusia ni* (Lepidoptera : Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America* **66**, 1278-1480.
- Katsuno, S. 1977.** Studies on eupyrene and apyrene spermatozoa in the silkworm, *Bombyx mori* L(Lepidoptera : Bombycidae) IV. The behavior of the spermatozoa in the internal reproductive organs of the female adults. *Applied Entomology and Zoology* **12**, 352-359.
- Katsuno, S. 1978.** Studies on eupyrenes and apyrene spermatozoa in the silkworm *Bombyx mori* (Lepidoptera :Bombycidae) VII. The motility of sperm bundles and spermatozoa in the internal reproductive organs of males and females *Applied Entomology and Zoology* **13**,91-96.
- Kawamura,N ., Sahara, K., & Fugo, H. 2003.** Glucose and ecdysteroid increase apyrene sperm production in *in vitro* cultivation of spermatocysts of *Bombyx mori*. *J.Insect.Physiol.* **35**, 491-512.
- Keeley, L.L.1985.** Physiology and biochemistry of fat body, in G.A. Kerkut et L.I Gilber (eds) .Comprehensive insect Biochemistry, Physiology and Pharmacology, vol: 3, pp211-248. Pergamon Press, Oxford.
- Kelly, T.J., Masler, E.P., Thigaraga, B.S., Bell, A., & Imberski, R.B. 1992.** Development of *in vitro* assay for prothoracitropic of the gypsy moth, *Lymantria dispar* (L) following studies on identification, titers and synthesis, titers and synthesis of ecdysteroids in last instar females.*Comp.Physiol B.*, **162** : 581-587.
- Khebbeb M E H., Gaouaoui R., & Bendjeddou F. 2008.** Tebufenozide effects on the reproductive potentials of the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* . *African Journal of Biotechnology* Vol. **7 (8)**: 1166-1170.
- Kidokora K., Iwata K I., Fujiwara Y., & Takeda, M. 2006.** Effects of juvenile hormone analogs and 20-hydroxyecdysone on diapauses termination in eggs of *Locusta migratoria* and *Oxya yezoensis*. *J. Insect. Physiol.* **52**: 473- 479.

References Bibliographiques

- Kiguchi, K.Mori., & Akai, H. 1984.** Effects of anti juvenile hormone « ETB » on the development and metamorphosis of silkworm *Bombyx mori*. *J. Insect. Biochem.*, **21(3)** : 277-284.
- Kilani-Morakchi,S., Aribi,N., Farine,J.P., Smaghe,G. & Soltani,N. 2009.** Halofenozide affects sexual behavior, cuticular hydrocarbons and reproduction in the female German cockroach *Blattella germanica* (Dictyoptera, Blattellidae). *Belgian J. Zool.*, **139(2)**, 147-155
- Knight A L., (2000).** Tebufenozide targeted against codling moth (Lepidoptera :Tortricidae) adults, eggs, and larvae. *J. Econ. Entomol.* 93, 1760-1767.
- Koeppel, J.K., Fuchs, M., T.T., Hunt, L.M., Kovalick, G.E., &Briers,T. 1985.** The role of juvenile hormone in reproduction in : *Comprehensive Insect Biochem. And pharmacology*, Kerkut, G.A. and Gilbert, L.I.(eds) *Pergamon Press*, Oxford., **8** : 165-203.
- Koga, D., Funakoshi, T., Fujimoto, H., Kuwano, E., Eto,M., & Ide, A. 1991.** Effects of 20-hydroxyecdysone and KK-42 on chitinase and Beta-N-acetyl glucosaminidase during the larval- pupal transformation of *Bombyx mori* . *Insect Biochem* . **21** (3): 277-284.
- Kunkel, G J., & Nordin, J H. 1985.** Yolk proteins. In: “Comprehensive Insect Biochemistry, Physiology and Pharmacology” (edited by G. A. Kerkut and L. I.Gilbert) v. 1, p. 83–111. Pergamon Press, Oxford.
- Lachance, L.E., Proshold ., & Fuud, R.L. 1978.** Pink bollworm : Effects of male irradiation and ejaculate sequence on female ovipositional response and sperm radiosensitivity. *Journal of Economic Entomology* **71**, 361-365.
- Lafont, R ., Dauphin-Villemant, C., Warren, J.T., & Rees, H. 2005.** Ecdysterchemistry and biochemistry. In *Comprehensive Molecular Insect Science*, L.I., Gilbert, K. Iatrou & S.K. Gill, eds, Volume **3**, Elsevier, Oxford, pp. 125-195.
- Lambreas, C.I., Galante,F., & Mena, I. 1991.** Ovarian condition as an indicator of the phonology of *Bubas bubas* (Coleoptera : Scarabeidae). *Ann. Entomol.Sco.Am.*, **84** (2),190-194.
- LaMunyon, C. W. 1997.** Increased fecundity , as a function of multiple mating, in an arctiid moth, *Utetheisa ornatrix*. *Ecological Entomology* **22**, 69-73.
- Lamy, M. 2001.** La reproduction. *Insectes*. 85 N° 121 (2).
- Lanot, R., Dorn, A., Günsten, B., Thiebold, J., Lagueux ,M., & Hoffman, J. A. 1989.** Functions of ecdysteroids in oocyte maturation and embryonic of Insects, 260-270. In J. Koolmann (ed): Ecdysone, fromchemistry to mode of action. *Thieme Stuttgart*

References Bibliographiques

- Lawrence, P.O. 1992.** Egg development in *Anastrepha suspensa*: influence of the ecdysone agonist, RH-5849. In: Aluja M. & Liedo P. (Eds.), *Fruit Flies: Recent Advance in Research and Control Programs*. Verlag, New York, pp 51-56
- Leopold, R.A. 1976.** The role of male accessory glands in insect reproduction. *Annual Review of Entomology* 21,199-221.
- Loeb, M.J., Woods , C.W ., Brandt, E.P.,& Borkovec, A.B. 1982.** Larval testes of the tobacco budworm :Anew source of insect ecdysteroids . *Science* .218 :896-898.
- Loeb,M .J., Brandt,E.P., & Birnbaum, M.J. 1984.** Ecdysteroid production by testes of the tobacco budworm, *Heliothis virescens*, from last larval instar to adult. *J. Insect Physiol* .30 :375-381
- Loeb, M. J., & Hakim, R.S. 1991.** Development of genital imaginal discs of *Heliothis virescens* culture *in vitro* with 20-hydroxyecdysone and fat body or testis sheaths.*Invert. Reprod.Dev.*20, 181-191.
- Luna, E., Pastor, V., Robert, J., Flors, V ., Mauch-Mani, B., &Ton, J. 2011 .** Callose deposition: a multifaceted plant defense response. *Mol Plant Microbe Interact* 24: 183–193
- Maamcha, Z. 1997.** Etude bioécologique de la pyrale de la farine *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera : Pyralidae). Effet du Flucycloxonurone à l'égard des nymphes sur la secretion cuticulaire. Thèse de magistère. Université d'Annaba. Algérie.
- Mansingh, A., & Steele, R W. 1974.** Effects of farnesyl methyl ether on the hemolymph of ovarian proteins of the tent Caterpillat, *Malacosoma americanum*. *J. Insect.Physiol.*, 21: 733-740.
- Marcotte, M., Delisle, J., & Mc Neil, J. N. 2003.** Pheromonostasis is not directly associated with post-mating sperm dynamics in *Choristoneura fumiferana* and *C .rosaceana* females. *J. Insect Physiol* .49, 81-90.
- Marec, F., & Mirchi , R . 1990.** Genetic control of the pest Lepidoptera : Gamma-ray induction of translocation between chromosom of *E. kuehniella*. *J. of Stored esearch* 26 (2) : 109-116.
- Margaritis, L. H. 1985 a.** Structure and the physiology of the eggshell. In: Gilbert L.H.,Kerkut G. a. (Eds). *Comprehensive Insect Physiology. Biochemistry and Pharmacology*, Vol. 6. Pergamon Press, Oxford. UK, pp. 151-230.
- Margaritis, L. H., & Mazzini, M. 1989.** Structure of the egg. In: Harrison. F. W., LokeM. (Eds), *Microscopic Anatomy of invertebrates, Insecta*.Vol. 11 c. Wiley-Liss, New york, pp. 995 – 1037

