



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
جامعة باجي مختار - عنابة-



UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA-

Faculté des sciences

Département de biologie

Laboratoire de Biologie Animale Appliquée

## Thèse

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Troisième Cycle, en  
Biologie Animale Environnementale. Option: Reproduction et Développement.

## THEME

Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires et l'effet d'un régulateur de  
croissance, RH-0345 sur le développement et la reproduction de *Culex*  
*pipiens*.

Présentée par: M<sup>elle</sup>: AMIRA Khedidja

### Jury:

Président: M<sup>r</sup>. Nouredine SOLTANI ..... Pr. Université Annaba.

Directeur de thèse: M<sup>r</sup>. Hamid BOUDJELIDA ..... Pr. Université Annaba.

Examineur: M<sup>me</sup>. Fatiha BENDALI-SAOUDI ..... MC A. Université Annaba.

Examineur: M<sup>r</sup>. Jean François FERVEUR ..... Pr. Université Dijon.

Examineur: M<sup>me</sup>. Salima BERCHI ..... Pr. Université Constantine.

Examineur: M<sup>r</sup>. Kamel LOUADI ..... Pr. Université Constantine.

Année universitaire:2013-2014

## **Remerciements**

*Je remercie avant tous **Dieu** le tout puissant pour la volonté, la santé et la patience qu'il m'a donné durant toutes les longues années d'études afin que je puisse arriver la.*

*J'exprime mes plus vifs remerciements à **M. SOLTANI N.**, Professeur au département de Biologie animale, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury. Qu'il trouve ici le témoignage de ma très haute considération.*

*Ma reconnaissance, ma vive gratitude et mes sincères remerciements vont aussi à **M. BOUDJELIDA H.** Professeur au département de Biologie animale, pour m'avoir dirigé tout au long de la réalisation de ce travail. Ses orientations, ses encouragements, sa disponibilité constante m'ont été d'une précieuse aide.*

*Je remercie également **M<sup>me</sup>. BENDALI-SAOUDI F.**, Maitre de conférences A au département de Biologie animale; Annaba ; Mr. **FERVEUR J.F.**, Directeur de recherche au Centre des Sciences du Gôut et de l'Alimentation, CNRS UMR 6265, Faculté des Sciences, université de Bourgogne Dijon-France; **M<sup>me</sup>. BERCHI S.** et **M. LOUADI K**, Professeurs au département des Sciences de la nature à l'université de Constantine, pour avoir accepté de lire et de juger ce travail.*

*Je ne remercierais jamais assez toute ma famille; **mes parents** «Achour et Zakia», **ma sœur** «Meriem», **mes frères** «Toufik et Bilel» et tous **mes proches**  
... En témoignage de leur soutien permanent durant mes études.*

*J'associe à mes remerciements tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de cette thèse et plus particulièrement **M<sup>lle</sup>**. **DJEGHADER Nour El-Houda** qui m'a beaucoup aidé et soutenue.*

*Sans oublier d'exprimer ma profonde reconnaissance pour **M<sup>r</sup>**. **BOUAZIZ Ali**, Maître assistant à l'université de Souk-Ahras pour l'étude statistique ainsi que **M<sup>r</sup>**. **FARINE Jean Pierre**, chargé de recherche au Centre des Sciences du Gût et de l'Alimentation, CNRS UMR 6265, université de Bourgogne Dijon-France pour l'analyse des hydrocarbures cuticulaires par CPG/SM.*

*Enfin, mes remerciements s'adressent à tous ceux et celles qui ont contribué de loin ou de près à l'aboutissement de ce travail.*

*A toute la famille **TOUTAOUI** et **AMIRA**.*

**MERCI**

## SOMMAIRE:

<b>I. INTRODUCTION</b> .....	01
<b>II. MATERIELS ET METHODES</b> .....	05
1. Matériel biologique .....	05
1.1. Position systématique .....	05
1.2. Cycle du développement des moustiques .....	05
1.3. Élevage des moustiques .....	09
2. Matériel chimique .....	10
2.1. Propriétés physicochimiques de l'halofenozide (RH-0345) .....	11
2.2. Essais toxicologiques .....	11
3. Etude statistique .....	11
4. Effet du RH-0345 sur la durée de développement et la morphologie de <i>Cx.</i> <i>pipiens</i> .....	13
5. Effet du RH-0345 sur les métabolites des larves de <i>Cx. pipiens</i> .....	13
5.1. Extraction des métabolites .....	13
5.2. Dosage des glucides .....	13
5.3. Dosage des lipides .....	14
5.4. Dosage des protéines .....	15
6. Effet du RH-0345 sur le potentiel de reproduction de <i>Cx. pipiens</i> .....	17
7. Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires .....	17



7.1. Technique d'extraction .....	18
7.2. Chromatographie en phase gazeuse / Spectrométrie de masse .....	18
<b>III. RESULTATS</b> .....	19
1. Toxicité du RH-0345 sur le stade nymphal de <i>Cx. pipiens</i> .....	19
2. Effet du RH-0345 sur la durée de développement et la morphologie de de <i>Cx.</i> <i>pipiens</i> .....	20
3. Effet du RH-0345 sur les métabolites des larves de <i>Cx. pipiens</i> .....	22
3.1. Poids corporel des larves L4 .....	22
3.2. Quantité de glucides des larves L4 .....	23
3.3. Quantité de lipides des larves L4 .....	24
3.3. Quantité de protéines des larves L4 .....	25
4. Effet du RH-0345 sur le potentiel de reproduction de <i>Cx. pipiens</i> .....	27
3.1. Traitement des larves L4 de <i>Cx. pipiens</i> .....	27
3.2. Traitement des nymphes de <i>Cx. pipiens</i> .....	28
3.3. Traitement des œufs de <i>Cx. pipiens</i> .....	29
4. Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires.....	29
<b>VI. DISCUSSION ET CONCLUSION</b> .....	33
<b>V. REFERENCES</b> .....	42

**RESUMES: Français; Anglais; Arabe.**

**ANNEXES: Production Scientifique.**

## Liste des tableaux

<b><u>Tableau 1:</u></b> Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.....	14
<b><u>Tableau 2:</u></b> Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.....	15
<b><u>Tableau 3:</u></b> Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.....	15
<b><u>Tableau 4:</u></b> Mortalité observée (%) des nymphes âgées de 1j chez <i>Culex pipiens</i> , après traitement avec du halofénozide, aux différentes concentrations. (m ± SE; n= 75) .....	19
<b><u>Tableau 5:</u></b> Mortalité observée (%) des nymphes âgées de 1j chez <i>Culex pipiens</i> , après traitement avec du halofénozide, aux différentes concentrations. (m ± SE; n= 75).....	20
<b><u>Tableau 6:</u></b> Durée (j) des stades de développement (larvaire, nymphal et adulte), après traitement au RH-0345 avec les concentrations létales (CL <sub>50</sub> ; CL <sub>90</sub> ) des larves L4 nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> . (n = 75) .....	21
<b><u>Tableau 7:</u></b> Durée (j) des stades de développement (nymphal et adulte), après traitement au RH-0345 avec les concentrations létales (CL <sub>50</sub> ; CL <sub>90</sub> ) des nymphes âgées de 1j de <i>Culex pipiens</i> . (n = 75).....	21
<b><u>Tableau 8:</u></b> Effet du RH-0345 (CL <sub>50</sub> et CL <sub>90</sub> ) sur le poids corporel des larves L4 âgées de 1, 2, 4 et 6j (mg/ larve).....	23
<b><u>Tableau 9:</u></b> Effet du RH-0345 sur le potentiel reproducteur des adultes femelles de <i>Culex pipiens</i> après traitement des larves L4 (n= 10 femelles, durée = 30j) .....	28
<b><u>Tableau 10:</u></b> Effet du RH-0345 sur le potentiel reproducteur des adultes femelles de <i>Culex pipiens</i> après traitement des nymphes (n= 10 femelles, durée = 30j). .....	29
<b><u>Tableau 11:</u></b> Effet du RH-0345 sur les œufs de <i>Culex pipiens</i> traités avec Les CL <sub>50</sub> et CL <sub>90</sub> .....	29
<b><u>Tableau 12:</u></b> des hydrocarbures cuticulaires des larves L4 témoins et traitées (CL <sub>50</sub> et CL <sub>90</sub> ) âgées d'1 j de <i>Culex pipiens</i> (ng) (n = 5; m ± s; TR: Temps de Réention (mn))......	30

## Liste des figures

<b>Figure 1:</b> Cycle de développement de moustique <i>Culex pipiens</i> .....	6
<b>Figure 2:</b> Œufs de <i>Culex pipiens</i> .....	7
<b>Figure 3:</b> Larve de <i>Culex pipiens</i> . .....	7
<b>Figure 4:</b> Nymphe de <i>Culex pipiens</i> .....	8
<b>Figure 5:</b> Un moustique adulte de <i>Cx. pipiens</i> (A; Femelle, B; Mâle) .....	9
<b>Figure 6:</b> Présentation d'élevage de moustiques au laboratoire .....	10
<b>Figure 7:</b> Structure chimique de l'halofénozide .....	10
<b>Figure 8:</b> Extraction des glucides, lipides et protéines totaux .....	16
<b>Figure 9:</b> Aspects morphologiques induits par le traitement des larves L4 de <i>Cx. pipiens</i> avec le RH-0345 .....	22
<b>Figure 10:</b> Dosage des glucides totaux des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucose ( $\mu\text{g}$ ) .....	23
<b>Figure 11:</b> Effet du RH-345 ( $\text{CL}_{50}=12,58 \mu\text{g/l}$ et $\text{CL}_{90}=28,58 \mu\text{g/l}$ ) sur la quantité de glucides ( $\mu\text{g/mg}$ poids corporel) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> ( $m \pm s$ , $n = 10$ ). .....	24
<b>Figure 12:</b> Dosage des lipides totaux des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides ( $\mu\text{g}$ ).....	25
<b>Figure 13:</b> Effet du RH-345 ( $\text{CL}_{50}=12,58 \mu\text{g/l}$ et $\text{CL}_{90}=28,58 \mu\text{g/l}$ ) sur le contenu en lipides ( $\mu\text{g/mg}$ poids corporel) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> ( $m \pm s$ , $n = 10$ ) .....	25
<b>Figure 14:</b> Dosage des protéines totales des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine ( $\mu\text{g}$ ) .....	26
<b>Figure 15:</b> Effet du RH-345 ( $\text{CL}_{50}=12,58 \mu\text{g/l}$ et $\text{CL}_{90}=28,58 \mu\text{g/l}$ ) sur le contenu en protéines ( $\mu\text{g/mg}$ poids corporel) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> ( $m \pm s$ , $n = 10$ ) .....	26
<b>Figure 16:</b> Effet du RH-0345 sur la fécondité (nombre des œufs pondus / femelle) de <i>Culex pipiens</i> après traitement des larves ( $n= 10$ femelles; durée = 30j) .....	27

<b><u>Figure 17:</u></b> Effet du RH-0345 sur la fécondité (nombre des œufs pondus / femelle) de <i>Culex pipiens</i> après traitement des nymphes (n= 10 femelles; durée = 30j) .....	28
<b><u>Figure 18:</u></b> Profil des hydrocarbures cuticulaires des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> (7 pics majeurs) .....	30
<b><u>Figure 19:</u></b> Chromatogramme des hydrocarbures cuticulaires des larves témoins âgées de 1 et 6j de <i>Culex pipiens</i> .....	31
<b><u>Figure 20:</u></b> Chromatogramme des hydrocarbures cuticulaires de 2 lots traités au RH-0345 (CL <sub>50</sub> et CL <sub>90</sub> ) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> , âgées de 1j comparés à un lot témoin .....	32
<b><u>Figure 21:</u></b> Chromatogramme des hydrocarbures cuticulaires de 2 lots traités au RH-0345 (CL <sub>50</sub> et CL <sub>90</sub> ) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> , âgées de 6j comparés à un lot témoin .....	32

# INTRODUCTION

# Introduction

---

## I. INTRODUCTION:

Les insectes sont des animaux articulés appartenant à l'embranchement des Arthropodes, ils sont caractérisés par une diversité d'espèces, présentes dans tous les milieux et tous les climats. Leur développement présente des mues successives permettant la croissance et le changement morphologique de l'animal (Riddiford, 1996). Certains groupes d'insectes, appelés les Hétérométaboles, sont des types d'insectes à métamorphose incomplète (un groupe intermédiaire), qui deviennent adultes à l'issue de la mue imaginale. Les holométaboles, représentent les insectes à métamorphose complète qui subissent successivement au cours de leur développement post-embryonnaire, trois phénotypes différents; larve, nymphe puis adulte. Le passage d'un phénotype à un autre; la mue, la métamorphose et la reproduction sont régulés par deux hormones principales; les ecdystéroïdes et les hormones juvéniles (Gäde *et al.*, 1997; Gilbert *et al.*, 2000; Stay, 2000; Dhadialla *et al.*, 2005). L'ecdysone (l'hormone de mue) est synthétisée à partir du cholestérol par les glandes prothoraciques après leur stimulation par le HTTP (hormone prothoracicotrope). L'E (ecdysone) est une prohormone libérée dans l'hémolymphe puis convertie en une hormone active, la 20 E (la 20-hydroxyecdysone) dans le corps gras (l'organe principal responsable du métabolisme énergétique, sa fonction est semblable à celle du foie chez les vertébrés) (Rees, 1995). Les HJs (hormones juvéniles) sont synthétisées par les corps allates (glande située en arrière du cerveau) (Miyamoto *et al.*, 1993), sous plusieurs formes, dont cinq ont été identifiées : HJ0, 4méthyl HJ I, HJ I, HJ II, HJ III (Miyamoto *et al.*, 1993) avec la HJ III est considérée la plus représentative de ces hormones (Lafont, 2000).

Parmi les nombreux ordres appartenant à la classe des insectes, les diptères et plus particulièrement la famille des Culicidae. Cette famille est divisée en trois sous familles; les Toxorhynchitinae, les Anophelinae et les Culicinae, et comprend environ 3000 espèces. Les Culicidae, appelés communément les moustiques, sont des insectes hématophages, présentent une préoccupation majeure en termes de développement économique et de santé publique. Les moustiques en plus de leur nuisance sont des vecteurs de plusieurs agents pathogènes tels que les protozoaires (paludisme), les virus (fièvre jaune, dengue et West Nile) et les nématodes (filariose) qu'ils transmettent à l'homme et aux animaux domestiques (Nuttall, 1997; Hubálek, 2008). En Algérie, *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) est l'espèce de moustique qui présente le plus d'intérêt en raison de sa large répartition géographique, de son abondance et de sa nuisance, surtout dans les zones urbaines tel que la ville de Annaba. Les moustiques

## Introduction

---

sont généralement contrôlés par des insecticides conventionnels (les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoides de synthèse), qui ont eu à long terme des effets secondaires (accumulation de résidus dans la chaîne alimentaire, effets sur les organismes non visés...). La lutte chimique continue à être le moyen majeur de contrôle de ses vecteurs (Casida & Quistad, 1998). Cependant, en dehors de leur neurotoxicité, les produits chimiques utilisés sont devenus moins efficaces du fait de la résistance développée par certaines espèces de moustiques et insectes en général (Rodriguez *et al.*, 2002; Konan *et al.* 2003; Díaz *et al.*, 2007; Asidi *et al.*, 2012). Toutes ces raisons ont poussées les chercheurs de proposer d'autres alternatives plus sélectifs qui ne présentent aucun effet toxique pour les organismes non visés. L'apparition de la méthode biologique, celle ci a fait l'objet d'une nouvelle lutte, plus sûre, plus sélective et biodégradable et induisent des effets toxiques contre différentes espèces de Diptères. Elle est présentée par l'utilisation des poissons larvivores comme le *Gambusia affinis* (Bendali *et al.*, 2001), des biopesticides botaniques tels que le spinosad, Azadirachtin, les huiles essentielles et des extraits végétaux (Pavela, 2009; Rehim *et al.*, 2011; Arya *et al.*, 2011; Zoubiri & Baaliouamer, 2011; Maiza *et al.*, 2013) et des insecticides microbiologiques représentés principalement par le *Bacillus thuringiensis* (Boudjelida *et al.*, 2008; Radhika *et al.*, 2011; kumar *et al.*, 2013). Parmi les alternatives, les régulateurs de croissance des insectes ou insect growth regulators (I.G.Rs) (Ishaaya & Horowitz, 1998; Boudjelida *et al.*, 2005; Khebbeb *et al.*, 2008; Bouaziz *et al.*, 2011), qui agissent sans effets secondaires sur l'environnement en général et les organismes non visés en particulier (Soltani, *et al.*, 2008).

Les I.G.Rs ont été développés sur le principe de la perturbation de la croissance et le développement des insectes (Yu, 2008). Ils sont classés en trois groupes selon leur mode d'action qui sont; les inhibiteurs de la synthèse de la chitine ou les benzoylphenylurées (le diflubenzuron, le lufenuron, le triflumuron, le flucycloxyuron, l'hexaflumuron, le novaluron et le chlorfluazuron), leur action insecticide est due à l'interaction avec la synthèse de la chitine (Soltani *et al.*, 1993, 1996, Djeghader *et al.*, 2013) en causant une déposition anormale de la cuticule et provoquant une mue incomplète (Ishaaya, 1990; Dhadialla *et al.*, 2005; Adel, 2012). Une deuxième classe est représentée par les analogues de l'hormone juvénile (le pyriproxifen, le fenoxycarb et le methoprène), ces produits agissent sur les stades larvaires et le stade adulte en perturbant la physiologie et la reproduction de l'insecte (Aribi *et al.*, 2001, 2006; El Ouar *et al.*, 2006). Le dernier groupe sont les analogues des ecdystéroïdes comportant les antagonistes (KK42, KK22) qui inhibent la biosynthèse de l'hormone juvénile,

## Introduction

---

et sont considérés comme des anti JH et les agonistes (RH-5849, RH-5992, RH-2485 et RH-0345); ils agissent en mimant l'action de l'hormone de mue en se fixant aux récepteurs nucléaires spécifiques des écdystéroïdes naturels (Smaghe *et al.*, 2003; Swevers *et al.*, 2003; Dhadiala *et al.*, 2005); en conséquence ils induisent des mues précoces et prématurées (Dhadiala *et al.*, 2005; Boudjelida *et al.*, 2005; Shashank *et al.*, 2010). Ces dérivés présentent un grand potentiel comme agent de contrôle des espèces nuisibles puisqu'ils induisent des mues précoces et incomplètes aboutissant à la mort des larves.

Le mode d'action et l'influence de certaines molécules des I.G.Rs, sur des paramètres du développement et de la reproduction de plusieurs espèces d'insectes, ont fait l'objet d'importants travaux au niveau du laboratoire de Biologie Animale Appliquée (LBAA). Les essais menés avec du halofénozide (RH-0345), RH-5849, RH-5992 et RH-2485, l'andalin, l'alsystin et le KK-42 ont montré une perturbation de la reproduction et une réduction aux taux des ecdystéroïdes chez *Tenebrio molitor* (Taibi *et al.*, 2003; Amrani *et al.*, 2004; Berghiche *et al.*, 2008), chez *Ephestia Kuehniella* (Hami *et al.*, 2005; Soltani-Mazouni *et al.*, 2011) et chez *Culex pipiens* (Rehimi & Soltani, 2002; Boudjelida *et al.*, 2002, 2005), la mise en évidence de l'action d'un inhibiteur de synthèse de la chitine, le novaluron est portée sur les espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*, qui révèle un effet toxique, perturbe le développement et les taux des métabolites (Bouaziz *et al.*, 2011; Djeghader *et al.*, 2013).

Les moustiques comme tous les insectes, possèdent une cuticule qui protège leur corps, composée essentiellement de chitine et des protéines, elle est divisée en deux couches; la procuticule (endocuticule et exocuticule) et l'épicuticule qui est couverte par une fine couche de lipides épicuticulaires (cires cuticulaires) contenant les hydrocarbures cuticulaires (HCs). Ils assurent la protection contre la déshydratation (Rouault *et al.*, 2004; Howard & Blomquist, 2005; Barbour *et al.*, 2007; Blomquist & Bagnères, 2010), protègent contre les micro-organismes pathogènes (Howard & Blomquist, 2005) et régulent la reproduction en agissant comme phéromones sexuelles (Cuvillier-Hot *et al.*, 2002; Hannonen & Sundström, 2002; Heinze *et al.*, 2002; Dietemann *et al.*, 2003; Endler *et al.*, 2004; Ferveur, 1997, 2005). Les HCs sont synthétisés au niveau des oenocytes (Romer, 1991). Comme les HCs sont des molécules hydrophobes, leur transport de l'intérieur vers l'extérieur de ces cellules nécessite des lipophorines plasmatiques (Lp) (Schal *et al.*, 2003; Atella *et al.*, 2006). On peut classer les HCs en trois groupes majeurs: les *n*-alkanes, les méthyl-alkanes et les alcènes (Howard & Blomquist, 2005; Hefetz, 2007; Martin *et al.*, 2008b; d'Ettorre & Lenoir, 2010).



## Introduction

---

Le présent travail fait partie d'un programme de lutte et à pour objectif de mettre en œuvre des approches afin de lutter contre les moustiques et se protéger contre les épidémies. L'étude envisagée concerne, en première partie, des essais toxicologiques, avec un régulateur de croissance des insectes (I.G.Rs), l'halofenozide; RH-0345 à l'égard des nymphes de l'espèce de moustique *Culex pipiens*, qui complète les travaux réalisés par Boudjelida *et al.*, (2005), et d'évaluer son effet sur le développement. Une autre partie du travail est consacrée à une étude biochimique et physiologique de la reproduction, après traitement aux concentrations létales CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> des larves L4 et des nymphes.

La cuticule de part sa structure, sa composition et son rôle physiologique est une cible privilégiée des régulateurs de croissance des insectes. Les I.G.Rs agissent sur le renouvellement périodique de la cuticule au cours des mues soit via la synthèse de la chitine, soit via les taux de l'hormone de mue et de l'hormone juvénile. Dans la dernière partie, de la présente étude, une analyse quantitative et qualitative des hydrocarbures cuticulaires (HCs), du stade larvaire L4 de *Culex pipiens*, après traitement avec la CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> du halofenozide (RH-0345), permettra de connaître le contenu des hydrocarbures cuticulaires, de l'espèce et de voir la perturbation engendrée sur la composition et la structure de la cuticule du stade biologique de moustique traité.

# MATERIELS ET METHODES

### II. MATERIELS ET METHODES:

Le présent travail consiste à évaluer l'efficacité d'un régulateur de croissance, un analogue de l'hormone de mue, l'Halofénozide (RH-0345) contre une espèce de moustique, *Culex pipiens*, sur plusieurs aspects: développemental, structural, morphologique et de reproduction.

#### 1. Matériel biologique:

Le matériel biologique utilisé est présenté par le moustique domestique, l'espèce la plus abondante en Algérie, *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). Il présente un grand intérêt économique en raison de sa nuisance, sa large répartition géographique surtout dans les zones urbaines (Soltani *et al.*, 1999). Il présente aussi un intérêt médical et vétérinaire, car c'est le vecteur d'un certain nombre de maladies (Lounibos, 2002).

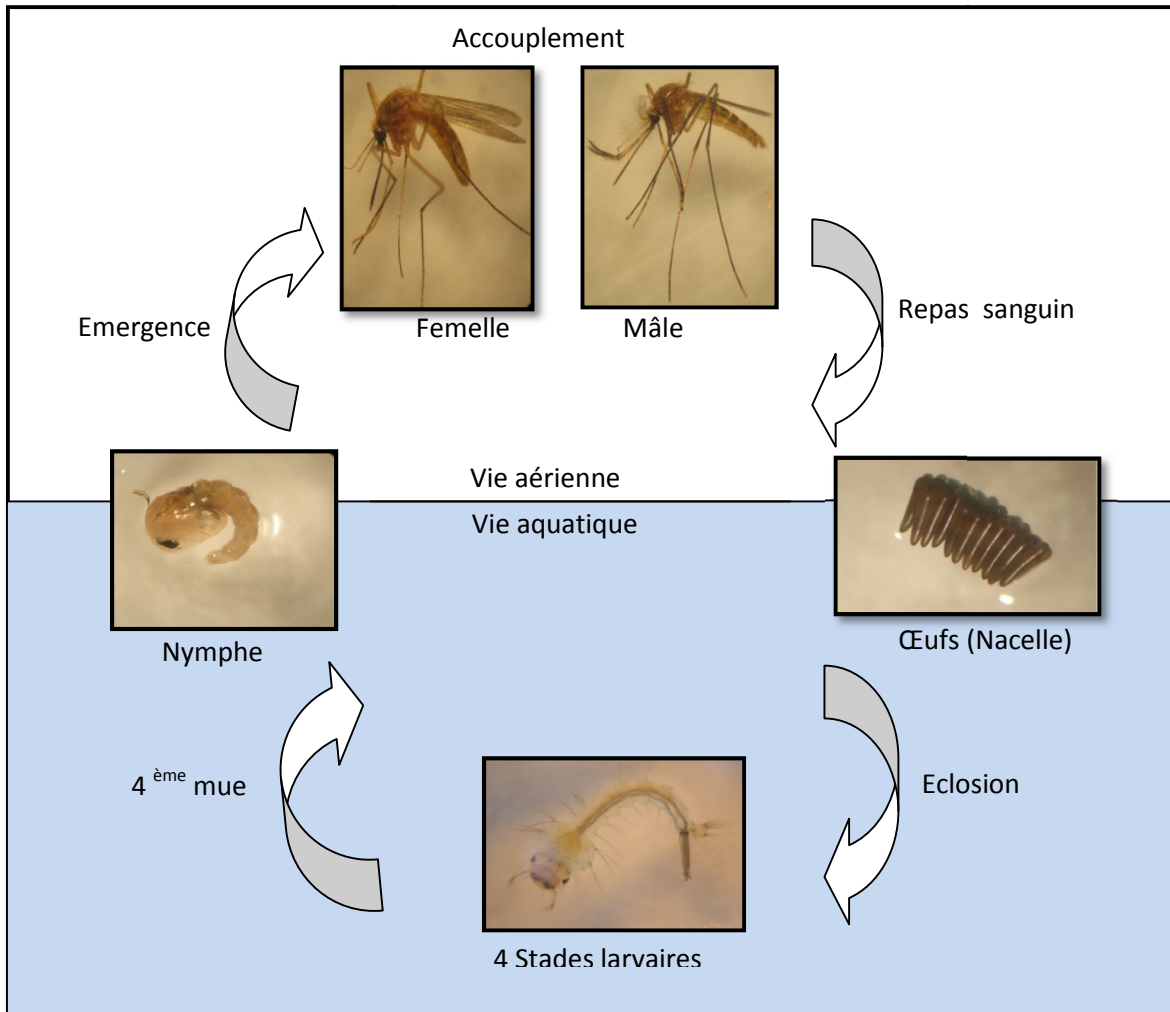
**1.1. Position systématique:** La position systématique de moustiques *Culex pipiens* a été proposée par Linné, (1758) comme suit:

Règne :	Animalia
Embranchement :	Arthropoda
Sous Embranchement:	Antennata
Classe :	Insecta
Sous Classe:	Pterygota
Ordre :	Diptera
Sous Ordre:	Nematocera
Famille :	Culicidae
Sous Famille:	Culicinae
Genre :	<i>Culex</i>
Espèce :	<i>pipiens</i>

#### 1.2. Cycle de développement de moustiques:

Les moustiques sont des insectes holométaboles, passent par plusieurs stades de développement. Les premiers stades du développement représentés par les œufs, les larves et

les nymphes sont aquatiques, cependant le stade adulte à une vie aérienne (Figure 1). La femelle adulte est hématoophage, après son émergence d'une durée estimée à 24-72 h, pique les vertébrés pour sucer leur sang contenant des protéines nécessaires à la maturation des œufs (Klowden, 1990). Pendant la piqûre, la femelle injecte de la salive anticoagulante qui provoque, chez l'homme, une réaction inflammatoire plus ou moins importante selon les individus (Reinert, 2000).

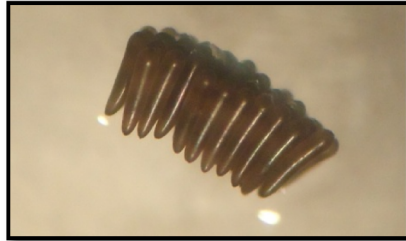


**Figure 1:** Cycle de développement de moustique *Culex pipiens*.

### a. La ponte des œufs :

L'accouplement qui aura lieu généralement, peu de temps après l'émergence des adultes, est reproduit par l'attraction du mâle par les vibrations des ailes des femelles en vol. Chaque femelle est accouplée une seule fois pendant toute sa vie, en conservant les spermatozoïdes dans le spermathèque (Schaffner *et al.*, 2001). Quarante-huit heures après la prise de repas sanguin, les femelles déposent leurs œufs de couleur blanchâtre à la surface d'eau stagnante, ils prennent rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de

la thèque, une couleur marron ou noire, ces œufs sont de 0,07 mm de long et 0,05 mm de large (Bendali, 1989), les œufs sont regroupés en une structure en plateau, appelée " nacelle" (forme de petit radeau) chez le genre *Culex* (Figure 2) (Clements, 1992; Balenghien, 2006) et de forme isolée chez les genres *Aedes* et *Anopheles*. Ces œufs se développent en un à deux jours et éclosent donnant naissance à des larves aquatiques de premier stade.



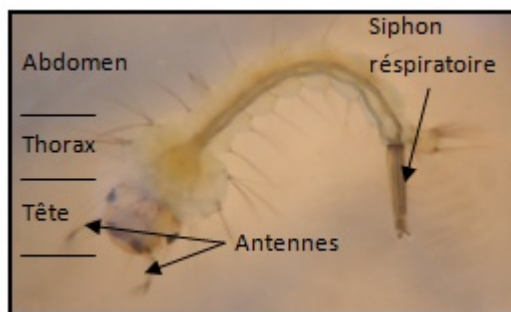
**Figure 2:** Œufs (nacelle) de *Culex pipiens* ( $\times 10$ ).

### **b. Stades larvaires:**

Les larves de moustiques s'alimentent et se maintiennent au repos sous la surface de l'eau, respirant à l'extrémité du siphon respiratoire. Elles se différencient des autres insectes aquatiques par l'absence de pattes. Ces larves sont clairement constituées de trois parties (Figure 3):

- Une tête pourvue d'une paire d'antennes.
- Un thorax plus large que la tête.
- Un abdomen pourvu; au niveau du huitième segment, d'un siphon respiratoire. (Balenghien, 2006).

Les larves passent par quatre stades de développement distincts séparés par des mues dont le quatrième stade larvaire passe au stade nymphal (Lenormand, 1998).

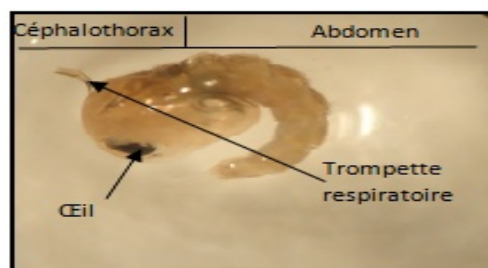


**Figure 3:** Larve de *Culex pipiens* ( $\times 11$ ).

---

### c. Stade nymphal :

La nymphe de *Cx. pipiens* présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (Balenghien, 2006). Au niveau du céphalothorax, se distinguent les ébauches de divers organes : yeux, pattes, ailes. La nymphe, également aquatique (Figure 4), ne se nourrit pas mais durant ce stade, le moustique subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte (Rodhain & Perez, 1985) et la différence entre les deux sexes est claire à ce stade; l'extrémité des mâles est un peu collée au céphalothorax, cependant celle des femelles est dégagée. La durée nymphale est estimée de deux à quatre jours, qui se termine par l'émergence des adultes.