References Bibliographiques

- Marshall, L.D., & Mc Neil, J. N.1989.** Spermatophore mass as an estimate of male nutrient investment: a closer look in *Pseudaletia unipuncta* (Haworth) (Lepidoptera; Noctuidae). *Functional Ecology* 3, 605-612.
- Martoja ,R., & Martoja, M. 1967.** Initiations aux techniques de l'histologie animale. Ed. Masson et Cie. Paris Vie : 346p.
- Masner, P., Bowers, S., Kälin, M., & Mühlet ,T. 1979.** Effects of precocene I on the endocrine regulation of development and reproduction in the role of juvenile hormone. *Physiol Entomol.* **20** : 59-65.
- Mc Ewen F.L. 1978.** Food production. The challenge of pesticides. *Biosci* ; **28** : 773-778.
- Muszynska-Pyrel, M., Mikolajczkwaski , M., Pszczlkwaski, M.A., & Cymborowski, B. 1992.** Mellonella larvae. *Experimentia.*, **48** : 1013-1017.
- Nath, V., Mittal, P.K., & Sheikher, C. 1976.** Effects of hempa on the gonads of *Locusta migratoria* (Orthoptera : Acrididae). *Bull.Entomol. Res.*, 66(2): 313-315.
- Oberlander, H., Silhacek,D.L.,& Porcheron, P. 1995 .** Nonsteroidal ecdysteroid agonists : Tools for the study of hormonal action . *Arch.Insect.Biochem.Physiol .*, 28 ,209-223
- Oberlander, H.,Silhacek,D.L., & Leach, C.E. 1998.** Interaction of ecdysteroid and juvenoid agonist in *Plodia interpunctata* (Hübner).*Arch .Insect.Biochem.Physiol* ,**38**, 91-99
- Osanai, M., Kusaga, H., & Aigaki, T. 1987.** Physiological role of apyrene spermatozoa of *Bombyx mori*. *Experientia* **43**, 593-596.
- Osorio, H., Martinez, A.M., Schneider.I.,Diaz O.,CorralesJ.L., Aviles,M.C., Smagghe G., & Pineda, S. 2008.** Monitoring of beet armyworm resistance to spinosad and methoxyfenozide in Mexico. *Pest Manag. Sci.* **64**: 1001-1007.
- Pandir, D., & Sahingoz, R. 2014.** Magnetic field-induced oxidative stress and DNA damage in Mediterranean flour moth *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) larvae. *Journal of Pest Sciences.* Volume **87**, pp 79-87;
- Payne, N.D. 1966.** The differential effects of environmental factors Upon *Micibracon hebetor* and its most *Ephestia kuehniella*.. *Bull.Mar. Biol.Lab.*
- Perveen, F. 2011.** Effects of sublethal doses of chlorfluazuron on the testicular biochemical constituents of *Spodoptera litura*. *African Journal of Biotechnology.* 10, pp. 8956-8964

References Bibliographiques

- Peter, W. K., Sonya Baird, M .A., & Ramaswamy, B. 2002.** Morphology and formation of the eggshell in the tarnished plang bug, *Lygus lineolans* (Palisot de beauvois) (Hemiptera: Miridea). *Arthropod structure and development*. **31**: 131-146.
- Phillips, D.M. 1970.** Insect sperm :their structure and morphogenesis . The journal of *Cell Biology* 44, 243-277.
- Pineda, S., Martinez, A.M., Figueroa, J. I., Schneider, M.I., Delestal, P., Vinuela,E., Gomez, B., Smagghe,G., & Budia, F. 2009.** Influence of azadirachtin and methoxyfenozide on life parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, **102**(4), 1490-1496.
- Pivnick, K.A., & McNeil, J.N. 1987.** Puddling in butterflies: sodium affects reproductive success in *Thymelicus lineola*. *Physiological Entomology* 12, 461-472.
- Porcheron, P., Moriniere, M., Grassi ,J., & Paradelles ,P. 1989.** Developement of as competitive enzyme immunoassay for ecdysteroids using acetyl cholinesterase as label J. *Insect.Biochem.***19**: 117-122.
- Quennedy, A., Aribi N., Everaerts C., & Delbecque, J.P. 1995.** Post embryonic deve - lopment of *Zophoba atratus*. (Coleoptera : Tenebrionidae) under crowded or isolated condition and effects of juvenile hormone analogue application. *J. Insect. Physiol.* **41** (2) : 143-152.
- Raikhel, A.S., Dhadialla, T.S. 1992.** Accumulation of yolk proteins in insect oocytes. *Ann. Rev. Entomol.*, **37** : 217-251
- Raina, A., & Klum, J.A. 1984.** Brain factor control of sex pheromone production in the female corn earworm moth. *Science* **225**, 531-533.
- Ramaswamy, S.B., & Cohen, N.E. 1992.** Ecdysone: an inhibitor of receptivity in the moth, *Heliothis virescens*. *Naturwissenschaften*, **79**, 29-31.
- Ramaswamy, S.B., Shengqiang, S., Yong, I. P. & Fanrong , Z. 1997 .** Dynamics of juvenile hormone-mediated gonodotropism in the Lepidoptera. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*. **35**, 539-558.
- Retnakaran, A., Hiruma,K., Palli, S.R., & Riddiford, L. M.1995.** Molecular analysis of the mode of action of RH-5992, a Lepidoptera-specific, non-steroidal ecdysteroid agonist. *Insect Biochem. Molec.Biol.* **25**.109-117.
- Retnakaran,A., Dhadialla, T.S., & Smagghe , G. 2005 .**Insect growth and Development – Disrupting Insecticides. *Article Number* : NSCT : 00076.

References Bibliographiques

- Rodriguez Enriquez, C.L., Pineda, S., Figueroa, J.I., Schneider, M.I., & Martinez, A.M. 2010.** Toxicity and sublethal effects of methoxyfenozide on *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, **103**(3), 662-667
- Romer, F.1971.** Die prothorakaldusen der larvae von *Tenbrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae) und ihre veränderungen währendeines häntungszuklus *Z.Zellforsh.Mikrock. Anat* **122** :425-455.
- Rouibi, A. 2000.** Evaluation d'un mimétique des ecdystéroïdes (RH-0345) sur *Blatella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae) : aspects morphométriques et biochimiques . Thèse deMagister en Biologie Animale. Université d'Annaba. Algerie. 113.
- Ruegg , R. P., Orchard, I., & Davey ,K . G. 1992.** 20-hydroxyecdysone as a modulator ofactivity in neurosecretory cells of *Rodnius prolixus*. *J. Insect. Physiol.* ,**28**:243-248
- Rutowski, R.L. 1982.** Mate choice and lepidopteran mating behavior .The Florida Entomologist 65 :72-82.
- Sahlen, G. 1994.** Ultrastructure of eggshell of *Aeshna juncea* (L.) (Odonata. Aeshnidae).*Int. J. Embryol.*, **23**: 345-354.
- Salem H., Smaghe, G., & Degheele , D. 1997.** Effects of tebufenozide on oocyte growth in *Plodia interpunctella*. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* **62**(1): 9-13.
- Schakoori, A.R., & Saleem, M.A.1989.** Some macromolecular abnormalitie developed by the interaction of malathion and permethrin and subsequent refeeding in *Tribolium castaneum* larvae. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*,**11**:203-215
- Schneider, W.C. 1957.** Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. In methods in enzymology Vol.III. (Ed. by Colowick S.P.and Kaplan N.O.), pp : 680-684. *Acad. Press, N.Y.*.
- Silberglied, R.E., Shepherd,J.G., & Dickinson,J.L. 1984.** The role of apyrene sperm in lepidoptera ;*American Naturalist* **123** :255-265.
- Silhacek, D.L., Oberlander, H., & Porcheron, P. 1990.** Action of RH-5849, a non steroidal mimic on *Plodia interpunctella* (Hubner) *in vivo* and *in vitro* . *Arch. Insect.Biochem. Physiol.*, **15**: 201-212.
- Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneck C., New Hall, A., & Freidman ,L. 1966.** A method for the sequential quantitative separation an glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, **19** : 415-428.

References Bibliographiques

- Shinbo, H., & Happ, G.M. 1989.** Effects of ecdysteroids on the growth of the post-testicular reproductive organs in the silworm , *Bombyx mori* . *J. Insect . Physiol.* **35**, 855-864.
- Smagghe, G., & Degheele, D. 1992.** Effects of RH-5849, the first non steroidal agonist, on larvae of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera:Noctuidae). *Arch. Insect. Biochem.Physiol.*, **21** : 119-128.
- Smagghe, G., & Degheele, D. 1994 a.** Action of the non steroidal ecdysteroid mimic RH-5849 on larval development and adulte reproduction of insects of differents order. *Invert. Reprod. Dev.*, **25**: 227-236.
- Smagghe, G., & Degheele, D. 1995.** Biological activity and receptor binding of ecdysteroid agonist RH-5849 and RH-5992 in imaginal wing dixe of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera : Noctuidae). *Eur.J. Entomol.*, **92** : 333-340.
- Smagghe, G., Eelen, H., Verschelde, E., Richter, K., & Degheele, D. 1996 a.** Differential effects of non steroidal ecdysteroid agonist in *Coleoptera* and *Lepidoptera*: analysis of evagination and receptor binding in imaginal disc *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **26**:687-695.
- Smagghe, G., Dhadialla,T.S., & Lezzi, M. 2002.** Comparative toxicity and ecdysone receptor affinity of non-steroidal ecdysone agonist and 20- hydroxy-ecdysone in *Chironomus tentans*. *Insect. Mol. Biol .* **32** : 1203-1209.
- Smagghe ,G., Bylemans, D., Medna,P., Budia, F., Avilla J., &Vinuela, E. 2004.** Tebufenozide distored codling moth larval growth and reproduction, and controlled fielpopulations. Laboratory of Agrozoologi, Department of Crop Protection, Faculty of Bioscience Engineering,*Ghent Univ, Coupure Links, Belgium*.*ANN. appl. Biol*, **145**: 291-298.*printed in UK*.
- Smith, S. L. 1985.** Regulation of ecdysteroid titer. Synthesis, in: comprehensive insect *Physiology, Biochemistry and pharmacology*, vol. 1.7. Kerkut G and Gilber L.I.(eds.) *Pergamon Press. Oxford.*, 7: 323-332.
- Soltani-Mazouni , N., & Soltani, N. 1992.** Effet du diflubenzuron sur les métabolites hémolymphatiques et ovariens chez *Tenebrio molitor* L. pendant la maturation sexuelle. *Mém. Soc. Belge ent.*, n° 35, pp 743-747.
- Soltani-Mazouni, N., & Soltani, N. 1994.** Diflubenzuron effected DNA synthesis in the ovaries of *Tenebrio molitor*. *J. Invert. Reprod. Dev.*, **25**: 19-21
- Soltani-Mazouni, N. 1994.** Effets d'un régulateur de croissance le diflubenzuron sur la reproduction de *Ténébrio molitor*. Aspects biologiques biométriques , stucturaux et biochimiques. Thèse de doctorat . Université de Annaba. Algérie.

References Bibliographiques

- Soltani-Mazouni, N., & Soltani, N. 1995.** Effet du diflubenzuron en traitement *in vivo* et *in vitro* sur la morphométrie de l'ovaire de *Tenebrio molitor*. *Med Fac.lanbouww.Univ. Gent*.,**60** (35) :961-967
- Soltani-Mazouni, N., Taibi, F., Berghiche, H., Smagghe, G., Soltani, N. 2001.** RH-0345 restored partly the effects induced by KK-42 on reproductive events in mealworms. *Med.Fac Lanbouww.Univ.Gent*.,66/ 2 a : 437-444.
- Soltani-Mazouni, N., Boukachabia, A., & Smagghe, G. 2004.** Biological activity of some moulting hormone agonists in mealworm : ecdysteroid and protein analysis in ovaries. *Revue Synthèse*, **14**, 7-10.
- Soltani-Mazouni, N., & Hami, M. 2010.** Effets de deux agonistes des ecdystéroïdes sur la reproduction chez *Ephesia kuehniella* (Insectes, Lépidoptères) : dosage des acides nucléiques et des protéines ovariens. Travaux de l'institut Scientifiques ,Série Zoologie, Rabat, N°47, Tome I, 153-156.
- Soltani-Mazouni, N., Hami, M., & Gramdi, H. 2012.** Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella*. *Invertebrate Reproduction and Development*, Vol **56** (2): 350-356.
- Soltani, N., & Soltani –Mazouni, N.1992.** Diflubenzuron and oogenesis in colding moth, *Cydia pomonella* L., *Pest. Sci.*, **34**: 257-261.
- Soltani, N., Chebira, S., Delbecque, J.P., & Delachambre, J. 1993.** Biological activity of Flucycloxuron, a novel benzoylphenylurea derivative, on *Tenebrio molitor*: Comparaison with diflubenzuron and triflumuron. *Experientia*, **49** (12): 1088-1091.
- Soltani, N., Soltani -Mazouni, N., Quenedey, B., & Delachambre, J.1996.** Protein synthesis in developing ovaries of meal worm under *in vivo* and *in vitro* condition: Effects of diflubenzuron *J. Stored. Prod .Res.* **32**(3): 205-212
- Soltani, N., Pitoizet, N., Soltani-Mazouni, N., Delachambre, J.,& Delbecque, J.P. 1997.** Activity of an anti-ecdysteroid compound (KK42) on ovarian development and ecdysteroid secretion in mealworm. *Med. Fac. Lanbouww.Univ.Gent* ., **62**(2) : 531-537.
- Soltani, N., Smagghe, G.,& Soltani-Mazouni, N. (1998).** Evaluation of the ecdysteroid agonist RH-0345 on the hormonal production by integumental explants and ovaries in mealworms. *Med. Fac. Lanbouww. Univ. Gent* **63** (2b), 547–554
- Soltani, N., Aribi, N., Berghiche, H., Lakbar, C., & Smagghe, G . 2002.** Activity of RH - 0345 on ecdysteroid production and cuticule secretion in *Tenebrio molitor* pupae *in vivo* and *in vitro*. *Pastic Biochem .Physiol* **72**:83-90.
- Soulages, J.L., & Wells, M.A.1994.** Lipoprotein: The structure of an insect lipoprotein and its role in lipid transport in insects *Adv.Protein.Chem.*, 45, 371-415.

References Bibliographiques

- Spindler, K.P., & Spindler Barth, M. 1991.** Ecdysteroid production and metabolism by an epithelial cell line from *Chironomus tentaus* . Natur wissenschaften, **78 (2)** : 78-79.
- Srivastava, U.S. 1960.** Secretory cycles and disappearance of the prothoracic glands in *Tenebrio molitor* L.(Coleoptera : Tenebrionidae) . Experientia (Basel).**16(10)**:445.
- Stanley-Samuelson, D.W., & Loher, W. 1986.** Prostaglandins in insect reproduction. *Ann. Entomol. Soc. Am.* **79**: 841-853.
- Stanley-Samuelson, D. W., Jurenka, R. A., Cripps, C., Blomquist, G. J., & Renobales, M. 1988.** Fatty acids in insects: Composition, metabolism and biological significance. *Arch Insect Biochem. Physiol.* **9**, 1-33.
- Stanley-Samuelson, DW., & Pedibothla, V.K. 1996.** What can we learn from prostaglandins and related eicosanoids in insects. *Insect Biochem.Mol. Biol.* **26(3)**: 223-234.
- Strong, CA., Koheler, PG., & Patterson, R.S. 2000.** Oral toxicity and repellency of borates to German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ.Entomol.* **86**:1458-1463
- Sugai, E., & Sugita, H. 1976.** Male sterility in the triploid silkworm ; *Bombyx mori* (Lepidoptera : Bombycidae) . *Applied Entomology and Zoology* **11**, 176-181.
- Sun, X., & Barrett, B. 1999.** Fecundity and fertility changes in adult codling moth (Lepidoptera :Tortricidae) exposed to surfaces treated with tebufenozide and methoxyfenozide .*J. Entomol . Exp . Appl .* **94** , 75-83.
- Sun,X., Baret, B.A., & Biddinger D.J. 2000.** Fecundity and fertility reductions in adult leafr frollers exposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonist tebufenozide and methoxyfenoside. *Entomol. Exp. Appl.* **94**: 75-83.
- Sundaram, M., Palli, S.R., Smagghe, G., Ishaaya, I., Feng, Q.L., Primavera, M.,Tomkins , P.J., Krell, W.L., & Retnakaran, A. 2002.** Effect of RH-5992 on adult development in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*,**32**, 225-231.
- Svoboda, J.A., & Feldlaufer, M.F. 1991.** Neutral sterol metabolism in insects. *Lipids. J.Insect Physiol* : 26. 614-618.
- Szopa, T.M., Lenoir Rousseaux, J.J., Yuncker, C., & Happ, G.M. 1985.** Ecdysteroids accelerate mitoses in accessory glands of beetle pupae. *Dev. Biol.* **107**, 675-682.
- Taibi F. , Guy Smagghe ., Amrani L., Soltani-Mazouni, N. 2003.** Effect of ecdysone agonist RH-0345 on reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*.*Comparative Biochemistry and physiology* : Part 135 : 257-267.