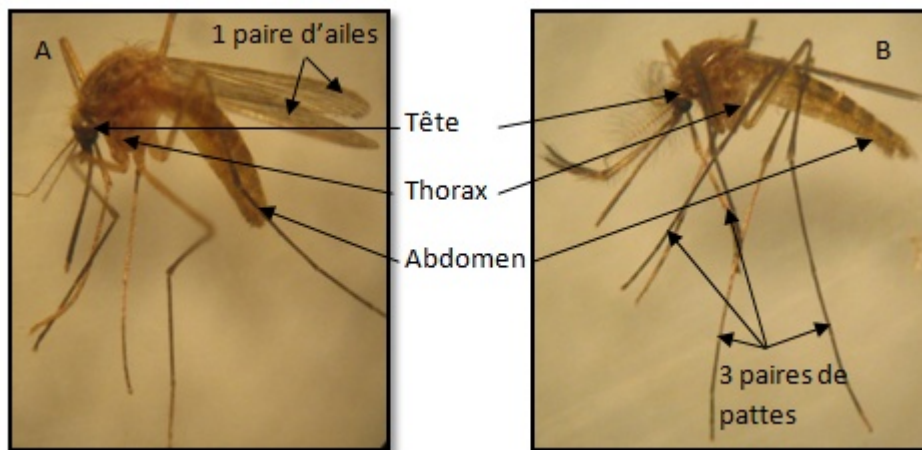


**Figure 4:** Nympe de *Culex pipiens* ( $\times 11$ ).

### d. Stade adulte :

Les *Culex* au stade adulte, comme tous les diptères, possèdent une seule paire d'ailes, la deuxième paire est réduite en une paire de balanciers (ou haltères). Les femelles se distinguent facilement des mâles qui présentent des antennes plumeuses au niveau de la tête. Les femelles possèdent de plus, de longues pièces buccales caractéristiques de type piqueur suceur (Harbach, 2007). Le thorax est un segment médian hypertrophié renfermant les muscles des ailes. L'abdomen est constitué de plusieurs segments, dont les derniers constituent le génitalia (Figure 5).

En général, les mâles émergent avant les femelles pour le développement de leurs glandes sexuelles. La durée de vie de l'adulte varie d'une semaine à plus de trente jours et les femelles vivent plus longtemps que les mâles qui meurent après l'accouplement (Schaffner *et al.*, 2001).

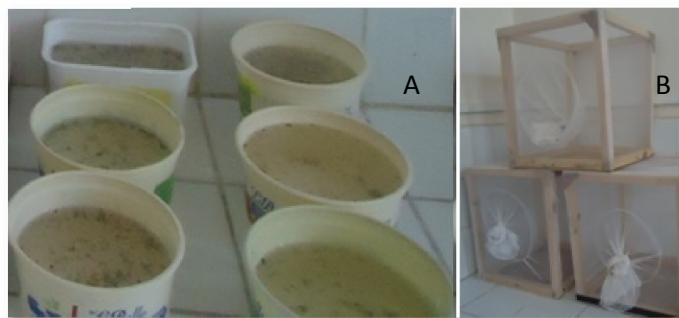


**Figure 5:** Un moustique adulte de *Cx. pipiens* (A; Femelle, B; Mâle) ( $\times 7$ ).

### 1.3. Élevage des moustiques au laboratoire :

Un élevage de masse de moustiques a été effectué au laboratoire après la capture des adultes au niveau des caves sanitaires; des bâtiments de l'agglomération de la commune de Sidi Ammar, à la wilaya d'Annaba. La capture est assurée par un tube à essai en verre posé directement sur les moustiques qui s'envolent et gagnent le fond du tube, ensuite ces derniers sont déposés dans des cages d'élevage de forme cubique (30 x 30 x 30 cm) avec une armature en bois, couverte de tulle et comportant un manchon pour les manipulations (Figure 6). Les moustiques mises en cages sont nourries de dattes suspendues dans la cage qui contient un récipient d'eau déchlorurée, et maintenues à une température de 25 C° et une photopériode journalière (Bendali *et al.*, 2001). Le repas sanguin des femelles est assuré par l'introduction de la main à partir du manchon de la cage, dans une obscurité faite par la couverture avec un tissu noir, et nécessite aussi un calme absolu.

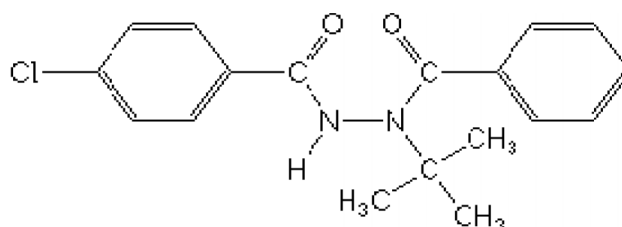
nacelle flottante. Après le développement embryonnaire de 48 h, les œufs éclos et donne naissance à des larves qui sont nourries d'un mélange de biscuit (75%) et de levure sèche (25%) (Bendali *et al.*, 2001). Le changement de l'eau avec la nourriture est effectué tous les 2 à 3 jours avec une quantité qui se varie selon les différents stades. Les nymphes sont placées dans d'autres récipients disposées dans les cages où elles se transformeront aux adultes.



**Figure 6:** Présentation d'élevage de moustiques au laboratoire; Récipients des larves (A) et cages des adultes (B).

### 2. Matériel chimique :

Les pesticides classiques conventionnels sont des produits neurotoxiques répartis en deux générations, la première représentée par les organochlorés, les organophosphorés et la deuxième par les carbamates et les pérythrinoides, contrairement aux pesticides de troisième génération représentée par les régulateurs de croissance des insectes ou les I.G.Rs (insect growth regulators) qui agissent sur les processus physiologiques des insectes. Ces molécules sont classées en trois groupes selon leur mode d'action; les inhibiteurs de la synthèse de la chitine, les analogues de l'hormone juvénile et les agonistes des écdystéroïdes. Le matériel chimique utilisé dans la présente recherche est l'halofénozide (RH-0345), un insecticide agoniste non stéroïde de l'hormone de mue (la 20-hydroxyecdysone) qui mime son action en interférant avec le processus normal de la mue. Cette molécule a été développée en 1988 par la firme Rohm et Hass (USA) (Figure 7). L'activité de la formulation commerciale du RH-0345 de 23 % EC (Emulsion Concentrée) a été évaluée sur plusieurs aspects du développement de *Culex pipiens*.



**Figure 7:** Structure chimique de l'halofénozide ([www.alanwood.net](http://www.alanwood.net)).



### 2.1. Propriétés physico-chimiques d'halofenozide (RH-0345):

Nom commun: halofenozide

Nom chimique: N-tert-butyl-N- (4-chlorobenzoyl)

Nom commercial: RH-0345

Formule empirique: C<sub>18</sub> H<sub>19</sub> Cl N<sub>2</sub> O<sub>2</sub>

Famille chimique: benzoylhydrazide

Poids moléculaire: 330,810

PH: 5,6

Solubilité dans l'eau: 12,3 ppm

Photolyse: 129 j.

### 2.2. Essais toxicologiques:

La présente étude toxicologique avec l'utilisation d'halofenozide (le RH-0345) complète les travaux antérieurs de Boudjelida *et al.*, (2005), qu'ont été consacré à l'évaluation de l'effet de la présente molécule à l'égard des stades larvaires de l'espèce de moustique *Culex pipiens*.

L'effet toxique des différentes concentrations d'halofénozide (RH-0345) (8 à 150 µg/l) a été testé à l'égard des nymphes âgées de 1j (premier jour de la nymphose), de *Culex pipiens*. Les testes toxicologiques ont été réalisés avec trois répétitions comportant chacune 25 individus pour chaque concentration ainsi que la série des témoins. Les séries traitées des nymphes ont été exposées à ce produit pendant 24 heures selon les recommandations de l'O.M.S (1983). Après, les nymphes sont placées dans des récipients contenant de l'eau propre, et la mortalité est enregistrée quotidiennement jusqu'à l'émergence des adultes.

### 3. L'étude statistique:

La mortalité comptée a été enregistrée pour chaque concentration ainsi que le témoin. Les résultats de la mortalité obtenus sont transformés en mortalité observée pour les différentes séries de traitement et témoin. Les moyennes plus ou moins l'écart type de la mortalité observée pour chaque concentrations et le témoin, sont calculées à partir des trois répétitions.

**-Mortalité observée :** Le pourcentage de la mortalité observée (*M.O*) des nymphes témoins et traitées de *Culex pipiens* a été déterminé selon la formule suivante:

$$M. O = \frac{\text{nombre de nymphes mortes après traitement}}{\text{nombre total de nymphes}} \times 100$$

**-Mortalité corrigée :** Le pourcentage de la mortalité observée chez les nymphes traitées de *Culex pipiens*, est transformée à une mortalité corrigée (*M.C*) selon la formule d'Abott, 1925 qui permet d'éliminer la mortalité naturelle qui doit être comprise entre 4 et 16 %, et qu'est enregistrée chez la série des témoins.

$$M. C = \frac{\text{mortalité observée chez les traités} - \text{mortalité observée chez les témoins}}{100 - \text{mortalité observée chez les témoins}} \times 100$$

**-Transformation angulaire :** Les pourcentages de la mortalité corrigée (ou observée) subissent une transformation angulaire selon la méthode de Fisher & Yates (1957). Les données obtenues ont été analysées par l'AVI (Analyse de la variance à un seul critère de classification) pour déterminer le seuil de signification (*P*) à l'aide de logiciel, Minitanb, version: 13.31.

**-Analyse de probits :** La droite de régression de logarithme décimal des concentrations (*X*) en fonction des probits (*Y*); issus de la transformation angulaire des moyennes de la mortalité corrigée selon Fisher & Yates (1957), permet d'estimer les deux concentrations létales  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  selon (Finney, 1971), comme ci-dessous:

$$Y = a X + b \text{ donc ; } X = \frac{\text{Probit } X - b}{a} \quad \text{ou } Y = \text{probit } 50 (90) \text{ et } X = \log CL_{50} (CL_{90}).$$

$$\text{Exemple: } \text{probit } 50 = 5 \text{ donc: } X = \frac{5 - b}{a} = \log CL_{50}$$

Anti log  $X = CL_{50}$ . Ainsi que pour la  $CL_{90}$ .

L'intervalle de confiance (limite inférieure et limite supérieure) de ces deux concentrations létales ( $CL_{50}$  et  $CL_{90}$ ) a été calculé selon la méthode de (Swaroop *et al.*, 1965) comme suit:

$$\text{Limite supérieure} = CL_{50} \times FCL_{50} \quad \text{et} \quad \text{Limite inférieure} = CL_{50} / FCL_{50}$$

$$FCL_{50} = \text{Anti log } C \quad \text{où } C = 2.77 \sqrt{N \times \log S} \quad \text{et } S = \frac{CL_{84}/CL_{50} + CL_{50}/CL_{16}}{2}$$

N: Nombre des nymphes mortes entre la CL<sub>16</sub> et la CL<sub>84</sub>; S: Slope.

#### 4. Effet du RH-0345 sur la durée de développement et la morphologie de *Culex pipiens*:

Dans une autre série d'expérience, les CL<sub>50</sub>=12,58 et CL<sub>90</sub>= 28,58 µg/l du halofenozide (RH-0345) (Boudjelida *et al.*, 2005) ont été testées pour évaluer leurs effets sur la durée du développement des stades larvaire et le stade nymphal. Les résultats obtenus sont soumis à une analyse statistique, à l'aide de test *t* de Student, par la comparaison des lots traités par rapport au lot témoin. Les larves et les nymphes mortes ont fait l'objet d'une observation microscopique, afin d'enregistrer les différents aspects morphologiques.

#### 5. Effet du RH-0345 sur les métabolites des larves L4 de *Culex pipiens*:

L'effet différé du RH-0345, a été évalué sur les métabolites (glucides, lipides et protéines) des larves L4. Le dosage des métabolites a été réalisé sur le corps entier des larves L4 traitées aux concentrations létales (CL<sub>50</sub> = 12,58 µg/l et CL<sub>90</sub> = 28,58 µg/l) (Boudjelida *et al.*, 2005) et larves témoins, âgées de 1, 2, 4 et 6j de *Culex pipiens*.

##### 5.1. Extraction des métabolites:

L'extraction des métabolites a été réalisée selon Shibko *et al.* (1966). Le dosage des métabolites a été effectué sur des pooles de larves (N=10) avec 5 répétitions, chaque lot est pesé puis placé dans un tube eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyé à l'aide d'un homogénéiseur à ultrason. Après une première centrifugation (5000 trs / min à 4°C /10 mn) de ces tubes, le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Au reste des tubes (culot I), 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) est ajouté et après une seconde centrifugation (5000 trs /min, 10 mn), le surnageant II est utilisé pour le dosage des lipides (Goldsworthy *et al.*, 1972) et le culot II, dissout dans la soude (0,1 N), est utilisé pour le dosage des protéines selon Bradford (1976).

##### 5.1.1. Dosage des glucides:

Le dosage des glucides a été réalisé selon la technique de Duchateau & Florkin (1959). Elle consiste à additionner 4 ml de réactif d'antrone au 100 µl du surnageant I contenu dans

un tube à essai, et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 mn. Une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucides présente dans l'échantillon. La lecture de l'absorbance est faite à l'aide d'un spectrophotomètre avec une longueur d'onde de 620 nm.

La préparation du réactif d'anthrone se fait comme suit : peser 150 mg d'anthrone, ajouter 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée. On obtient une solution limpide de couleur verte qui est stockée à l'obscurité.

La quantité des glucides est calculée à partir de la droite de régression obtenue à partir de la gamme d'étalonnage (Tableau 1), effectuée à partir d'une solution mère de glucose 1mg/1ml d'eau distillée.

**Tableau 1.** Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides.

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

### 5.1.2. Dosage des lipides:

Le dosage des lipides a été déterminé selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972) en utilisant le réactif sulfophosphovanillinique. Il se fait sur des prises de 100 µl de surnageant II qui subissent une évaporation totale puis 1 ml d'acide sulfurique concentrée a été ajouté, les tubes sont ensuite agités et mises pendant 10 min dans un bain de sable à 100 °C. Après refroidissement, une quantité de 200 µl a été prise de ce mélange au quel 2,5 ml de réactif sulfophosphovanillinique a été ajouté, les tubes ont été mis dans un lieu obscur pendant 30 min. La densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. Le réactif sulfophosphovanillinique est préparé comme suit:

Dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée et ajouter 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4 °C et à l'obscurité.

La quantité de lipides est estimée à partir de la droite de régression obtenue après une gamme d'étalonnage (Tableau 2), effectuée à partir d'une solution mère de lipides préparée

comme suit: prendre 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et ajouter 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V).

**Tableau 2.** Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.

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

### 5.1.3. Dosage des protéines:

Le dosage des protéines est effectué, selon la méthode de Bradford (1976), en prenant 100 µl de culot II, à laquelle 4 ml de réactif du Bleu Brillant de Commassie (BBC) G 250 (Merck) a été ajouté. La solution de BBC, se prépare comme suit: homogénéiser 100 mg de BBC, dans 50 ml d'éthanol 95°, ajouter ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% et compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée. La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4 °C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm.

La quantité de protéines est calculée à l'aide de la droite de régression issue d'une gamme d'étalonnage (Tableau 3), réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf 1 mg/1ml d'eau distillée.