References Bibliographiques

- Taibi, F. 2007.** Etude comparée du développement et de la reproduction chez deux ravageurs des denrées stockées *Ephestia kuehniella* et *Tenebrio molitor* : Aspect endocrinien en rapport avec l'impact d'un mimétique de l'hormone de mue : le RH-0345 .Thèse de doctorat.p131.
- Tarin, J.J., Perez-Albala,S., &Cano,A. 2000.** Conséquences on offspring of abnormal function in ageing gametes.Human Reproduction Update 6, 532-549.
- Tateishi, K., Kinchi ée ,M & Takeda, S. 1993.** New cuticule formation and molth inhibition by RH-5849 in the common culworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera : Noctuidae). *Appl. Entomol. Zool.*, **28** : 177-184.
- Thibout, E. 1979.** Stimulation of reproductive activity of females of *Acrolepiopsis assectella* (Lepidoptera : Hyponomeutoidea) by the presence of eupyrene spermatozoa in the spermatheca. *Entomologica Experimentalis & Applicata* **26**, 279-290.
- Thornill, R., & Alcock, J. 1983.** The evolution of insect mating systems. Harvard University Press, Caambridge, Massachusetts. 547 pp.
- Thorson, B.J.,& Riemann, J.G. 1982.** Effects of 20-hydroxyecdysone on sperm release from the testes of the mediterranean flour moth, *Anagasta kuehniella* (Zeller). *Journal of Insect Physiology* **28**,1013-1019.
- Traut,W., & Traut, G. 1991.** A new use fulgenetic marker, withe body, in *E.kuehniella*. *Journ.Stor.Prod.Rec.* **27 (23)** : 161-162.
- Trivers, R. L. 1972.** Parental investment and sexual selection.Dans *Sexual Selection and the Descent of Man*. Campbell, B. (ed.), Aldine, Chicago, pp.1871-1971.
- Trougakos, I. P., & Margaritis, L. H. 2002.** Novel morphological and physiological aspects of insect Eggs. In: Hiker M. Meiners T. (Eds), *Chemioecology of insect Eggs and Egg Deposition* Blackwell Verlag Gmbh, Berlin, Vienna., pp.3-36.
- Tunaz, H., & Uygun, N. 2004.** Insect growth regulators for insect pest control. *Turk. J. Agric. For.*,**28**, 377-387.
- Weiranther , E. 1989.** Require mints for sceening pigment. Migration in the eye of *E kuehniella* .*Jour.Inc; Phys.*, **35(2)** : 925-93
- Wiens, A.W., & Gilbert, T. 1967.** Regulation of carbohydrate mobilization and utilizationin leucophaco maderae. *J. Insect physiol.* **13**: 779-794.
- Wigglesworth, V.B. 1936.** The function of the corpus allatum in the growth and reproduction of *Rhodnius proxilus* (Hemiptera).*Quart.J.Micr. Sci.* **79** : 91-121.

References Bibliographiques

Wigglesworth, V. B. 1972. The principals of insect physiology. *Seventh Edition*. Pablished in the USA by *Chapman and Hall. University Presss Cambridge. NewYork, 827.*

Wing, K.D. 1988. RH-5849, a non steroidal ecdysone agonist: *effects on a Drosophila cellline. Sciences. 241: 464-469.*

Wing, K.D., Slawechi, R. A., & Carlson , G.R. 1988. RH 5849, a nonsteroidal ecdysone agonist : effects on larval Lepidoptera. *Science 241 ; 470-472.*

Wing, K.D., & Ramsay, J.R. 1989. Other hormone agents: Ecdysone agonists. *In prog. Prospect. Insect. Control. BCPC Monogr. 43: 107-117.*

Wyss-Huber, M., & Lischer, M. 1972. *In vivo* synthesis and release of proteins by fat body and ovarian tissue of *Leucophae maderae* during the sexuel cycle. *J. Insect Physiol., 18, 689-710.*

Xue, L., & Noll, M. 2000. *Drosophila* female sexual behaviour induced by sterile males showing copulation complementation. *Proceeding of the National Academy of Science USA 97, 3272-3275.*

Yamashita, O., & Suzuki, K. 1991. Morphogenetic hormones of arthropods. Vol 3. Rutgers University Press New Jersey. pp 81-128.

Yezli-Touiker , S., & Soltani-Mazouni, N . 2010. Profil des ecdystéroïdes durant la métamorphose et rapport avec le cycle cuticulaire chez *Ephestia kuehniella* (Insecta, Pyralidae). *Synthèse 22 : 49-55.*

ANNEXE

(Production scientifique)

Annexe : Production scientifique.

Publication (1) :

Meskache, R. & Soltani-Mazouni, N. (2013). Activité comparée de quatre agonistes de l'hormone de mue chez *Ephestia kuehniella*: composition biochimique des testicules et potentiel reproducteur. *Bull. Soc. zool. Fr.***138** (1-4): 177-187.

Liste des communications internationales (4).

Rania MESKACHE & Nadia SOLTANI-MAZOUNI : Effets de deux régulateurs de croissance : Tébufenozide et Méthoxyfénozide sur le potentiel reproducteur d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*. *Colloque International de Biologie Environnementale Skikda, 07-10 Novembre 2009.*

Rania MESKACHE & Nadia SOLTANI MAZOUNI : Effets de deux régulateurs de croissance : (RH-0345) et (RH-5849) sur le taux des acides nucléiques testiculaires d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*. *Les journées internationales de Biotechnologie 2010 de l'association Tunisienne de Biotechnologie. 19-22 Décembre Yasmine Hammamet*

Rania MESKACHE & Nadia SOLTANI-MAZOUNI: Effets in vivo de deux agonistes de l'hormone de mue (RH-5849 et RH-0345) sur les métabolites testiculaires d'un ravageur des denrées stockées : *Ephestia kuehniella* . *1er Congrès International sur l'Aide à l'Agriculture Algérienne. Annaba, 22–24 Novembre 2011*

Rania MESKACHE & Nadia SOLTANI-MAZOUNI: Activité comparée de quatre mimétiques de l'hormone de mue chez *Ephestia kuehniella* Zeller:Composition biochimique des testicules. *3ème Congrès Franco-Maghrébins de Zoologie et d'Ichtyologie. 6-10 Novembre 2012. Marrakech- Maroc.*

Biochimie

ACTIVITÉ COMPARÉE DE QUATRE AGONISTES DE L'HORMONE DE MUE CHEZ *EPHESTIA KUEHNIELLA*: COMPOSITION BIOCHIMIQUE DES TESTICULES ET POTENTIEL REPRODUCTEUR

par

Rania MESKACHE

et Nadia SOLTANI-MAZOUNI¹

Les régulateurs de croissance des insectes (RCIs) sont des insecticides sélectifs ayant de faibles risques écotoxicologiques. Ils constituent une alternative très prometteuse dans le contrôle chimique préventif des ravageurs des denrées stockées, spécialement les Lépidoptères. Précédemment, nous avons testé plusieurs RCIs sur la toxicité, le développement et le potentiel reproducteur chez deux ravageurs majeurs des denrées stockées *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera : Pyralidae) et *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera : Tenebrionidae). La présente étude, en continuité avec les travaux antérieurs, vise à évaluer quatre mimétiques de l'hormone de mue : tebufenozide, halofenozide et methoxyfenozide sur la composition biochimique des testicules chez *E. kuehniella* Zeller (Lepidoptera : Pyralidae). Le traitement a été réalisé par application topique à des doses correspondantes à leurs DL₅₀ respectives (RH-5849 : 0,05 µg/insecte, tebufenozide : 0,005 µg/insecte, halofenozide : 5,10 µg/insecte et methoxyfenozide : 0,01 µg/insecte) sur des chrysalides mâles nouvellement exuviées. Le dosage des acides nucléiques et des principaux constituants biochimiques (glucides, lipides, protéines) a été effectué dans les testicules des adultes mâles nouvellement émergés. Les résultats obtenus montrent une modification de la composition biochimique des testicules. En effet, le RH-5849 diminue significativement les teneurs en ADN, glucides et lipides et augmente les teneurs en ARN. Le tebufenozide augmente les teneurs en ADN, en glucides et diminue les teneurs en lipides et en ARN ; le halofenozide diminue les teneurs en ADN, augmente les teneurs en ARN et en lipides et est sans effet significatif sur les glucides. Enfin, le méthoxyfenozide diminue les teneurs en ADN, ARN et lipides et n'affecte pas celle des glucides.

1. Laboratoire de Biologie Animale Appliquée, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université Badji Mokhtar d'Annaba, 23000-Annaba (Algérie). Auteur correspondant : meskache_saida@ yahoo.fr.

Bulletin de la Société zoologique de France 138 (1-4)

Concernant les protéines testiculaires, les molécules testées sont sans effet significatif. Enfin, un effet traitement est observé sur le nombre d'œufs/femelle et la viabilité des œufs quand les adultes mâles qui survivent au traitement des chrysalides sont accouplés à des femelles non traitées.

Mots-clés : *Ephestia kuehniella*, Insecticides, Agonistes de l'hormone de mue, Reproduction, Testicules, Biochimie, Acides nucléiques.