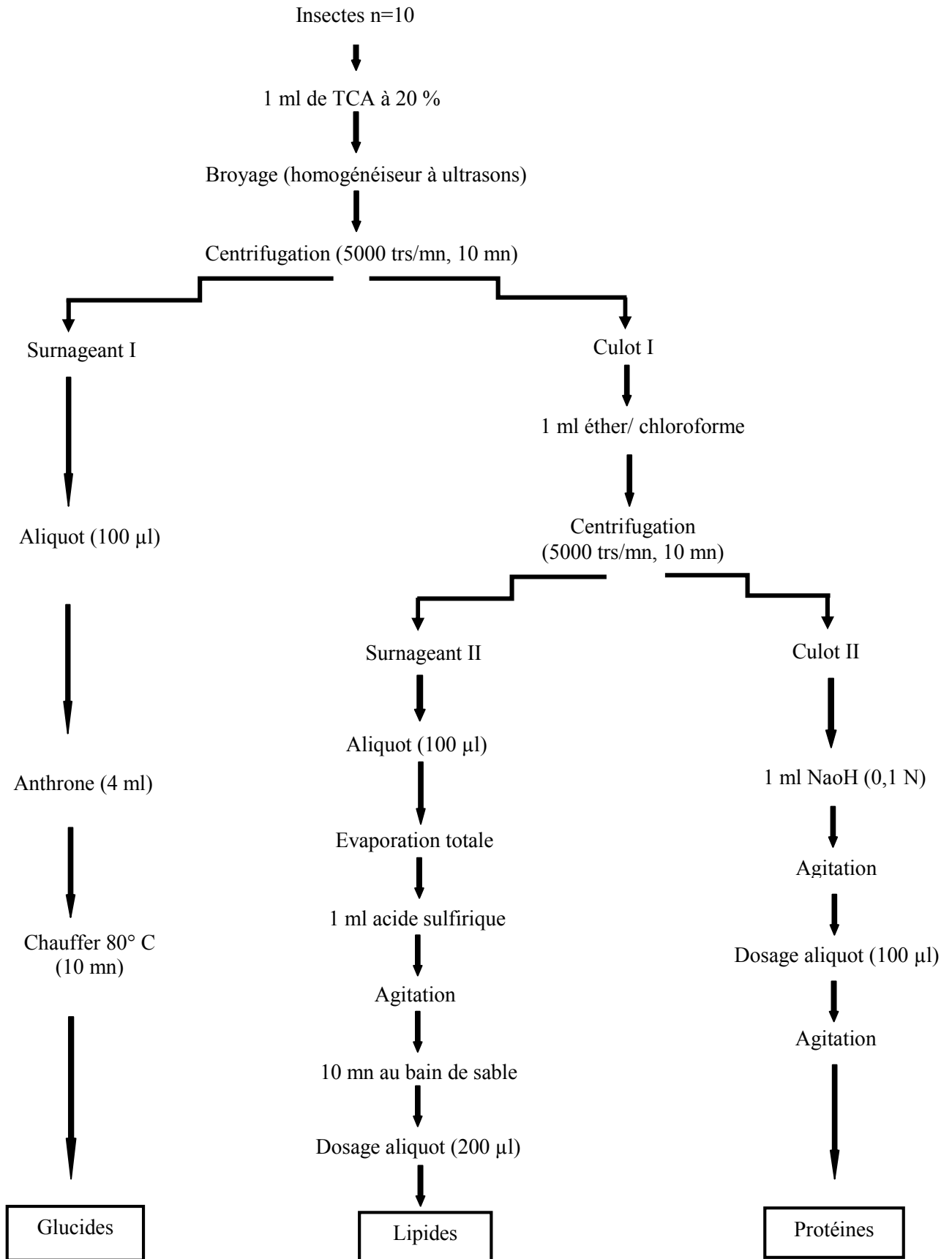
**Tableau 3.** Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

Les principales étapes de dosage sont résumées dans la figure 8. La quantité des métabolites a été déterminée par la régression linéaire grâce à une courbe d'étalonnage dont l'équation ( $y = a x + b$ ) exprime l'absorbance (ou densités optiques, DO) en fonction de la quantité du standard utilisé selon la formule suivante:

$$\text{Quantité (glucides, lipides ou protéines)} = \frac{Do - b}{a} \times 10 / \text{poids (mg)}.$$

## Matériels et méthodes



**Figure 8:** Extraction des glucides, lipides et protéines totaux selon Shibko *et al.*, (1966).

### 6. Effet du halofenozide, RH-0345 sur le potentiel de reproduction de *Culex pipiens*:

Le RH-0345 est un agoniste de la 20 E (l'hormone de mue), ce dernier régule plusieurs processus avec la JH, notamment la reproduction. Le but de cet expérience est d'évaluer l'effet de RH-0345 sur quelques paramètres de la reproduction des adultes après traitement aux concentrations létales  $CL_{50} = 12,58 \mu\text{g/l}$  et  $CL_{90} = 28,58 \mu\text{g/l}$  (Boudjelida *et al.*, 2005), des larves nouvellement exuviées et des nymphes âgées de 1j. L'expérience a été menée sur des séries de répétitions, dont chaque série est formée d'un nombre égal de mâles et de femelles ( $n = 10$ ) issus des larves L4 et des nymphes traitées. Chaque série, des traités et témoins, est placée dans une cage séparément. La durée de l'étude est considérée pour une période d'un mois. Les nacelles ont été récupérées et le nombre d'œufs pondus a été compté en mettant chaque nacelle sous binoculaire. Le pourcentage d'éclosion (E), la réduction du taux d'éclosion (RE), la fécondité (F) et la réduction de la fécondité (RF) ont été calculés selon Chugh *et al.*, (2011) comme suit:

$$E = \frac{\text{Nombre des oeufs éclos}}{\text{Nombre total des oeufs}} \times 100$$

$$RE = \frac{\text{Nombre des oeufs éclos chez les témoins} - \text{Nombre des oeufs éclos chez les traitées}}{\text{Nombre des oeufs chez les témoins}} \times 100$$

$$F = \frac{\text{Nombre total des oeufs pondus}}{\text{Nombre Total des femelles}}$$

$$RF = \frac{\text{Nbre des oeufs pondus des témoins} - \text{nombre des oeufs pondus des traitées}}{\text{Nombre des oeufs pondus des témoins}} \times 100$$

Dans une autre série, des lots d'œufs nouvellement pondus issus d'élevage (2180 pour la  $CL_{50}$  et 2011 pour la  $CL_{90}$ ), ont été placés dans de l'eau traitée par les deux concentrations létales  $CL_{50} = 12,58 \mu\text{g/l}$  et  $CL_{90} = 28,58 \mu\text{g/l}$  (Boudjelida *et al.*, 2005), jusqu'à l'éclosion. L'effet du RH-0345 sur l'éclosion a été déterminé en utilisant les mêmes formules de Chugh *et al.*, (2011) citée en haut (E, RE).

### 7. Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires:

Les hydrocarbures sont des composants de la cuticule qui subisse une mue régulée par l'hormone de mue (20 E) chez tous les insectes. Cette étude vise à évaluer l'effet du RH-0345 sur le taux de ces composants chez des larves L4 âgées de 1 et 6j de *Culex pipiens* pour savoir

si la réduction de l'épaisseur de la cuticule provoquée par le même produit chez des larves du quatrième stade du même espèce (Boudjelida *et al.*, 2005) à une relation avec une réduction quantitative ou qualitative de ces composants.

**7.1. Technique d'extraction:** L'extraction des HCs a été menée sur des larves individuelles dans un 1 ml d'hexane distillé contenant 10 µg d'octadecan (C18) en tant que standard interne pendant 5 mn à la température ambiante. Puis, les larves ont été enlevées et les extraits sont maintenus à -20°C jusqu'à la phase d'analyse.

**7.2. Analyse des extraits par chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse (CPG/SM):**

Pour l'analyse quantitative, des différents composés retenus, le chromatographe utilisé est un Varian CP 9000 équipé d'une colonne capillaire en silice fondue de type apolaire (CP Sil 5CB, 30 m x 0,25 mm de diamètre interne, épaisseur du film 0,22 µm, Varian), d'un injecteur de type split-splitless (fuite de 25 ml/mn pendant 30 sec), et d'un détecteur à ionisation de flamme. Le gaz vecteur est l'hélium. La programmation de température utilisée est la suivante: 140°C pendant 2 min, puis 5°C/min jusqu'à 300°C. Les températures de l'injecteur et du détecteur sont respectivement de 280 et de 290°C.

Le signal obtenu est enregistré sur PC, sous windows, et analysé grâce au programme Maestro (Chrompack). La concentration des différents composés quantifiés est calculée en fonction du facteur de réponse de chacun d'eux après injection d'un mélange de référence (composés de synthèse).

Pour l'identification de la nature chimique des différents composés, un microlitre de chaque échantillon est injecté dans un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse (Shimadzu 2010), équipé du même type de colonne que ci-dessus. La programmation de température utilisée est également identique à celle utilisée précédemment.

L'intégration des différents pics est réalisée automatiquement et la nature chimique des différents composés a été déterminée par comparaison avec les spectres de masse contenus dans la banque de données de l'appareil (NIST/EPA/NIH, Shimadzu).



# RESULTATS

## Résultats

### III. RESULTATS:

#### 1. Toxicité du RH-0345 sur le stade nymphal de *Culex pipiens*:

L'étude toxicologique est portée sur le traitement des nymphes de *Culex pipiens* âgées de 1 jour aux différentes concentrations (8, 12, 16, 26 et 40 µg /l) avec un analogue de l'hormone de mue, l'halofénozide (RH-0345). Les présentes concentrations du RH-0345 utilisées ont fait l'objet de travaux antérieurs destinés à évaluer son effet sur les différents stades larvaires (L1-L4) de la même espèce de moustique, *Culex pipiens* (Boudjelida, 2006).

Les résultats obtenus, suite au traitement, sont présentés par la moyenne ( $m \pm SE$ ) de la mortalité exprimée en pourcentage. D'après le tableau 4, aucune mortalité observée (%) a été enregistrée pour les différentes concentrations. Dans une autre série d'expérience, les concentrations ont été augmentées jusqu'à l'ordre de 150 µg/l (50, 75, 100 et 150 µg /l). Les résultats révèlent toujours aucun effet toxique du halofénozide (RH-0345) sur le stade nymphal de *Culex pipiens* (Tableau 5).

**Tableau 4:** Mortalité observée (%) des nymphes âgées de 1j chez *Culex pipiens*, après traitement avec du halofénozide, RH-0345 aux différentes concentrations. ( $m \pm SE$ ; n= 75).

Concentrations Répétitions	Témoin	8 µg / l	12 µg / l	16 µg / l	26 µg / l	40 µg / l
R1	0	0	0	0	4	0
R2	4	0	4	0	0	0
R3	0	0	0	0	0	0
m ± SE	1,33 ± 2,30	0,0 ± 0,0	1,33 ± 2,30	0,0 ± 0,0	1,33 ± 2,30	0,0 ± 0,0

## Résultats

**Tableau 5:** Mortalité observée (%) des nymphes âgées de 1j chez *Culex pipiens*, après traitement avec du halofénozide, RH-0345 aux différentes concentrations. ( $m \pm SE$ ;  $n= 75$ ).

Concentrations Répétitions	Témoin	50 $\mu\text{g} / \text{l}$	75 $\mu\text{g} / \text{l}$	100 $\mu\text{g} / \text{l}$	150 $\mu\text{g} / \text{l}$
R1	0	0	0	0	4
R2	4	0	4	0	0
R3	0	0	4	0	0
$m \pm SE$	$1,33 \pm 2,30$	$0,0 \pm 0,0$	$2,66 \pm 2,30$	$0,0 \pm 0,0$	$1,33 \pm 2,30$

### 2. Effet du RH-0345 sur la durée du développement et la morphologie de *Culex pipiens*:

L'effet de l'analogue de l'hormone de mue, le RH-0345 est testée sur la durée de développement des larves du 4<sup>ème</sup> stade et des nymphes de l'espèce de moustique, *Cx. pipiens*. Les deux concentrations létales du RH-0345;  $CL_{50}=12,58 \mu\text{g/l}$  et  $CL_{90}=28,58 \mu\text{g/l}$  ont été appliquées sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées et des nymphes âgées de 1j de *Cx. pipiens*. La durée de stade larvaire est estimée du 1<sup>er</sup> jour de l'exuviation jusqu'à la mue nymphale et la durée nymphale est évaluée du premier jour de la nymphose jusqu'à l'émergence des adultes. Les résultats obtenus présentés dans le tableau 6 révèlent une diminution très significative ( $p = 0,004$ ) de la durée de développement du stade larvaire L4 suite au traitement avec la  $CL_{50}=12,58 \mu\text{g/l}$  qui est définie de 6,66 jours et 7 jours chez les témoins. Le traitement des larves au  $CL_{90}=28,58 \mu\text{g/l}$  a induit une réduction hautement significative ( $p = 0,001$ ) de la durée de développement, qui a été de 6 jours et 7 jours pour le témoin. L'action différée du RH-0345 sur le stade nymphal ne présente aucun effet significatif ( $p = 0,580$ ). Les résultats de traitement des nymphes, présentés dans le tableau 7 montrent que ce régulateur de croissance n'a aucun effet ( $p = 0,660$ ) sur la durée du stade traité (effet directe). Par contre une diminution significative ( $p = 0,042$ ) de la longévité des adultes issus des larves L4 traitées par la concentration la plus élevée ( $CL_{90}$ ) a été constatée par rapport aux témoins, contrairement à la  $CL_{50}$ , qui présente aucun effet significatif ( $p = 0,831$ ) (tableau 6).

## Résultats

**Tableau 6:** Durée (j) des stades de développement (larvaire, nymphal et adulte), après traitement avec le RH-0345 aux concentrations létales (CL<sub>50</sub>; CL<sub>90</sub>) des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens*. (n = 75).

Concentrations	Durée de développement		Longévité des adultes
	Stade larvaire L4	Stade nymphal	
Témoin	7,5 ± 0,52	3,4 ± 0,51	40,1 ± 5,17
CL <sub>50</sub> =12,58 µg/l	6,66 ± 0,69 **	3,4 ± 0,51	39,6 ± 5,14
CL <sub>90</sub> = 28,58 µg/l	6,00 ± 1,05 ***	3,33 ± 0,5	35,0 ± 5,27 *

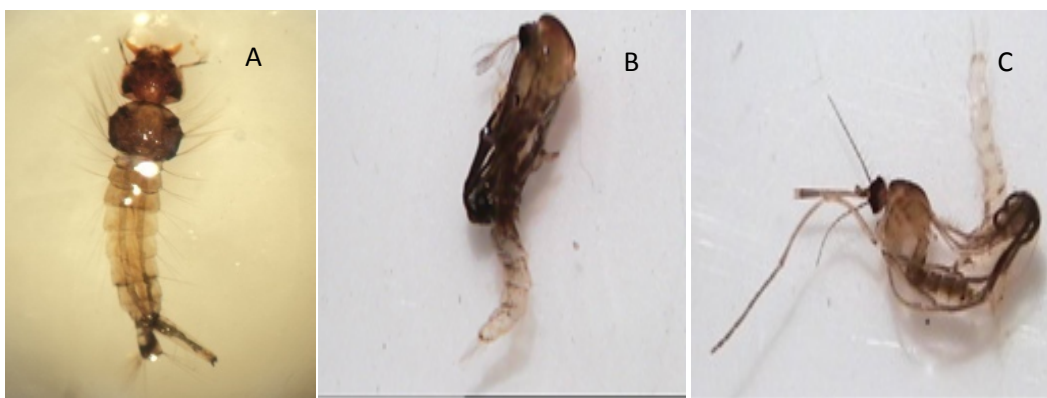
\*\* = p<0,01; \*\*\* = p<0,001

**Tableau 7:** Durée (j) des stades de développement (nymphal et adulte), après traitement avec le RH-0345 aux concentrations létales (CL<sub>50</sub>; CL<sub>90</sub>), des nymphes âgées de 1j de *Culex pipiens*. (n = 75).

Concentrations	Durée du stade nymphal	Longévité des adultes
Témoin	3,4 ± 0,51	40,1 ± 5,17
CL <sub>50</sub> =12,58 µg/l	3,2 ± 0,42	40,6 ± 4,55
CL <sub>90</sub> = 28,58 µg/l	3,3 ± 0,48	35,5 ± 6,85

La mortalité enregistrée suite au traitement a été suivie par une observation microscopique, afin de déterminer les raisons et les aspects morphologiques liés à la mort de l'espèce. Les observations ont montrés que le RH-0345 entraine une perturbation du développement avec l'apparition de différents aspects morphologiques représentés dans la figure 9. Une malformation est formée au niveau, du thorax, présentée par un thorax gonflé et doublé, qui donne l'impression de 2 têtes (dédoublément de la tête) (figure 9: A). La plupart des adultes morts suite à une exuviation incomplète; soit par un blocage total dans la cuticule nymphale (figure 9: B) soit par une exuviation partielle limitée à la partie antérieure, où la partie postérieure reste bloquée dans la cuticule nymphale (figure 9: C).

## Résultats



**Figure 9:** Aspects morphologiques induits par le traitement des larves L4 de *Culex pipiens* avec le RH-0345 (A: gonflement du thorax; B: inhibition de l'exuviation nympho-adulte; C: exuviation partielle limitée à la partie antérieure).

### 3. Effet du RH-345 sur les métabolites des larves de *Culex pipiens*:

Dans une autre série d'expérience, l'effet du Rh-0345 avec les concentrations létales  $CL_{50}=12,58 \mu\text{g/l}$  et  $CL_{90}=28,58 \mu\text{g/l}$  a été évalué sur les métabolites des larves du 4<sup>e</sup> stade de *Culex pipiens*.

#### 3.1. Poids corporel des larves L4:

Le dosage biochimique des larves traitées aux concentrations létales a été initié par le poids corporel des larves du quatrième stade de *Culex pipiens* à différents âges (1, 2, 4 et 6j). Après 2 jours du traitement, les résultats (Tableau 8) montrent que le RH-0345 a réduit significativement ( $p = 0,045$ ) le poids des larves avec la concentration létale  $CL = 12,58 \mu\text{g/l}$  et hautement significative ( $p = 0,003$ ) avec la  $CL = 28,58 \mu\text{g/l}$ . La diminution du poids est fortement liée à l'augmentation de la concentration ( $CL$  et  $CL$ ) et la durée du stade (4 et 6j) (Tableau 8). Le poids des larves, chez la série des témoins augmente en fonction d'âge (de 1 à 6j) avec des valeurs qui se varient de 2,10 au 4,30 mg/ larve, par contre le poids chez les traitées n'a pas dépassé 3,59 et 3,05 mg/ larve après traitement par la  $CL$  et la  $CL$  respectivement.

## Résultats

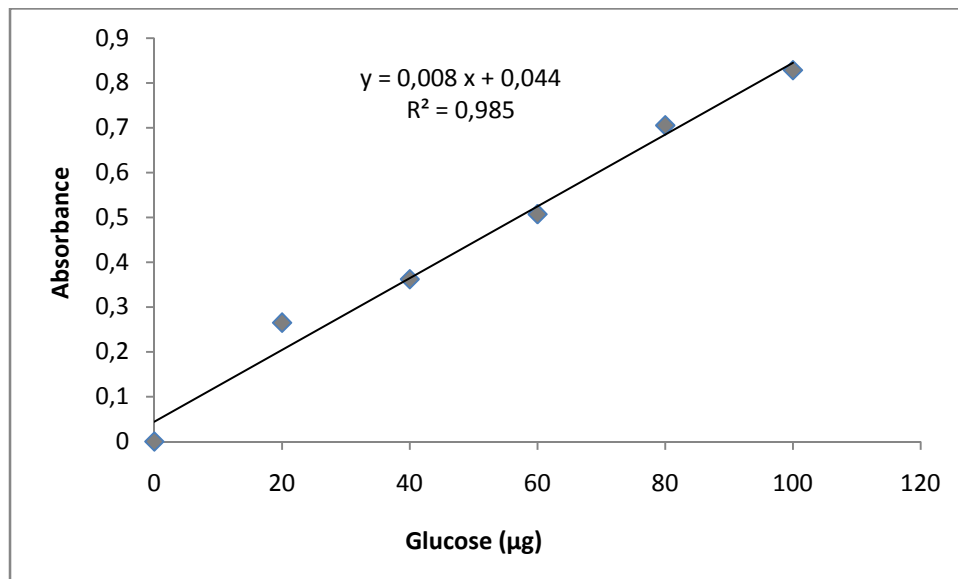
**Tableau 8:** Effet du RH-0345 (CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>) sur le poids corporel des larves L4 âgées de 1, 2, 4 et 6j (mg/ larve).

Age (j)	Poids corporel (mg/ larve)		
	Témoin	CL <sub>50</sub> = 12,58 µg/l	CL <sub>90</sub> = 28,58 µg/l
1	2,10 ± 0,07	2,12 ± 0,05	2,09 ± 0,06
2	2,95 ± 0,07	2,62 ± 0,04 *	2,46 ± 1,06 **
4	3,97 ± 1,00	3,14 ± 0,05 ***	2,80 ± 0,07 ***
6	4,30 ± 0,03	3,59 ± 0,02 ***	3,05 ± 0,03 ***

\* = p < 0,05; \*\* = p < 0,01; \*\*\* = p < 0,001

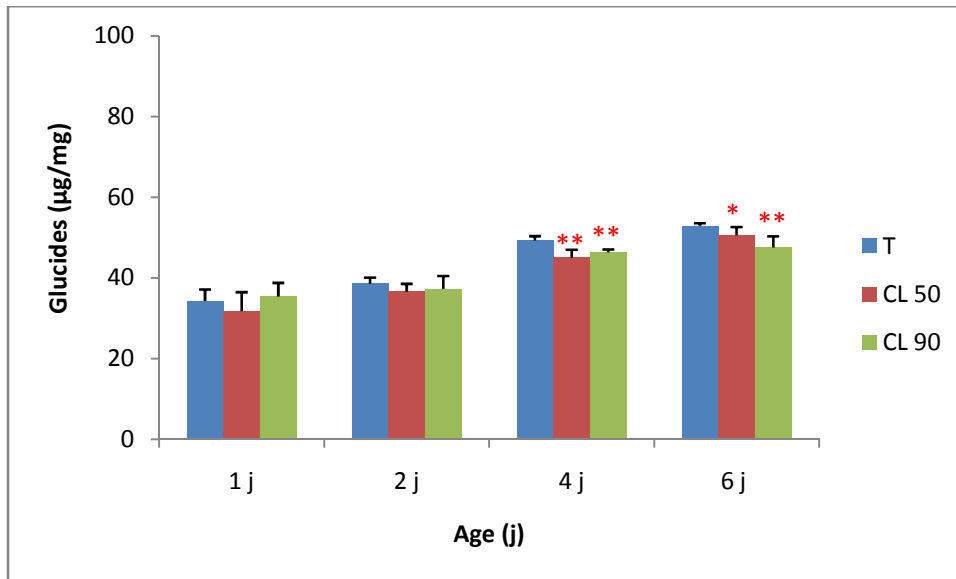
### 3.2. Quantité de glucides des larves L4:

La quantité des glucides des larves a été calculée à partir de la droite de régression de la gamme d'étalonnage en utilisant le glucose comme standard (Figure 10). Les résultats du dosage biochimique montrent que la quantité des glucides chez la série témoin augmente en fonction de l'âge (Figure 11). La quantité des glucides qui a été de (34,26 µg/mg) durant le 1 jour augmente à (52,94 µg/mg) pour l'âge de 6 jours. Le traitement, par les concentrations létales, CL<sub>50</sub> = 12,58 µg/l et CL<sub>90</sub> = 28,58 µg/l perturbe significativement cette quantité où la valeur des glucides atteint uniquement la valeur de (50,57 et 47,51 µg/mg) pour le 6 jour respectivement. Les analyses statistiques de ces résultats révèlent aucun effet significatif (p = 0,112), 2j après traitement. Par contre une diminution très significative (P = 0,002) est enregistrée pour les durées de 4 et 6j des larves L4 sous l'effet du RH-0345.



**Figure 10:** Dosage des glucides totaux des larves L4 de *Culex pipiens*: courbe de référence

## Résultats



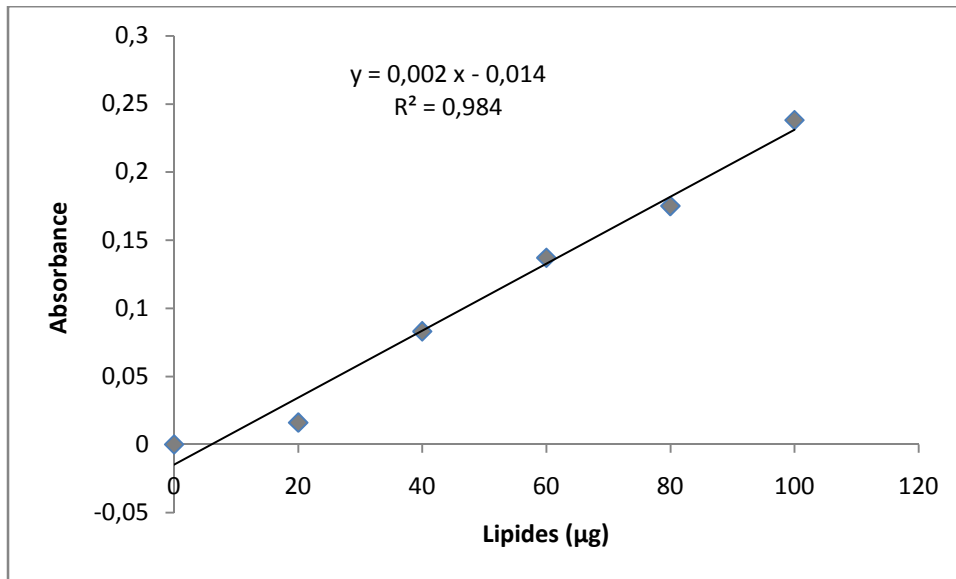
**Figure 11:** Effet du RH-345 ( $CL_{50}=12,58 \mu\text{g/l}$  et  $CL_{90}=28,58 \mu\text{g/l}$ ) sur la quantité des glucides ( $\mu\text{g/mg}$  poids corporel) des larves L4 de *Culex pipiens* ( $m \pm SE$ ,  $n = 10$ ).

\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$

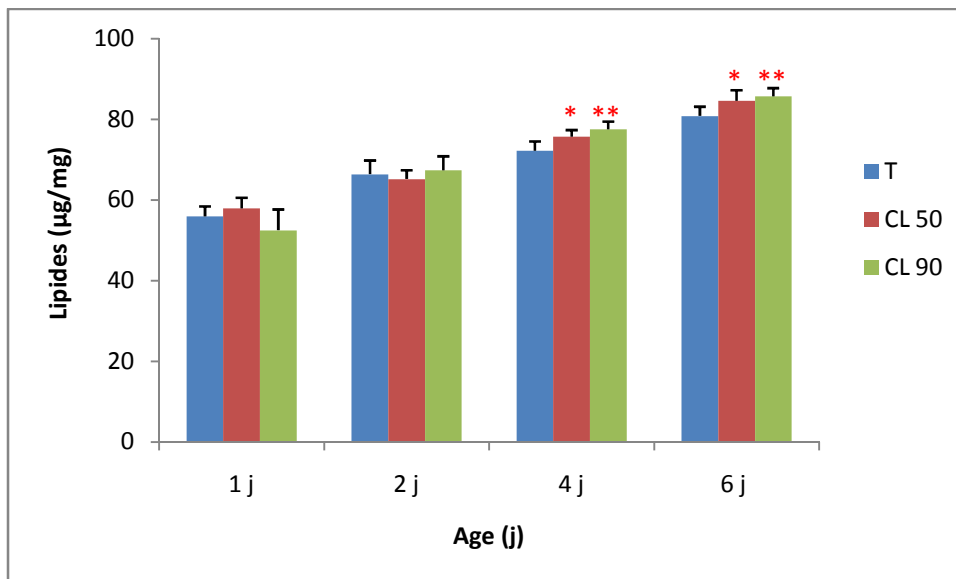
### 3.3. Quantité de lipides des larves L4:

La gamme d'étalonnage exprimée par l'absorbance en fonction de la quantité (Figure 12) a permis de calculer les quantités de lipides des larves L4 de *Cx. pipiens* des séries témoins et traitées. Chez les témoins, une augmentation de la quantité de lipides en fonction d'âge a été observée et atteint la valeur maximale au 6<sup>ème</sup> jour de  $80,82 \mu\text{g} / \text{mg}$ . L'analyse biochimique des lipides des larves L4 traitées au halofénozide, le RH-0345 avec les concentrations létales révèle une augmentation de la quantité de lipides pour les périodes de 4 et 6 jours avec une valeur de ( $75,68$  et  $84,58 \mu\text{g} / \text{mg}$ ) pour la  $CL_{50}=12,58 \mu\text{g/l}$  et ( $77,51$  et  $85,68 \mu\text{g} / \text{mg}$ ) pour la  $CL_{90}=28,58 \mu\text{g/l}$  respectivement. Les résultats obtenus du traitement des larves avec la  $CL_{50}$  (Figure 13) montrent une augmentation significative pour les périodes de 4 et 6 jours avec  $p = 0,042$  et  $p = 0,004$  respectivement. Le même effet est enregistré avec la  $CL_{90}$  pour les deux périodes; 4 et 6 jours où  $p = 0,004$  (Figure 13).

## Résultats



**Figure 12:** Dosage des lipides totaux des larves L4 de *Culex pipiens*: courbe de référence



**Figure 13:** Effet du RH-345 (CL =12,58 µg/l et CL =28,58 µg/l) sur le contenu en lipides (µg/mg poids corporel) des larves L4 de *Culex pipiens* (m ± SE, n = 10).  
\* = p < 0,05; \*\* = p < 0,01.