Comparative effects of four moulting hormone agonists in *Ephestia kuehniella*: biochemical composition of testes and reproductive capacity

Insect growth regulators (IGRs) are known to be selective insecticides with low ecotoxicological risks. These products have a great potential for use as chemical preventive controls in the stored product industry, especially against lepidopteran pests. In order to extend previous findings on the affects of IGRs on *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) and *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae), the present study compared the activity of four ecdysteroid agonists (RH-5849, tebufenozide, halofenozide and methoxyfenozide) applied topically on newly ecdysed male pupae of *E. kuehniella*, an important pest in stored products worldwide, on the biochemical composition of testes. The quantification of nucleic acids and the principal biochemical constituents (carbohydrates, lipids and proteins) in testes was made from newly emerged male adults. Biochemical measurements show a modification in the biochemical composition of the testes. For instance, RH-5849 significantly decreased the amounts of DNA, carbohydrates and lipids, and increased the amount of RNA. Tebufenozide increased the amount of DNA and carbohydrates, and decreased the levels of lipids and ARN. Halofenozide decreased the level of DNA and increased the levels of RNA and lipids, while no effect was observed on carbohydrate levels. Methoxyfenozide decreased the levels of DNA, RNA and lipids, but had no affect on carbohydrates. None of the compounds, however, had any significant affect on protein amounts. Moreover, the tested ecdysteroid agonists also affected the number of eggs/female and the egg viability when untreated females were paired with adult males emerged from treated pupae.

Keywords: *Ephestia kuehniella*, Insecticides, Ecdysteroid agonists, Reproduction, Biochemistry, Nucleic acids.

Introduction

Ephestia kuehniella Zeller (Lepidoptera : Pyralidae) est un ravageur redoutable des stocks de farine et de semoule et les infestations sont généralement contrôlées par des fumigations (SOLTANI-MAZOUNI *et al.*, 2012). L'hormone de mue (ecdystéroïdes) joue un rôle majeur dans le développement et la reproduction chez les insectes (GÄDE & HOFFMAN, 2005 ; LAFONT *et al.*, 2005). Elle permet également la maturation du système reproducteur mâle (LOEB & HAKIM, 1991) et la production des spermatozoïdes (SETH *et al.*, 2002 ; KAWAMURA *et al.*, 2003). Enfin, sa biosynthèse ou ses récepteurs, entre autres, constituent des cibles potentielles recherchées pour les insecticides (DINAN, 1989). À cet effet, l'industrie phytosanitaire a développé des molécules prometteuses qui agissent de manière sélective sur les organismes visés, les agonistes des ecdystéroïdes (DHADIALLA *et al.*, 2005 ;

Agonistes de l'hormone de mue et reproduction d'*Ephestia kuehniella*

DHADIALLA & ROSS, 2007). Ce sont des dérivés de la dibenzoylhydrazine qui miment l'action de l'hormone de mue en se fixant aux récepteurs nucléaires spécifiques d'une manière compétitive avec l'hormone de mue naturelle en induisant des mues larvaires prématurées et létales (WING *et al.*, 1988 ; CARLSON *et al.*, 1994 ; OBERLANDER *et al.*, 1998 ; DHADIALLA *et al.*, 1998). Ils constituent une alternative très prometteuse dans le contrôle chimique préventif des ravageurs des denrées stockées, spécialement les Lépidoptères (DHADIALLA *et al.*, 2005).

La reproduction est un facteur de pullulation des ravageurs. Des travaux antérieurs ont montré que les mimétiques des ecdystéroïdes affectent la reproduction généralement en réduisant la fécondité et la viabilité (TAIBI *et al.*, 2003 ; PINEDA *et al.*, 2009 ; RODRIGUEZ ENRIQUEZ *et al.*, 2010 ; SOLTANI-MAZOUNI *et al.*, 2012), ou le comportement sexuel (KILANI-MORAKCHI *et al.*, 2009). Cependant, leur mécanisme d'action sur la reproduction n'est pas encore bien établi. Des travaux récents suggèrent une interférence avec la vitellogénèse (SOLTANI-MAZOUNI *et al.*, 2012). Récemment, *E. kuehniella* a fait l'objet de recherches sur les ecdystéroïdes et leur rapport avec la sécrétion de la cuticule au cours de la métamorphose (EL OUAR *et al.*, 2010 ; YEZLI-TOUIKER & SOLTANI-MAZOUNI, 2010) et les données acquises ont servi de base à des expérimentations sur des adultes femelles d'*E. kuehniella* en vue d'approfondir le mécanisme d'action de ces nouveaux insecticides sélectifs sur la reproduction (DHADIALLA *et al.*, 2005 ; PINEDA *et al.*, 2009 ; SOLTANI-MAZOUNI *et al.*, 2012).

La présente étude, en continuité avec les travaux antérieurs réalisés chez les chrysalides femelles, a pour objectif l'évaluation de quatre agonistes de l'hormone de mue (RH-5849, tebufenozide, halofenozide et methoxyfenozide) administrés par application topique cette fois-ci sur les chrysalides mâles (1) sur la composition biochimique des testicules et (2) sur la reproduction (fécondité des femelles et viabilité des œufs) des adultes qui survivent au traitement chez *E. kuehniella*.

Matériel et méthodes

Insecte et élevage

L'élevage d'*Ephestia kuehniella* est réalisé au laboratoire dans des bacs remplis de farine placés à une température de 27°C et une humidité relative voisine de 80 % (HAMI *et al.*, 2005). Les chrysalides sont séparées selon leur sexe et la datation se fait selon leur âge (jours) après l'exuviation nymphale (HAMI *et al.*, 2005).

Insecticides et traitement des chrysalides mâles

Les produits techniques, RH-5849 (prototype, Rohm & Haas, Spring House PA, USA), tebufenozide (RH-5992, nom commercial : Mimic ou Confirm, Dow AgroSciences, USA) et methoxyfenozide (RH-2485, nom commercial : Runner ou Intrepid, Dow AgroSciences, USA) et halofenozide (RH-0345, nom commercial : Mach, Dow AgroSciences, USA), ont été aimablement fournis par Pr. G. SMAGGHE

Bulletin de la Société zoologique de France 138 (1-4)

(Université de Gand, Belgique). Ils ont été administrés par application topique sur la face ventrale des chrysalides mâles nouvellement exuviées (âge <8 h) à l'aide d'une seringue Hamilton à leurs DL50 respectives. Les DL50 ont été déterminées précédemment par application topique sur les chrysalides (sexes non séparés) nouvellement exuviées (<8 h) : RH-5849 : 0,05 µg/chrysalide, tebufenozide : 0,005 µg/chrysalide, halofenozide : 5,10 µg/chrysalide (HAMI *et al.*, 2005) et methoxyfenozide : 0,01 µg/chrysalide (SOLTANI-MAZOUNI *et al.*, 2012). Le produit technique est dissout à la dose désirée dans 2 µL d'acétone puis appliquée. Les chrysalides témoins reçoivent 2 µL d'acétone seule.

Extraction et dosage des acides nucléiques

Comme décrit précédemment, les chrysalides nouvellement exuviées sont traitées par application topique (LD₅₀). Les adultes mâles qui survivent à ce traitement sont collectés à l'émergence (< 8h) et leurs testicules prélevés. Les acides nucléiques ont été extraits des testicules d'adultes mâles témoins et traités et dosés selon le procédé de SHIBKO *et al.* (1966). Le dosage de la quantité totale des acides désoxyribonucléiques (ADN) a été fait selon la méthode de SCHNEIDER (1957) utilisant le diphénylamine comme réactif et l'ADN de thymus de veau (Sigma, Allemagne) comme standard. Les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 602 nm. Le dosage de la quantité totale des acides ribonucléiques (ARN) a été déterminé selon BURTON (1956) utilisant l'orcinol comme réactif et l'ARN de levure de boulanger (Sigma, Allemagne) comme standard. Les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 660 nm.

Extraction et dosage des lipides, glucides et protéines

L'extraction des principaux constituants biochimiques des testicules (protéines, glucides, lipides) a été réalisée selon SHIBKO *et al.* (1966). Les protéines ont été dosés selon BRADFORD (1976) utilisant le bleu Brillant de Coomassie (G 250, Sigma-Aldrich, Allemagne) comme réactif et le sérum d'albumine de bœuf (Sigma Life Science, Allemagne) comme protéine standard ; les absorbances sont lues à 595 nm. Les glucides ont été quantifiés selon la méthode DUCHATEAU & FLORKIN (1959) utilisant l'anthrone comme réactif et une solution-mère de glucose comme standard. Les absorbances sont lues à 620 nm. La quantification des lipides a été effectuée selon GOLDSWORTHY *et al.* (1972) en utilisant la vanilline comme réactif et une huile de tournesol (Cevital, Algérie) comme standard (TINE-DJEBBAR *et al.*, 2011). Les absorbances sont lues à 530 nm.