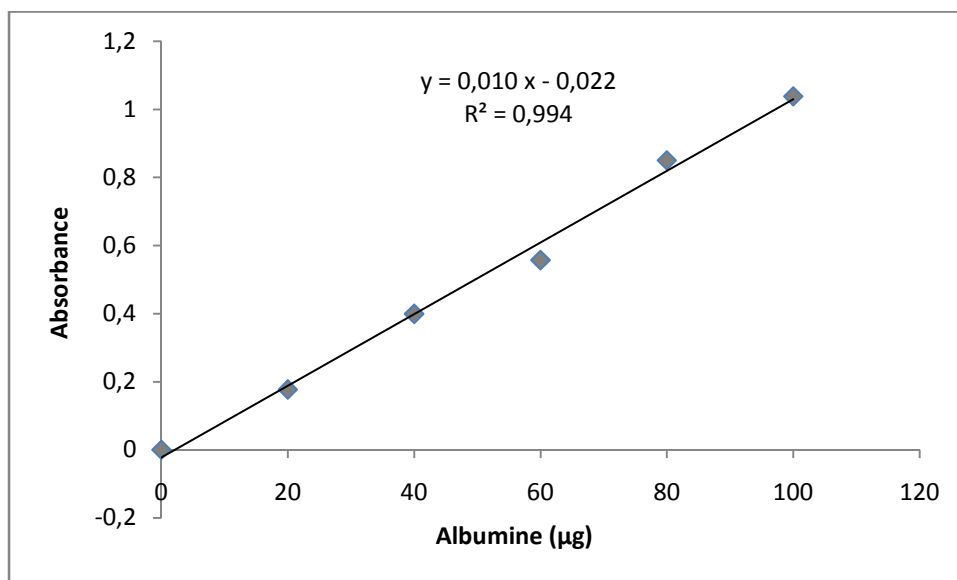
### 3.4. Quantité de protéines des larves L4:

Les résultats de dosage biochimique des protéines, déterminés à partir d'une gamme d'étalonnage représentée par la figure 14, montrent que la quantité de protéines chez les séries témoins, des larves L4 de *Cx. pipiens*, augmente de 1 à 4 jours où se produit un pic qui est de l'ordre de  $69,46 \pm 01,80$  µg/ mg; une diminution a lieu ensuite à 6 jours (Figure 15). Le traitement avec le RH-0345 a induit une diminution de la quantité de protéines par rapport

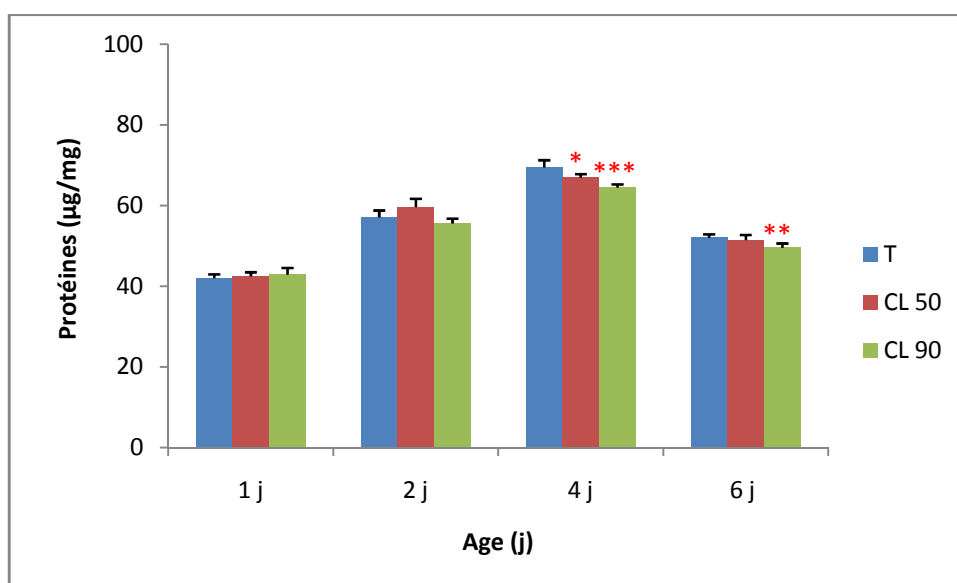


## Résultats

aux témoins. Cependant, la quantité de protéines n'a pas été perturbée après traitement des larves L4 âgées de 1, 2 jours. La diminution significative ( $p=0,004$ ) après traitement des larves L4 par les concentrations létales est enregistrée à 4 jours. Par ailleurs, le traitement après 6 jours a induit une réduction des protéines qui est significative uniquement avec la CL .



**Figure 14:** Dosage des protéines totales des larves L4 de *Culex pipiens*: courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (µg).



**Figure 15:** Effet du RH-345 ( $CL_{50}=12,58 \mu\text{g/l}$  et  $CL_{90}=28,58 \mu\text{g/l}$ ) sur le contenu en protéines ( $\mu\text{g/mg}$  poids corporel) des larves L4 de *Culex pipiens* ( $m \pm SE$ ,  $n = 10$ ).

\* =  $p < 0,05$ ; \*\* =  $p < 0,01$ ; \*\*\* =  $p < 0,001$ .

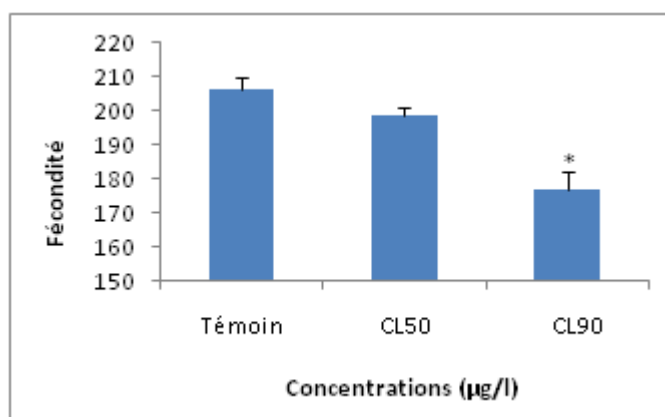
## Résultats

### 4. Effet de RH0-345 sur le potentiel de reproduction de *Culex pipiens*:

Le contrôle de la reproduction; le processus de pullulation des moustiques en particulier et les insectes en général, est un élément fondamental pour minimiser leur propagation et leurs dégâts. Le RH-0345 a été testé à l'égard des larves L4 nouvellement exuviées, des nymphes âgées de 1j et des œufs nouvellement pondus à deux concentrations létales;  $CL_{50} = 12,58 \mu\text{g/l}$  et  $CL_{90} = 28,58 \mu\text{g/l}$ , pour évaluer l'effet sur la reproduction: nombre des œufs pondus, nombre des œufs éclos, pourcentage d'éclosion et la fécondité des adultes femelles issues des stades traités (larves L4 et nymphes).

#### 4.1. Traitement des larves L4 de *Culex pipiens*:

Les résultats obtenus de traitement des larves avec les concentrations létales du RH-0345 ( $CL_{50} = 12,58 \mu\text{g/l}$  et  $CL_{90} = 28,58 \mu\text{g/l}$ ) révèlent que la fécondité (exprimée par le nombre des œufs pondus / femelle), présentée dans la figure 16 a été diminuée significativement sous l'effet du traitement par les 2 concentrations. Le calcul du pourcentage de la réduction (Tableau 9) mis en évidence une chute de 3 % pour la série traitée avec la  $CL_{50}$  et de 14 % pour la série traitée avec la  $CL_{90}$ . Les résultats obtenus des traitements des larves L4 sont présentés dans le tableau 9. Ils montrent une diminution du nombre des œufs pondus qui est estimé de 2065 œufs chez les témoins et de 1987 et 1738 œufs pour les  $CL_{50}$  et  $CL_{90}$  respectivement. La même réduction est observée aussi durant l'éclosion. Le pourcentage d'éclosion des séries traitées a été réduit significativement ( $p = 0,001$ ) pour les 2 concentrations avec un taux de 6 % et 23% chez les série traitées avec la  $CL_{50}$  et la  $CL_{90}$  respectivement.



**Figure 16:** Effet du RH-0345 sur la fécondité (nombre des œufs pondus / femelle) de *Culex pipiens* après traitement des larves (n= 10 femelles; durée = 30j). \* =  $p < 0,05$ .

## Résultats

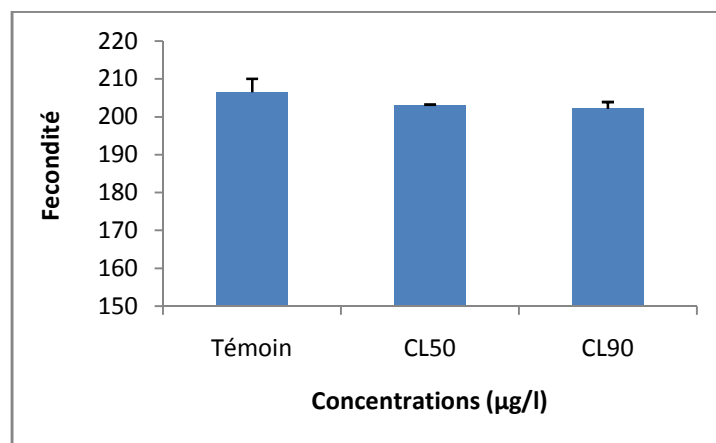
**Tableau 9:** Effet du RH-0345 sur le potentiel reproducteur des adultes femelles de *Culex pipiens* après traitement des larves L4 (n= 10 femelles, durée = 30j).

Concentrations	Nombre des œufs pondus	Réduction de fécondité (%)	% d'éclosion	Réduction d'éclosion (%)
Témoin	2065	/	96,10 ± 1,34	/
CL <sub>50</sub> =12,58 µg/l	1987	3,76 ± 1,57	92,74 ± 2,22 ***	6,84 ± 0,38
CL <sub>90</sub> = 28,58 µg/l	1738	14,38 ± 1,13	85,03 ± 2,27 ***	23,56 ± 0,51

\*\*\* = p<0,001.

### 4.2. Traitement des nymphes de *Culex pipiens*:

Les résultats du potentiel de reproduction obtenus de traitement des nymphes avec les mêmes concentrations létales du RH-0345 (CL = 12,58 µg/l et CL = 28,58 µg/l) sont représentés dans le tableau 10. Le nombre d'œufs des séries traitées est de 2043 et de 2011 œufs pour les CL et CL respectivement. L'analyse statistique de ces résultats révèle aucune différence significative (p = 0,166) entre témoin et traités. La fécondité des séries témoins et traitées aussi ne montre aucune différence (Figure 17). Le pourcentage d'éclosion estimé des œufs pondus ne présente aucun changement entre la série des témoins et les séries des traitées. (Tableau 10).



**Figure 17:** Effet du RH-0345 sur la fécondité (nombre des œufs pondus / femelle) de *Culex*

## Résultats

**Tableau 10:** Effet du RH-0345 sur le potentiel reproducteur des adultes femelles de *Culex pipiens* après traitement des nymphes (n= 10 femelles, durée = 30j).

Concentrations	Nombre des œufs pondus	Réduction de fécondité (%)	% d'éclosion	Réduction d'éclosion (%)
Témoin	2065	/	96,10 ± 1,34	/
CL <sub>50</sub> = 12,58 µg/l	2043	1,72 ± 0,47	96,77 ± 0,88	1,04 ± 0,77
CL <sub>90</sub> = 28,58 µg/l	2011	2,11 ± 0,78	96,81 ± 0,77	1,35 ± 0,48

### 4.3. Traitement des œufs de *Culex pipiens*:

Les résultats du traitement des œufs nouvellement pondus issues des femelles non traitées, avec les concentrations létales (CL<sub>50</sub> = 12,58 µg/l et CL<sub>90</sub> = 28,58 µg/l), montrent que le RH-0345 a réduit significativement le pourcentage d'éclosion des œufs (p = 0,002) après traitement par la CL<sub>90</sub>, avec une réduction de plus de 4 %. Cependant, aucun effet a été enregistré (p = 0,508) après traitement par la CL<sub>50</sub> (Tableau 11).

**Tableau 11:** Effet du RH-0345 sur les œufs de *Culex pipiens* traités avec les CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>.

Concentrations	Nombre des œufs	% d'éclosion	Réduction d'éclosion
Témoin	2065	96,10 ± 1,34	/
CL <sub>50</sub> = 12,58 µg/l	2180	95,78 ± 0,71	1,85 ± 0,07
CL <sub>90</sub> = 28,58 µg/l	2011	94,11 ± 1,36 *	4,12 ± 0,34

\* = p<0,05.

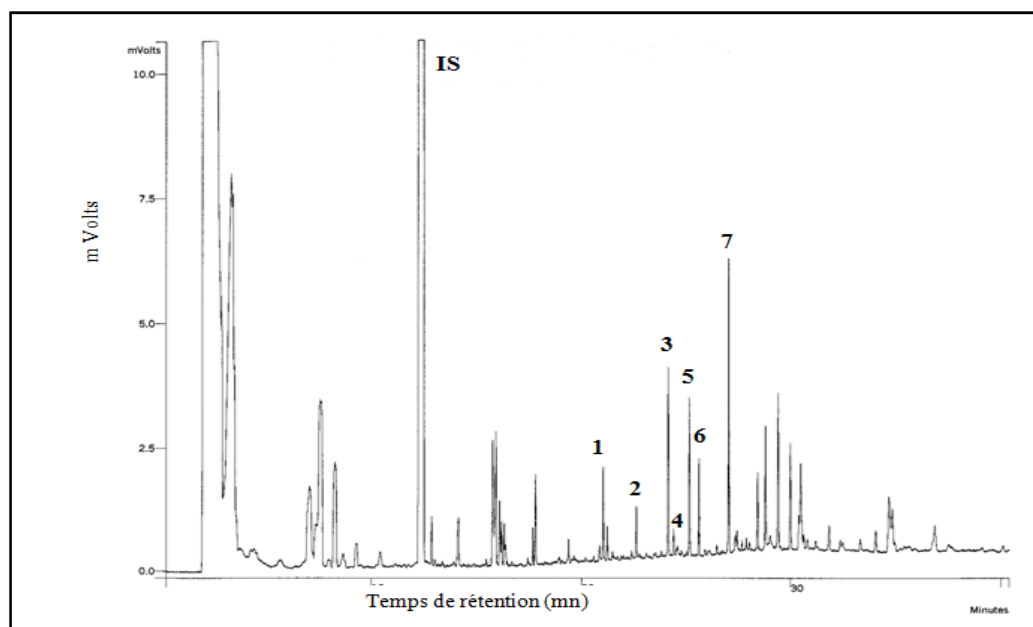
### 5. Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires des larves L4 de *Cx. pipiens*:

La dernière série d'expérience vise à caractériser les hydrocarbures cuticulaires des larves L4 (témoins et traitées) âgées de 1 et 6j de moustique *Cx. pipiens* et l'évaluation des perturbations engendrées par le RH-0345 sur la qualité et les quantités des hydrocarbures cuticulaires, en fonction d'âge et concentration.

L'analyse chimique des hydrocarbures cuticulaires des larves du quatrième stade de *Cx. pipiens* a été effectuée à 1 et 6 jours suivant le traitement avec les deux concentrations létales CL<sub>50</sub> (12,58 µg/l) et CL<sub>90</sub> (28,58 µg/l) de l'analogue de l'hormone de mue, le RH-0345. Les résultats de CPG-SM (chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse)

## Résultats

ont indiqué que ces produits chimiques sont principalement de type n-alkanes, 7 hydrocarbures majeurs ont été détectés (Figure 18) qui sont constitués de 23 à 29 carbones correspondants aux; Tricosane, Tetracosane, Pentacosane, Hexacosane, Heptacosane, Octacosane et Nonacosane respectivement (tableau 14).



**Figure 18:** Profil des hydrocarbures cuticulaires des larves L4 de *Culex pipiens* (7 pics

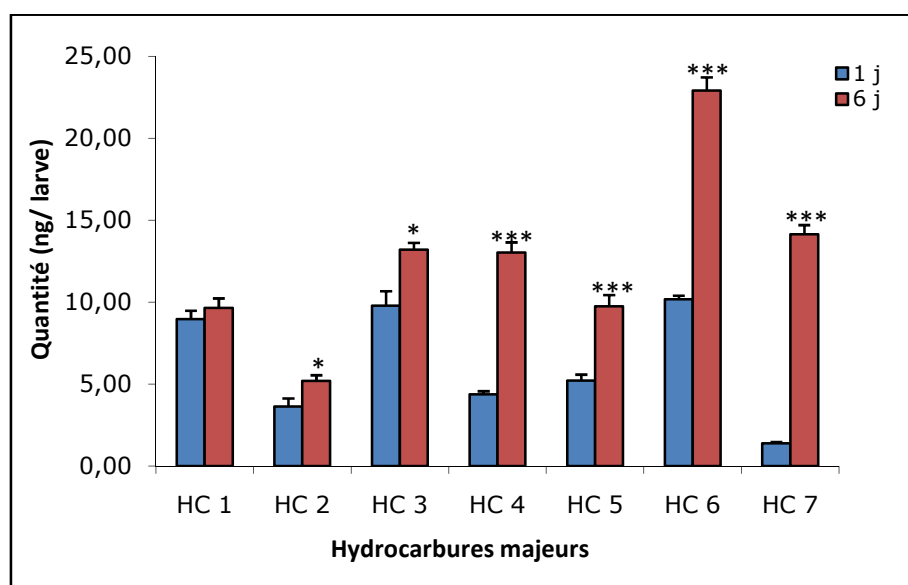
**Tableau 12:** Analyse des hydrocarbures cuticulaires des larves L4 témoins et traitées (CL et CL ) âgées d'1 j de *Culex pipiens* (ng) (n = 5; m ± s; TR: Temps de Rétention (mn)).