Détermination de la fécondité et la viabilité des œufs

Les agonistes ont été administrés par application topique à leurs DL50 respectives aux chrysalides mâles nouvellement exuviées. À l'émergence (<8h) les papillons sont collectés des séries témoins et traitées. Des couples sont constitués de mâles qui survivent au traitement des chrysalides et de femelles non traitées. Ils sont

Agonistes de l'hormone de mue et reproduction d'*Ephestia kuehniella*

élevés individuellement dans des boîtes de Pétri dans les conditions de laboratoire et le nombre d'œufs pondus/femelle et la viabilité des œufs (pourcentage de larves néonates qui éclosent) sont déterminées selon SOLTANI-MAZOUNI *et al.* (2012).

Analyse statistique

Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins l'écart type ($m \pm SD$). Elles ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à un seul critère de classification suivie, en cas de rejet de l'hypothèse d'égalité des moyennes, par le test de Tukey. Enfin, la comparaison des moyennes deux à deux a été faite avec le test t de Student. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel MINITAB (Version 15, Penn State College, PA, USA) avec un seuil de signification $P \leq 0,05$. Plusieurs séries de traitement des chrysalides ont été effectuées pour donner un nombre suffisant d'adultes qui survivent. Le nombre de chrysalides ou d'adultes testés et le nombre de répétitions sont précisés avec les résultats.

Résultats

Chez *E. kuehniella*, les traitements ont été réalisés à l'exuviation nymphale et l'évaluation des différents paramètres a été effectuée sur des testicules d'adultes mâles témoins et traités prélevés à l'émergence (< 8 h) des papillons.

Effets sur le taux des acides nucléiques des testicules

Les résultats révèlent que les traitements effectués sur des chrysalides mâles présentent des effets variables sur la quantité d'acides nucléiques (Tableau 1). L'ANOVA révèle un effet traitement significatif sur les quantités d'ADN ($F_{4,15} = 1170,43$; $P < 0,001$). Le classement par le test de Tukey met en évidence 4 groupes

Tableau 1

Impact des agonistes de l'hormone de mue, administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles, sur les quantités testiculaires en ADN et en ARN ($\mu\text{g.mg}^{-1}$ de testicule) chez les adultes d'*E. kuehniella* ($m \pm SD$; $n=4$; pour chaque type de quantification (ADN ou ARN), les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes $P > 0,05$).

*Impact of ecdysteroid agonists, applied topically on newly ecdysed male pupae, on the amounts of DNA and RNA ($\mu\text{g.mg}^{-1}$ of testis) in *E. kuehniella* testes ($m \pm SD$; $n= 4$; for each quantification (DNA or RNA), means followed by the same letter are not significantly different $P > 0,05$).*

Traitement	Teneurs en ADN ($\mu\text{g.mg}^{-1}$ de testicule)	Teneurs en ARN ($\mu\text{g.mg}^{-1}$ de testicule)
Témoins	81,72 \pm 1,21 b	145,45 \pm 2,46 c
RH-5849	22,11 \pm 0,80 d	295,8 \pm 3,79 a
Tebufenozide	199,30 \pm 4,53 a	109,90 \pm 2,95 d
Halofenozide	21,83 \pm 0,81 d	202,40 \pm 1,72 b
Methoxyfenozide	41,76 \pm 0,64 c	113,10 \pm 1,45 d

Bulletin de la Société zoologique de France 138 (1-4)

par ordre décroissant : tebufenozide > témoins > methoxyfenozide > halofenozide et RH-5849. La quantité d'ADN augmente significativement chez les individus traités avec le tebufenozide ($P < 0,05$) et diminue d'une manière significative ($P < 0,001$) chez ceux traités avec les trois autres agonistes comparativement aux témoins. Concernant les ARN testiculaires, l'ANOVA indique également un effet traitement significatif ($F_{4,15} = 885,65$; $P < 0,00/9$ 1) et le test de Tukey permet de classer les traitements en 4 groupes par ordre décroissant de la quantité d'ARN : RH-5849 > halofenozide > témoins > methoxyfenozide et tebufenozide. Ainsi, les quantités diminuent significativement ($p < 0,05$) chez les séries traitées avec le tebufenozide et le methoxyfenozide par rapport aux témoins. Par contre, une augmentation significative ($P < 0,05$) est observée chez les séries traitées avec le RH-5849 et l'halofenozide.

Effets sur le taux des principaux constituants biochimiques des testicules

L'application topique des quatre insecticides sur des chrysalides mâles nouvellement exuviées perturbe la composition biochimique des testicules (Tableau 2). L'ANOVA révèle un effet traitement significatif au niveau des lipides ($F_{4,15} = 94,99$; $P < 0,001$) et des glucides ($F_{4,15} = 69,27$; $P < 0,001$) et une absence d'effet significatif sur les protéines ($F_{4,15} = 1,52$; $P > 0,05$). Concernant les lipides, on enregistre une réduction significative ($P < 0,05$) chez les individus traités avec le RH-5849, le tebufenozide et le methoxyfenozide, alors que pour la série traitée avec le halofenozide une augmentation significative ($P < 0,05$), respectivement. Pour les glucides, une augmentation significative ($P < 0,05$) est observée uniquement après traitement avec le tebufenozide, tandis qu'une réduction significative ($p < 0,05$) est notée chez les séries traitées avec le RH-5849 et l'halofenozide.

Effet sur le nombre d'œufs pondus/femelle et la viabilité des œufs

Le traitement des chrysalides mâles a une action différée sur la reproduction. L'ANOVA des données obtenues montre un effet traitement significatif sur le nombre d'œufs/femelle ($F_{4,45} = 20,01$; $P < 0,001$) et la viabilité des œufs ($F_{4,45} =$

Tableau 2

Impact des agonistes de l'hormone de mue, administrés par application topique sur des chrysalides mâles, sur les quantités testiculaires en protéines, lipides et glucides ($\mu\text{g.mg}^{-1}$ de testicule) chez les adultes d'*E. kuehniella* ($m \pm SD$; $n = 4$; pour un même constituant biochimique les moyennes suivies d'une même lettre ne sont significativement différentes ($P > 0,05$)).

*Impact of ecdysteroid agonists, applied topically on newly ecdysed male pupae, on the amounts of testicular proteins, lipids and carbohydrates ($\mu\text{g.mg}^{-1}$ testis) in *E. kuehniella* adults ($m \pm SD$; $n = 4$; for each biochemical component, mean values followed by the same letter are not significantly different $P > 0,05$).*

Constituants	Traitements				
	Témoins	RH-5849	Tebufenozide	Halofenozide	Methoxyfenozide
Protéines	59,73 \pm 5,25a	61,04 \pm 2,02a	79,07 \pm 5,19a	68,27 \pm 3,50a	64,17 \pm 4,29a
Lipides	813,6 \pm 22,8b	575,7 \pm 38,0c	458,5 \pm 54,20d	2126 \pm 114,5a	518,4 \pm 109,6c
Glucides	71,42 \pm 4,35b	49,94 \pm 2,08c	158,6 \pm 13,57a	72,22 \pm 1,05b	77,25 \pm 2,78b

Agonistes de l'hormone de mue et reproduction d'*Ephestia kuehniella*

Tableau 3

Impact des agonistes de l'hormone de mue, administrés par application topique sur des chrysalides mâles, sur le nombre d'oeufs/femelle et la viabilité des œufs chez *E. kuehniella* ($m \pm SD$; $n= 10$ couples pour le nombre d'oeufs/femelle; $n = 10$ répétitions chacune comportant 10 oeufs pour la viabilité; pour chaque paramètre les valeurs suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes, $P > 0,05$).

Impact of ecdysteroid agonists, applied topically on newly ecdysed male pupae, on the number of eggs/female and egg viability in E. kuehniella ($m \pm SD$; $n= 10$ pairs for the number of eggs/female, while for egg-viability $n = 10$ repeats, each containing 10 eggs; for each parameter, values followed by the same letter are not significantly different, $P > 0.05$).

Traitements	Nombre d'oeufs/femelle	Viabilité des oeufs
Témoins	107,50 \pm 9,41a	80,00 \pm 6,94a
RH-5849	88,10 \pm 6,79c	44,30 \pm 7,95b
Tebufenozide	95,50 \pm 3,30b	88,5 \pm 6,00a
Halofenozide	102,40 \pm 4,60a	39,40 \pm 4,50b
Methoxyfenozide	88,40 \pm 3,27c	36,20 \pm 6,70b

142,05 ; $P < 0,001$) après traitement des chrysalides mâles. Le test de Tukey permet le classement des divers traitements en 3 groupes (Témoins et halofenozide>tebufenozide> methoxyfenozide et RH-5849) pour le nombre d'œufs/femelle et en deux groupes (témoins et tebufenozide> RH-5849, halofénozide et methoxyfénozide) pour la viabilité des œufs (Tableau 3).