N° pic	n-alkane	TR (mn)	HCCs Quantité (ng/larve) =1 j			HCCs Quantité (ng/larve) =6 j		
			Témoin	CL50	CL90	Témoin	CL50	CL90
1	C23 Tricosane	21,04	<b>8,9 ± 0,52</b>	1,7 ± 0,28	2,2 ± 0,63	9,6 ± 0,60	9,5 ± 0,69	3,2 ± 0,73
2	C24 Tetracosane	22,62	3,6 ± 0,49	1,5 ± 0,35	1,4 ± 0,15	5,2 ± 0,34	5,4 ± 0,89	2,4 ± 0,26
3	C25 Pentacosane	24,15	<b>9,7 ± 0,89</b>	1,5 ± 0,21	1,8 ± 0,15	13,2 ± 0,42	8,1 ± 0,76	4,4 ± 0,23
4	C26 Hexacosane	25,16	4,3 ± 0,19	1,4 ± 0,15	2,0 ± 0,35	13,0 ± 0,63	12,4 ± 0,86	10,3 ± 0,78
5	C27 Heptacosane	25,63	5,2 ± 0,37	2,0 ± 0,65	1,7 ± 0,29	9,7 ± 0,70	8,9 ± 0,41	4,0 ± 0,54
6	C28 Octacosane	26,06	<b>10,1 ± 0,23</b>	2,7 ± 0,33	3,7 ± 0,35	<b>22,9 ± 0,82</b>	10,0 ± 0,44	7,0 ± 0,48
7	C29 Nonacosane	27,24	1,3 ± 0,08	1,6 ± 0,33	2,1 ± 0,36	<b>14,1 ± 0,57</b>	3,9 ± 0,73	2,5 ± 0,22

## Résultats

Un certain nombre d'hydrocarbures ont été identifiés et plusieurs autres composés ont été partiellement caractérisés. Aucune différence qualitative n'a été trouvée entre les séries traitées et les séries de témoin. L'analyse chimique a également indiqué que le traitement avec l'halofénoside a entraîné une diminution significative des quantités des hydrocarbures cuticulaires des larves, en fonction de la concentration utilisée (diminution plus remarquable avec la CL<sub>50</sub>), tandis que l'analyse quantitative des extraits (figure 19) a montré une augmentation significative ( $P < 0,05$ ) de la concentration de chaque hydrocarbure du 1<sup>er</sup> jour au 6<sup>ème</sup> jour pour la série de témoin.

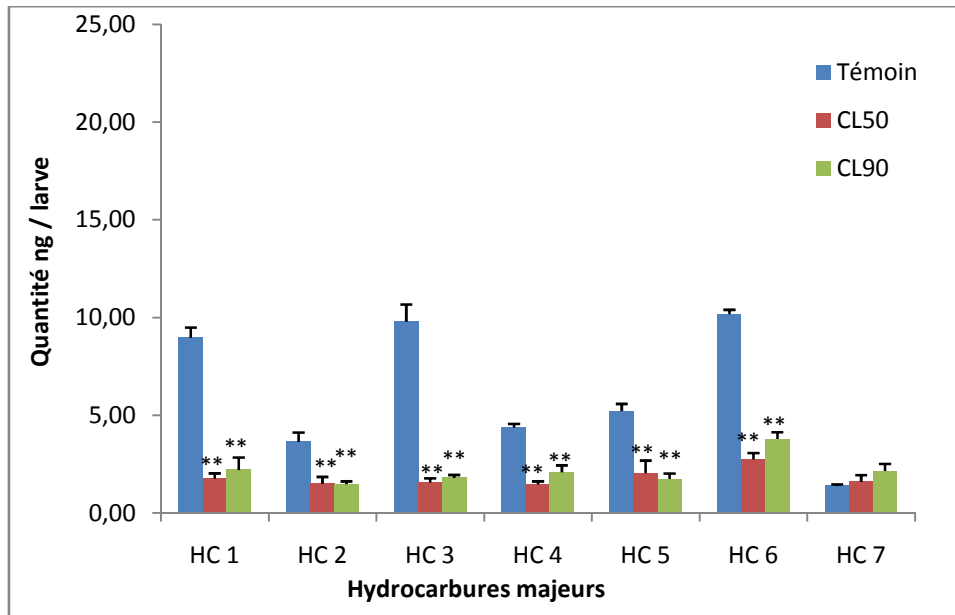
La réduction de la quantité des hydrocarbures cuticulaires majeurs après traitement avec le RH-0345 est représentée par la diminution d'octacosane, pentacosane et tricosane au 1<sup>er</sup> jour et l'octacosane et le nonacosane au 6<sup>ème</sup> jour qui sont les pics qui présentent les valeurs maximales par rapport aux autres pics. La quantité d'octacosane a été de 10,1 et 22,9 ng/ larve chez les larves témoins âgées de 1 et 6j qui a été diminuée après traitement par la CL<sub>50</sub> au 2,7 et 10,0 ng/ larve et la CL<sub>90</sub> au 3,7 et 7,0 ng/ larve respectivement (Tableau 14).



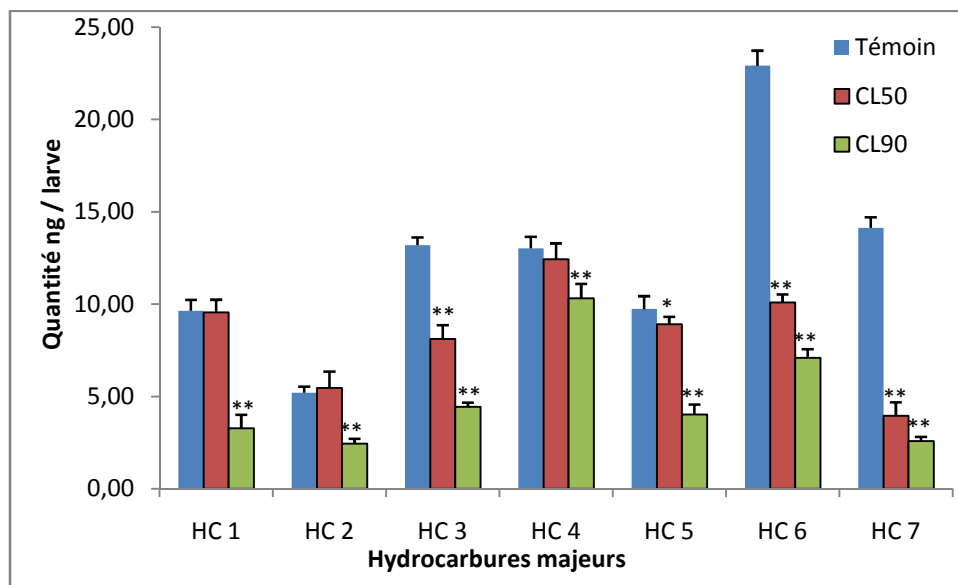
**Figure 19:** Chromatogramme des hydrocarbures cuticulaires des larves témoins âgées de 1 et

Les résultats quantitatifs des larves traitées en utilisant les deux concentrations CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> du halofénoside ont montré une diminution significative ( $P < 0,05$ ) des concentrations d'hydrocarbures pour les deux âges comparés aux témoins (figures 20, 21). Également une diminution hautement significative ( $P < 0,001$ ) de la quantité d'hydrocarbures cuticulaires des larves traitées avec la CL<sub>50</sub> comparé à celui des traitées avec la CL<sub>90</sub> avec une relation concentration-réponse qui a été noté.

## Résultats



**Figure 20:** Analyse quantitative des hydrocarbures cuticulaires de 2 lots traités au RH-0345 (CL et CL ) des larves L4 de *Culex pipiens*, âgées de 1j comparés à un lot témoin.



**Figure 21:** Analyse quantitative des hydrocarbures cuticulaires de 2 lots traités au RH-0345 (CL et CL ) des larves L4 de *Culex pipiens*, âgées de 6j comparés à un lot témoin.

# DISCUSSION ET CONCLUSION



### IV. DISCUSSION ET CONCLUSION:

Les dérivés appartenant à la classe des régulateurs de croissances des insectes (I.G.Rs) ne sont pas des pesticides neurotoxiques. Leur mode d'action est unique, qui perturbe le processus de mue et du métamorphose en imitant l'hormone juvénile (les agonistes du JH) ou l'ecdysone (les agonistes des ecdystéroïdes) ou en interférant avec la formation de la cuticule (les inhibiteurs de synthèse de la chitine).

Le présent travail consiste à évaluer en première partie, l'effet du RH-0345; un agoniste des ecdystéroïdes, à l'égard des nymphes âgées de 1 jour de *Culex pipiens*, avec des différentes concentrations (8 - 150 µg/l) pendant 24h. Les résultats des essais toxicologiques révèlent que l'halofenozide, RH-0345 ne présente aucun effet toxique sur le stade nymphal de *Cx. pipiens*. Par contre le RH-0345 et les formulations du RH-5992, RH-5849 ont montrés une action insecticide à l'égard des nymphes d'*Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae), après une application topique (Hami *et al.*, 2005). L'effet toxique de RH-0345 a été enregistré sur les différents stades larvaires de *Cx. pipiens* avec un effet dose-réponse et une sensibilité pour le stade le plus jeune (Boudjelida *et al.*, 2005). L'analyse toxicologique du stade L4 a permis d'évaluer les concentrations létales, CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> qui sont à 12,58 et 28,58 µg/l respectivement (Boudjelida, 2006). L'absence d'effet du RH-345 sur les nymphes est due probablement à la rigidité de la cuticule nymphale et que le RH-0345 agit par voie orale chez les larves (par la nutrition) cependant, les nymphes ne se nourrissent pas et utilisent les réserves du stade larvaire. Le RH-0345 réduit également et significativement la durée du stade larvaire L4 de *Cx. pipiens*. Les mêmes résultats ont été mentionnés durant l'utilisation du RH-0345, le RH-5849 et le tebufenozide appliqués sur *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae) (Smaghe *et al.*, 1999), contrairement à l'andalin qui a provoqué l'allongement de la durée de ce stade chez *Culex pipiens* (Rehimi & Soltani, 2002); le lufenuron sur des larves d'*Aedes aegypti* (Salokhe *et al.*, 2010) et le novaluron sur les stades larves de *Culiseta longiareolata* (Bouaziz *et al.*, 2011). Cependant, le RH-0345 n'affecte pas la durée du stade nymphal de *Cx. pipiens* et le même effet est constaté avec l'application de l'alsystin (Rehimi & Soltani, 1999) et l'andalin (Rehimi & Soltani, 2002) sur des nymphes de *Culex pipiens*. Contrairement aux résultats de Lakbar, (2000) avec le RH-0345 et Soltani *et al.*, (1996) avec le triflumuron qui ont provoqué un allongement de la durée du stade nymphal chez *T. molitor* et ceux de Gramdi, (2007), Khebbeb *et al.*, (2008) avec le RH-2485, RH-5992 respectivement. Par contre les travaux de Hami *et al.*, 2005 avec le (RH-

## Discussion

---

5849, RH-5992 et le RH-0345) sur des nymphes d'*Ephestia kuehniella zeller* ont mis en évidence la diminution de la durée de ce stade de développement.

L'observation microscopique des larves traitées avec le RH-0345 présentent des changements morphologiques. Plusieurs aspects ont été observés après traitement des larves; comme gonflement du thorax qui donne l'impression de deux têtes. Généralement ces malformations sont accompagnées par une inhibition de l'exuviation larvaire, nympho-adulte, exuviation partielle de l'adulte limitée à la partie antérieure. Le même traitement provoque aussi l'apparition des anomalies de différents types chez *T. molitor* (Lakbar, 2000), tout comme le RH-5849, RH-5992, RH-0345 et le RH-2485 appliqués sur des nymphes d'*Ephestia kuehniella zeller* (Hami *et al.*, 2004; Gramdi, 2007), le Flucycloxon et triflumuron sur des nymphes de *T. molitor* (Soltani *et al.*, 1993, 1996), le lufenuron sur des larves d'*Aedes aegypti* (Salokhe *et al.*, 2010), le pyriproxifen sur *Plodia interpunctella* (Lipidoptera Pyralidae) (Ghasemi *et al.*, 2010). Les mêmes observations sont enregistrées sur plusieurs familles d'insectes suite à l'application de certains dérivés des IG.Rs (Khalil *et al.*, 2010).

Chez les insectes, le corps gras est l'organe principal responsable du métabolisme énergétique, exécutant une fonction semblable à celle du foie chez les vertébrés. C'est également l'organe de la conversion et de stockage des lipides, des glucides et des protéines (Chapman, 1998; Arrese & Soulages 2010). Chez les moustiques, la synthèse des lipides et des protéines se fait au niveau de cet organe au quatrième stade larvaire (Timmermann & Briegel, 1999). Le taux des glucides et des lipides chez l'adulte est le résultat de l'énergie stockée pendant le stade larvaire (Clements, 1996). Les hormones telles que l'octopamine, l'hormone juvénile III et l'hormone adipokinetic (AKH), sont les facteurs principaux responsables du métabolisme dans le corps gras chez les insectes (Rachinsky *et al.*, 2000; Roeder, 2005; Ament *et al.*, 2008). La dépense énergétique tout en volant, courant, et nageant exige la mobilisation des métabolites chez les insectes, et le stockage et la libération des glucides, lipides, protéines, et acides aminés (Gade, 2004). Le développement des métabolites (lipides, glucides et protéines) et les effets biochimiques des I.G.Rs sur leurs taux chez les moustiques en particulier et les insectes en général ont fait l'objet de plusieurs études notamment chez *Aedes aegypti* (Ziegler & Ibrahim, 2001); *Anopheles gambiae* (Kaufmann & brown, 2008); l'acide mévalonique (anti-JH) et le chlorfluazuron sur *Spodoptera littoralis* (Amer, 1990; Ghoneim, 1994); le novaluron (inhibiteur de la synthèse de chitine) sur *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* (Bouaziz *et al.*, 2011; Djeghader *et al.*, 2013); le buprofezin,

## Discussion

---

l'hexaflumuron, le lufenuron (inhibiteurs de la synthèse de la chitine), le tébufenozide (analogue de la 20-E) et le pyriproxifen (analogue de l'hormone juvénile) sur *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) (Assar *et al.*, 2010); le pyriproxifen, le tébufenozide et le lufenuron sur *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae) (Hamadah *et al.*, 2012); ...

Afin d'expliquer les effets secondaires du RH-0345, sur la physiologie en général de l'insecte, le présent travail est complété par une étude biochimique des métabolites, pour évaluer les perturbations engendrées par le traitement des larves L4 de *Cx. pipiens* aux concentrations létales (CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>) du halofenozide (le RH-0345). Le dosage biochimique des métabolites met en évidence que le RH-0345 réduit le poids corporel des larves L4 de différents âges et perturbe le taux des métabolites par la réduction des glucides et des protéines et l'augmentation des lipides. Le poids des larves L4 témoins de *Cx. pipiens* augmente avec l'âge (de 1 à 6 jours). Cependant, le traitement au RH-0345 a réduit le poids de ces larves de différents âges (2, 4 et 6 jours) en fonction de la concentration. Les mêmes résultats sont mentionnés par Bouaziz *et al.*, (2011) et Djeghader *et al.*, (2013) après traitement des larves de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* avec le novaluron; et ceux de Pineda *et al.*, (2007), Nasr *et al.*, (2010) après traitement des larves de *S. littoralis* avec le méthoxyfénozide, le buprofezin et le pyriproxifen. La réduction de la quantité de glucides induite par l'halofenozide (RH-0345), chez les larves de *Cx. pipiens* est similaire aux résultats trouvés chez d'autres espèces d'insectes en utilisant des différents I.G.Rs, comme le pyriproxifen (Tanani *et al.*, 2012) contre des nymphes de *S. gregaria*. Les I.G.Rs en général réduit la teneur en glucides chez quelques espèces d'insectes, comme, *Musca domestica* par le méthoprene, le lufenuron et le diofenolan (Abou El-Ela *et al.*, 1990; Ghoneim *et al.*, 2006) et *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Curculionidae) par le lufenuron et le diofenolan (Ghoneim *et al.*, 2003). Au contraire, la quantité de glucides a été augmentée par le tebufenozide et le lufenuron (Tanani *et al.*, 2012) contre des nymphes de *S. gregaria* et après le traitement avec un certains I.G.Rs; par exemple, le diflubenzuron sur des chrysalides ou des adultes femelles de *Tenebrio molitor* (Soltani *et al.*, 1987; Soltani-Mazouni *et al.*, 1999); le lufenuron ou le diofenolan sur les larves de *M. domestica* (Ghoneim *et al.*, 2006) et le novaluron sur les larves de *Culiseta longiareolata* et de *Cx. pipiens* (Bouaziz *et al.*, 2011; Djeghader *et al.*, 2013).