Discussion et conclusion

Les agonistes des ecdystéroïdes dérivés de la dibenzoylhydrazine comme le tebufenozide (RH-5992), l'halofenozide (RH-0345) et le methoxyfenozide (R H - 2485), affectent la reproduction généralement en réduisant la fécondité et la viabilité des œufs (HSU, 1991 ; SMAGGHE & DEGHEELE 1992 ; TAIBI *et al.*, 2003 ; DHADIALLA *et al.*, 2005 ; PINEDA *et al.*, 2009; RODRIGUEZ ENRIQUEZ *et al.*, 2010 ; SOLTANI-MAZOUNI *et al.*, 2012). Cependant, leur mécanisme d'action sur la reproduction n'est pas encore bien établi et l'impact sur les mâles est peu ou pas abordé. En effet, dans les expérimentations antérieures menées après traitement des chrysalides femelles d'*E. kuehniella*, HAMI *et al.* (2005) ont testé trois agonistes de l'hormone de mue (halofenozide, tebufenozide et RH-5849) et montré que le tebufenozide est le plus efficace, tandis que SOLTANI-MAZOUNI *et al.* (2012) ont mis en évidence une augmentation des ecdystéroïdes libres et une réduction des protéines et des lipides dans les ovaires après traitement avec le methoxyfenozide suggérant une interférence avec la vitellogénèse. Récemment, BOUZERAA & SOLTANI-MAZOUNI (2012) ont comparé l'activité de deux agonistes de l'hormone de mue (methoxyfenozide et tebufenozide) administrés par application topique sur les chrysalides des deux sexes à la fois sur le développement et divers paramètres de la reproduction. Le methoxyfenozide semble manifester des effets plus marqués sur la viabilité et la taille des œufs.

Bulletin de la Société zoologique de France 138 (1-4)

Dans les présentes expérimentations, réalisées *in vivo* sur des chrysalides mâles d'*E. kuehniella*, nous nous sommes intéressés à l'impact de divers agonistes de l'hormone de mue administrés par application topique sur la composition biochimique des testicules des adultes qui survivent au traitement des chrysalides mâles. Chez les lépidoptères, les cellules germinales se transforment en spermatozoïdes après un certain nombre de divisions successives. Selon RAMASWAMY & COHEN (1992), l'ARN messager joue un rôle dans la synthèse des protéines nécessaire à la formation des organites des spermatozoïdes tels que les mitochondries. Plusieurs processus biologiques peuvent influencer sur la quantité d'ARN dans une cellule incluant les processus de détoxification ou de stress ainsi que les variations des autres formes d'ARN. Nos résultats mettent également en évidence un effet traitement hautement significatif sur la quantité d'ADN testiculaire chez les adultes d'*E. kuehniella*. Celle-ci est réduite par le RH-5849, l'halofenozide et le methoxyfenozide contrairement au tebufenozide qui la stimule. Le dosage des principaux constituants biochimiques testiculaires a mis en évidence un effet traitement hautement significatif sur les taux de lipides et de glucides, alors que les taux de protéines ne sont pas affectés. On enregistre notamment une augmentation hautement significative des glucides après traitement avec le tebufenozide et celle des lipides après traitement avec le halofenozide. Ces constituants biochimiques jouent un rôle métabolique essentiel dans le développement du tractus génital (KANOST *et al.*, 1990).

Les effets enregistrés après traitement des chrysalides mâles sont plus dépressifs avec le methoxyfenozide et à un degré moindre avec le RH-5849. Concernant le methoxyfenozide, la comparaison des travaux antérieurs réalisés avec le traitement des chrysalides femelles seules (SOLTANI-MAZOUNI *et al.*, 2012) et le traitement des deux sexes à la fois (BOUZERAA & SOLTANI-MAZOUNI, 2012) avec le traitement des chrysalides mâles seules, objet de la présente étude, montre que le traitement des chrysalides des deux sexes est le plus dépressif. Il est suivi par le traitement des chrysalides mâles seules et en dernier par le traitement des chrysalides femelles seules. Les données obtenues avec le methoxyfenozide pour les trois types de traitement sont les suivantes : la fécondité est de $20,1 \pm 9,1$ œufs/femelle lors du traitement des chrysalides des deux sexes (BOUZERAA & SOLTANI-MAZOUNI, 2012), contre $128,1 \pm 13,9$ pour le traitement des chrysalides femelles seules (SOLTANI-MAZOUNI *et al.*, 2012) et $88,4 \pm 3,2$ pour le traitement des chrysalides mâles seules ; tandis que la viabilité des œufs est nulle pour le traitement des chrysalides mâles et femelles, elle est de $57,4 \pm 5,1$ % pour le traitement des chrysalides femelles et $36,2 \pm 6,7$ % pour le traitement des chrysalides mâles seules.

La réduction du nombre d'œufs pondus par femelle et de la viabilité des œufs pourrait être attribuée à une action des agonistes des ecdystéroïdes sur la vitellogenèse mais également sur la production et la qualité des spermatozoïdes et le comportement sexuel (SOLTANI-MAZOUNI *et al.*, 2012 ; BOUZERAA & SOLTANI-MAZOUNI, 2012). Un certain nombre de travaux appuient cette dernière hypothèse. L'halofenozide modifie le comportement sexuel chez *Blattella germanica* (KILANI-MORAKCHI *et al.*, 2009), tandis que le tebufenozide induit l'émergence d'adultes malformés avec une incapacité d'accouplement et de ponte chez *C. fumiferana*

Agonistes de l'hormone de mue et reproduction d'*Ephestia kuehniella*

(SUNDARAM *et al.*, 2002). Enfin, selon TUNAZ & UYGUN (2004), les adultes peuvent ainsi être stériles ou posséder des organes génitaux anormalement développés, ce qui entrave le processus de l'accouplement ou la capacité de produire une descendance fertile. Cet impact des agonistes des ecdystéroïdes sur la spermatogenèse est suggéré par plusieurs travaux. Ainsi, il a été rapporté que le tebufenozide réduit la fertilité des mâles avec une chute du nombre de spermatozoïdes eupyrènes chez *Helicoverpa zea* (CARPENTER & CHANDLER, 1994), *Cydia pomonella* (SUN & BARETT, 1999), *Argyrotaenia velutiana* et *Choristoneura rosaceana* (SUN *et al.*, 2000) ainsi que leur succès d'accouplement (DALLAIRE, 2004). De même, le méthoxyfénoside administré aux mâles de *C. pomonella* diminue la fécondité (SUN & BARETT, 1999) et affecte l'activité de l'accouplement (BRUCE & BARETT, 2008).

Les résultats acquis après traitement des chrysalides mâles montrent une variation dans la quantité de macromolécules dans les testicules et un effet sur le nombre d'œufs/femelle et la viabilité des œufs. Chez les Lépidoptères, l'ecdysone régule également la production de deux types de spermatozoïdes, les eupyrènes nucléés qui fertilisent l'œuf et les apyrènes anucléés qui jouent un rôle d'assistance (OSANAI *et al.*, 1987 ; FRIEDLÄNDER, 1997). C'est pourquoi les expérimentations futures prévues sur les adultes d'*E. kuehniella* qui survivent au traitement des chrysalides mâles seront consacrées au dosage des ecdystéroïdes testiculaires et au suivi du développement des testicules afin d'approfondir le mode d'action des agonistes des ecdystéroïdes chez les mâles.

Remerciements

Les auteurs remercient vivement le Pr. G. SMAGGHE (Ghent University, Belgium) pour les molécules fournies gracieusement. Cette étude a été réalisée dans le cadre des projets CNEPRU et PNR (Pr. N. SOLTANI-MAZOUNI) et a bénéficié d'un financement du Fonds National de la Recherche.

RÉFÉRENCES

- BOUZERAA, H. & SOLTAN-MAZOUNI, N. (2012).- Effets du méthoxyfénoside et du tébufenozide sur le développement et quelques paramètres de la reproduction d'*Ephestia kuehniella* après traitement des mâles et des femelles. *Bull. Soc. zool. Fr.*, **137** (1-4), 153-163.
- BRADFORD, M.M (1976).- A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 284-254.
- BRUCE, A. & BARRETT. (2008).- Assessment of méthoxyfénoside exposure on the sexual attractiveness and responsiveness of adult codling moth, *Cydia pomonella* L., in small orchard blocks. *Pest Management Sci.*, **64** (9), 916-922.
- BURTON, A. (1956).- Study of the condition and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimation of desoxyribonucleic acid. *Biochemistry*, **62**, 315-323.
- CARLSON, G.R., DHADIALLA, T.S., THOMPSON, C., RAMSAY, R., TIRAGNAM, M., JAMES, W., & SLAWECHI, R. (1994).- *Insect toxicity, metabolism and receptor binding characteristics of the non steroidal ecdysone agonist, RH-5992*. Proceeding XIth. Ecdysone Workshop, p. 43.

Bulletin de la Société zoologique de France 138 (1-4)

- CARPENTER, J.E. & CHANDLER, L.D. (1994).- Effects of sublethal doses of two insect growth regulators on *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae). *Rep. J. Entomol. Sci.*, **29**, 428-435.
- DALLAIRE, R., LABRECQUE, A., MARCOTTE, M., BAUCE, B. & DELISLE, J. (2004).- The sublethal effects of tebufenozide on the precopulatory and copulatory activities of *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. *Ent. Exp. Appl.*, **112** (3), 169-181.
- DHADIALLA, T. S., CARLSON, G.R., & LE, D.P. (1998).- New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Ann. Rev. Entomol.*, **43**, 545-569.
- DHADIALLA, T.S., RETNAKARAN A. & SMAGGHE G. (2005).- Insect growth and development disrupting insecticide. In: *Comprehensive Insect Molecular Science*, Vol. 6, L.I. Gilbert, I. Kostas, & S. Gill (eds). Pergamon Press, New York, 55-116.
- DHADIALLA, T.S. & ROSS R. (2007).- Bisacylhydrazines: novel chemistry for insect control. In: *Modern crop Protection Compounds*. W. Kramer & U. Schirmer (eds), Wiley-VCH, Weinheim, 773-796.
- DINAN, L. (1989).- Ecdysteroid structure and hormonal activity. In: *Ecdysone: From chemistry to mode of action*. Ed. By Koolman, J., Stuttgart: Thieme, 345-354.
- DUCHATEAU, G.H. & FLORKIN, M. (1959).- Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Inter. Physiol. Biochem.*, **67** (2), 306-314.
- EL OUAR, I., ARIBI, N. & SOLTANI-MAZOUNI, N. (2010).- Dosage des ecdystéroïdes chez *Ephestia kuehniella*. *Travaux de l'Institut Scientifique, Série Zoologie*, Rabat, **47** (1), 137-140.
- FRIEDLÄNDER, M. (1997).- Control of eupyrene-apyrene sperm dimorphism in Lepidoptera. *J. Insect Physiol.*, **43**, 1085-1092.
- GÄDE, G. & HOFFMANN, K.H. (2005).- Neuropeptides regulating development and reproduction in insects. *Physiol. Entomol.*, **30**, 103-121.
- GOLDSWORTHY, G.J., MORDUE, W., GUTHKELCH, J. (1972). Studies on insect adipokinetic hormones. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18**, 545-551.
- HAMI, M., TAIBI, F., SMAGGHE, G. & SOLTANI-MAZOUNI, N. (2005).- Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the Mediterranean flour moth. *Comm. Agric. Appl. Biol. Sci.*, **70** (4), 767-773
- HSU, AC.-T. (1991).- 1,2-Diacyl-1-alkyl-hydrazines; a novel class of insect growth regulators. In: *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals*, D.R. Baker, J.G. Fenyves, & W.K. Moberg, Eds. II. ACS Symposium Series, *American Chem. Soc.*, **443**, 478-490.
- KANOST, M.R., KAWOoya, J.H., LAN, R.O., RYAN, M.C., VAN HEUDSDEN J. & ZIEGLER, R. (1990).- insect haemolymph proteins. *Adv. Insect Physiol.*, **22**, 299-396.
- KAWAMURA, N., SAHARA, K & FUGO, H. (2003).- Glucose and ecdysteroid increase apyrene sperm production in *in vitro* cultivation of spermatocysts of *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.*, **49**, 25-30.
- KILANI-MORAKCHI, S., ARIBI, N., FARINE, J.P., SMAGGHE, G. & SOLTANI, N. (2009).- Halofenozide affects sexual behavior, cuticular hydrocarbons and reproduction in the female German cockroach *Blattella germanica* (Dictyoptera, Blattellidae). *Belgian J. Zool.*, **139** (2), 147-155.
- LAFONT, R., DAUPHIN-VILLEMANT, C., WARREN, J.T. & REES, H. (2005).- Ecdysteroid chemistry and biochemistry. In: *Comprehensive Molecular Insect Science*, Vol. 3, L.I. Gilbert, K. Iatrou & S.K. Gill (eds), Elsevier, Oxford, 125-195.
- LOEB, M.J. & HAKIM, R.S. (1991).- Development of genital imaginal discs of *Heliothis virescens* cultured *in vitro* with 20-hydroxyecdysone and fat body or testis sheaths. *Invert. Reprod. Dev.*, **20**, 181-191.
- OBERLANDER, H., SILHACEK, D.L., & LEACH, C.E. (1998). Interaction of ecdysteroid and juvenoid agonist in *Plodia interpunctata* (Hübner). *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **38**, 91-99.

Agonistes de l'hormone de mue et reproduction d'*Ephestia kuehniella*

- OSANAI, M., Kusaga, H. & Aigaki, T. (1987). Physiological role of apyrene spermatozoa of *Bombyx mori*. *Experientia*, **43**, 593-596.
- PINEDA, S., MARTINEZ, A. M., FIGUEROA, J.I., SCHNEIDER, M.I., DELESTAL, P., VIÑUELA, E., GÓMEZ, B., SMAGGHE, G. & BUDIA, F. (2009).- Influence of azadirachtin and methoxyfenozide on life parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, **102** (4), 1490-1496.
- RAMASWAMY, S.B., COHEN, N.E. 1992. Ecdysone: an inhibitor of receptivity in the moth, *Heliothis virescens*. *Naturwissenschaften*, **79**, 29-31.
- RODRIGUEZ ENRIQUEZ, C.L., PINEDA, S., FIGUEROA, J.I., SCHNEIDER, M.I. & MARTÍNEZ, A.M. (2010).- Toxicity and sublethal effects of methoxyfenozide on *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, **103** (3), 662-667.
- SETH, R.K., RAO, D.K. & REYNOLDS S.E. (2002).- Movement of spermatozoa in the reproductive tract of adult male *Spodoptera litura*: daily rhythm of sperm descent and the effect of light regime on male reproduction. *J. Insect Physiol.*, **48**, 119-131.
- SCHNEIDER, W.C. (1957). Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis. *In methods in enzymology*, Vol. III. (Ed. by Colowick S.P. and Kaplan N.O.). Acad. Press, N.Y., 680-684.
- SHIBKO, S., KOIVISTOINEN, P., TRATYNECK, C., New Hall, A. & FREIDMAN, L. (1966).- A method for the sequential quantitative separation of glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, **19**, 415-428.
- SMAGGHE, G. & DEGHEELE, D. (1992). Effects of RH-5849, the first non steroidal agonist, on larvae of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, **21**, 119-128.
- SOLTANI-MAZOUNI, N., HAMI, M. & GRAMDI, H. (2012).- Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Inv. Rep. Dev.*, **56** (2), 157-163.
- SUN, X. & BARRETT, B.A. (1999).- Fecundity and fertility changes in adult codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) exposed to surfaces treated with tebufenozide and methoxyfenozide. *J. Econ. Entomol.*, **92**, 1039-1044.
- SUN, X., BARRETT, B.A. & BIDDINGER, D.J. (2000).- Fecundity and fertility reductions in adult leafrollers exposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonists tebufenozide and methoxyfenozide. *Ent. Exp. Appl.*, **94**, 75-83.
- SUNDARAM, M., PALLI, S.R., SMAGGHE, G., ISHAAYA, I., FENG, Q.L., PRIMAVERA, M., TOMKINS, P.J., KRELL, W.L. & RETNAKARAN, A. (2002).- Effect of RH-5992 on adult development in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **32**, 225-231.
- TAIBI, F., SMAGGHE, G., AMRANI, L. & SOLTANI-MAZOUNI, N. (2003).- Effect of ecdysone agonist RH-0345 on reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **135C**, 257-267.
- TINE-DJEBBAR, F., BOUABIDA, H. & SOLTANI, N. (2011).- Caractérisation morphométrique et biochimique de certaines espèces de moustiques inventoriées dans la région de tébessa. *Bull. Soc. zool. Fr.*, **136** (1-4), 177-185.
- TUNAZ, H. & UYGUN, N. (2004).- Insect growth regulators for insect pest control. *Turk. J. Agric. For.*, **28**, 377-387.
- WING, K.D., SLAWECH, R.A. & CARLSON, G.R. (1988). RH 5849, a nonsteroidal ecdysone agonist : effects on larval Lepidoptera. *Science*, **241**, 470-472.
- YEZLI-TOUIKER, S. & SOLTANI-MAZOUNI, N. (2010).- Profil des ecdystéroïdes durant la métamorphose et rapport avec le cycle cuticulaire chez *Ephestia kuehniella* (Insecta, Lepidoptera, Pyralidae). *Synthèse*, **22**, 48-55.