La diminution du contenu en glucides après le traitement avec des différents I.G.Rs est due probablement à la diminution de l'activité de trehalase (EL-Sheikh 2002), ou l'activité de carboxylase (Mukherjee & Sharma 1996). De plus, les divers effets de pyriproxifen,

## Discussion

---

tébufénozide et lufenuron sur la teneur en glucides hémolympatiques ou du corps gras des nymphes de *S. gregaria* peuvent être liés à l'interférence de ces I.G.Rs avec les actions hormonales sur le métabolisme des glucides (Imboden & Luscher, 1976). Cette perturbation peut être liée à la capacité de ces molécules de modifier la synthèse de certains métabolites et de perturber le fonctionnement de l'organisme (Rodriguez-Ortega *et al.*, 2003).

L'augmentation de la quantité de lipides induite par le RH-0345, dans la présente étude sur les larves de *Cx. pipiens*, est similaire aux résultats de certains travaux chez d'autres espèces d'insectes en utilisant des différents I.G.Rs, comme le novaluron (Bouaziz *et al.*, 2011; Djeghader *et al.*, 2013) contre des larves de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens*. Contrairement aux résultats qui révèlent une diminution de leur contenu après traitement par le pyriproxifen, le tébufénozide et le lufenuron contre des nymphes de *S. gregaria* (Hamadah *et al.*, 2012), le lufenuron, le diofenolan sur des chrysalides du *Rhynchophora ferrugineus* (Ghoneim *et al.*, 2003), la 20-hydroxyecdysone et l'azadirachtin (Rharrabe *et al.*, 2008), le pyriproxifen sur des larves de *Plodia interpunctella* (Ghasemi *et al.*, 2010) et le pyriproxifen sur les chrysalides d'*Eurygaster integriceps* (Zibae *et al.*, 2011).

Ces modifications métaboliques intenses sont liées aux divers systèmes hormonaux et sous un contrôle neuroendocrinien (Gade *et al.*, 1997) ou à leur transport de site de stockage (le corps gras) via l'hémolymphe vers les organes utilisateurs, notamment la cuticule (Dapporto *et al.*, 2008) et pour la vitellogénèse (Zhou & Miesfeld, 2009). La quantité des lipides de réserve semble être le résultat d'une balance entre la nourriture et la demande pour servir des processus tels que la reproduction, l'entretien et la croissance et cet équilibre est troublé par n'importe quel produit toxique (Canavoso *et al.*, 2001). En outre, l'augmentation du taux de lipides peut être expliquée par l'accumulation des glucides qui peut mener à leur conversion aux lipides comme matériel de réserve (Tanani *et al.*, 2012) par la modification de divers systèmes hormonaux sous l'effet de l'halofénozide qui agit comme un produit xénobiotique (Bouaziz *et al.*, 2011).

La réduction de la quantité des protéines induite par halofénozide, (le RH-0345) sur les larves traitées de *Cx. pipiens* est soutenue par des travaux sur d'autres espèces d'insectes. La réduction des protéines est enregistrée suite au traitement des larves de *Schistocerca gregaria* avec le tébufénozide et le lufenuron (Ghoneim *et al.*, 2012), le pyriproxifen (Parveen & Miyata, 2000); le tébufénozide (Abd El-Mageed, 2008), le flufenoxuron et le chlorfluazurn

## Discussion

---

(Zohry, 2006) ont montré le même effet contre *S. littoralis*. L'utilisation du RH-0345 pour le traitement des larves de *Tenebrio molitor* (Soltani *et al.*, 2002); le novaluron sur des larves de *Culiseta longiareolata* et de *Cx. pipiens* (Bouaziz *et al.*, 2011; Djeghader *et al.*, 2013) révèle la même réduction des taux des protéines. Une baisse de la protéinémie est enregistrée chez *L. decemlineata* après l'application d'autres régulateurs comme le 20E, RH-5849 et le RH-5992 (Smaghe *et al.*, 1999), le RH-0345 réduit avec la même manière les taux de protéines chez *Tenebrio molitor* (Soltani *et al.*, 2002). Par contre la teneur en protéines a été augmentée par l'application de pyriproxifen (Aribi *et al.*, 2006) contre *Tenebrio molitor*, le méthoprène contre *Bactrocera cucurbitae* (Abdul Haq *et al.*, 2010) et par le cyromazine contre le *Culex pipiens* (Assar *et al.*, 2012). Ces résultats confirment la diminution des taux de protéines des larves L4 de *Cx. pipiens* traitées au RH-0345. La réduction du taux de protéines est expliquée par l'effet des I.G.Rs sur les cellules neurosecrétrices responsables de la synthèse des protéines (Bakr *et al.*, 2007), par l'inhibition de la synthèse et le métabolisme d'ADN ou l'interférence des analogues d'ecdysone avec la synthèse de protéines (Padmaje & Rao, 2000). La modification dans la concentration des protéines résulte du changement de volume d'hémolymphe sous l'effet de l'insecticide (Sugumaran, 2010) et ceci explique la diminution de la teneur de protéines des larves traitées. Cette induction des protéines pourrait être employée comme indicateur (biomarqueur) de l'exposition qui est la réponse à une interaction entre un agent xénobiotique et une molécule ou une cellule cible. En fait le dosage des métabolites n'explique pas clairement le mode d'action de la substance utilisée, qui ne reste pas claire si les effets observés sont liés à la perturbation endocrinienne.

Les agonistes des ecdystéroïdes en général peuvent affecter la fécondité et/ou la fertilité chez des différents ordres d'insectes (Knight, 2000; Sun *et al.*, 2000; Osorio *et al.*, 2008; Pineda *et al.*, 2009; Luna *et al.*, 2011).

La réduction de la fécondité, exprimée par la réduction du nombre d'œufs pondus par des femelles de *Culex pipiens*, émergées du traitement larvaire au RH-0345, interfère, à savoir comment, avec le processus normal d'ovogenèse. Le mécanisme de réponse à l'insecticide n'est pas bien reconnu, mais peut être la combinaison de plusieurs facteurs, exemple: Le ralentissement de la régulation de la synthèse des vitéllogénines à partir du corps gras, l'inhibition de la prise des vitéllogénines circulatoires et/ou les contenus des certains follicules sont réabsorbés. Des observations précédentes et similaires sont faites sur des

## Discussion

---

adultes de *T. molitor* (Taibi *et al.*, 2003) et de *Callosobruchus maculatus* (Kellouche & Soltani, 2006) après traitement avec l'hexaflumuron.

Les mêmes résultats sont reportés pour d'*Argyrotaenia vellutinana* et *Choristoneura rosaceana* avec le traitement au RH-5992 et le RH-2485 (Sun *et al.*, 2000). Dallaire *et al.* (2004) a observé que le tébufénozide interfère avec les différents aspects de la reproduction des mâles et femelles de *Choristoneura fumiferana* et *C. rosaceana* et ceux de Shahout *et al.* (2011) avec l'utilisation de méthoxyfénozide et chlorfluazuron sur *Spodoptera litura*. Les résultats du présent travail, aussi montre la réduction du pourcentage d'éclosion des œufs pondus après traitement avec du RH-345. La réduction est causée par le changement de la vitellogénèse, par la perturbation des sources énergétiques (Suneja *et al.*, 2003). Les résultats sont soutenus par l'inhibition total d'éclosion des œufs de *Tribolium castaneum* traités par le DFB (Merzendorfer *et al.*, 2012). Les adultes émergés des nymphes traitées étaient morphologiquement normal mais ne révélé aucune diminution de fécondité.

Les études moléculaires ont révélé que les effets des agonistes de la 20E sur la reproduction des insectes étaient dus à la perturbation de l'expression génique dans la cascade de la hiérarchie de la vitellogenèse et / ou choriogenèse (Swevers & Iatrou 1999, 2003; Sun *et al.*, 2003). En effet, des études réalisées chez plusieurs espèces appartenant à différentes familles (Crambidae, Noctuidae, Pyralidae et Tortricidae) ont démontré que le tébufénozide affecte le développement ovarien (Smaghe & Degheele, 1994a,b; Salem *et al.*, 1997), réduit la fécondité (nombre des œufs pondus) (Knight, 2000; Rodriguez *et al.*, 2001) et même la fertilité des femelles (Charmillot *et al.*, 1994; Smaghe & Degheele, 1994a,b; Knight, 2000) et des males (Carpenter & Chandler, 1994; Sun *et al.*, 2000). Cependant, il est important de mentionner que cet analogue affecte le potentiel reproducteur de l'espèce où le rôle de l'ecdysone dans la reproduction n'est pas encore prouvé. Des travaux antérieurs, reportent que le DFB inhibiteur de la synthèse de la chitine, diminue également, de façon significative, le nombre d'ovocytes et le poids des ovaires (Soltani *et al.*, 1996) ainsi que les ovocytes basaux chez *T. molitor* (Soltani-Mazouni, 1994) et *Cydia pomonella* (Soltani & Soltani-Mazouni, 1992). La mise en évidence de la forte accumulation du DFB, flucycloxuron et l'halofénozide au niveau des organes reproducteurs des femelles et des mâles de *T. molitor*, peut expliquer leurs forts effets sur la reproduction (Chebira *et al.*, 2006).



## Discussion

---

Le traitement des œufs nouvellement pondus de *Cx. pipiens* a réduit le pourcentage d'éclosion. Le même effet est enregistré lors de l'utilisation des inhibiteurs de la synthèse de chitine à l'égard des œufs de *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti* et *Anopheles stephensi*, (Vasuki, 1990). Les résultats sont encore appuyés par les essais de l'azadirachtin, DFB et le pyriproxifen sur les œufs de *Aedes albopictus*, *Ae. Aegypti*, *Ae. Atropalpus* et *Cx. pipiens* (Suman *et al.*, 2013). Les résultats obtenus mettent en évidence que les différents paramètres de reproduction étudiés sont affectés chez les femelles adultes émergées des larves traitées au stade L4, mais non pas après traitement des nymphes ce qui est expliqué par la mise en place de la vitélogénèse qui débute au stade larvaire, et se continue au stade adulte quelques heures après le repas sanguin. La perturbation des paramètres de la reproduction provoqués par l'halofénozide, RH-0345 peut être expliqué par la diminution du taux des métabolites qui peut affecter la maturation des œufs et le pourcentage d'éclosion car les la plupart des larves sont développées normalement à l'intérieur de la coquille des œufs mais elles n'ont pas éclos, à cause de leur faible cuticule larvaire qui n'a pas de la force mécanique pour traverser la coquille des œufs. D'autres explications peuvent être données par la réduction de la durée de développement du stade L4 sous l'effet du RH-0345 qui agit comme agoniste des ecdystéroïdes en se liant sur les récepteurs nucléaires spécifiques de l'hormone de mue naturelle (20 E) (Smagghe *et al.*, 2003; Swevers *et al.*, 2003; Dhadijala *et al.*, 2005) ainsi il affecte son contenu aussi (Boudjelida *et al.*, 2005); ce qui cause une perturbation de plusieurs aspects biologiques comme le poids, les métabolites et la reproduction, qui sont sous contrôle hormonal, 20 E avec la JH.

Chez les insectes, les hydrocarbures cuticulaires servent principalement à la prévention de la dessiccation (Urbanski *et al.*, 2011) et à contribuer à la communication chimique Howard & Blomquist, 1982). Également on suggère que les hydrocarbures ne sont pas simplement des protecteurs passifs mais jouent en plus un rôle principal dans la sélection de compagnon/reconnaissance et la divergence de population (Anyanwu *et al.*, 2000). Chez certains insectes, une partie de la reconnaissance masculine est liée à la détection des composés spécifiques d'hydrocarbures et d'autres composants de la couche lipidique cuticulaire (Pescke, 1987). Chez les insectes, les hydrocarbures cuticulaires sont employés également pour des raisons taxonomiques (Phillips *et al.*, 1988).

La présente étude vise à caractériser les HCs des larves L4 de différents âges de *Culex pipiens* et évaluer l'effet du RH-0345 sur leurs taux. La caractérisation chimique des hydrocarbures cuticulaires des larves L4 de *Cx. pipiens* indique la présence d'un certain

## Discussion

---

nombre de *n*-alkanes, appartenants a une chaîne de 23 à 29 carbones de longueur. Des HCs similaires ont été déterminés chez les adultes de *Aedes aegypti* (Horne & Priestman, 2002), *Aedes albopectus* Kruger & Pappas, 1993), *Culex quinquefasciatus* (Chen *et al.*, 1990) et *Anopheles gambiae* (Caputo *et al.*, 2007) avec une chaîne de carbones qui commence de 21 à 31. La caractérisation des HCs de *Aedes aegypti* révèle la présence de 78 composés et 42 d'entre eux seulement ont été identifiés (Horne & Priestman, 2002). Les HCs ont été étudiés aussi chez différentes espèces d'orthoptères (Thomas & Leigh, 2008; Thomas & Simmons, 2009; Bounechada *et al.*, 2011), coléoptères (Nelson *et al.*, 2003; South *et al.*, 2008; Golebiowski *et al.*, 2008), hyménoptères (Bernier *et al.*, 1998; Ferreira-caliman *et al.*, 2010; Choe & Ramirez, 2012), et diptères (Horne & Priestman, 2002; Zhu *et al.*, 2006; Caputo *et al.*, 2007; Claude Wicker, 2007).

Les résultats de la présente étude montre des différences uniquement quantitatives dans les profils d'hydrocarbures des larves de différents âges de *Cx. pipiens*. L'augmentation des quantités des HCs du 1<sup>er</sup> jour au 6<sup>ème</sup> jour est accompagnée par une diminution significative sous l'effet de RH-0345 pour les deux âges tandis qu'aucune différence qualitative n'est observée. Les différences quantitatives observées entre les HCs des larves traitées et les séries des témoins reflètent quelques modifications dans la biosynthèse des hydrocarbures (Mullen *et al.*, 2008). Les chaînes droites d'alkanes et les *n*-alkènes sont formées par l'intermédiaire de l'élongation d'acyle-CoAs gras, qui sont convertis en hydrocarbures avec un carbone de moins dans la longueur par décarboxylation (Bomquist, 2003; Howard & Blomquist, 2005). De plus, le taux des HCs changent avec les variations géographiques, climatiques, environnementales et génétiques (Hefetz *et al.*, 1993; Ingleby *et al.*, 2012; Khidr *et al.*, 2013); la présence d'endoparasites (Trabalon *et al.*, 2000); l'activité ou le développement ovariens (de Biseau *et al.*, 2004; Heinze *et al.*, 2002; Izzo *et al.*, 2010) et la reproduction (Cuvillier-Hot *et al.*, 2004; Foitzik *et al.*, 2011).

Les résultats issus de la CPG/SM montrent 7 pics majeurs de type *n*-alkane de C23-C29 chez les larves L4 âgées de 1 et 6j avec des différences quantitatives entre âge. Les différents pics présentent des taux variables, chez les périodes d'âge des larves de *Cx. pipiens*. Les résultats sont confirmés durant l'application du halofenozide et le spinosad à l'égard de *Blattella germanica* qui ont montré la réduction quantitative des hydrocarbures cuticulaires majeurs (Kilani-Morakchi *et al.*, 2009; Habbachi *et al.*, 2009).



## Discussion

---

Les travaux antérieurs sur les HCs des différentes espèces d'insectes déclarent l'existence d'une différence quantitative des HCs en fonction d'âge et sexe, et l'absence de différence qualitative (Hugo *et al.*, 2006; Caputo *et al.*, 2007; South *et al.*, 2008; Kuo *et al.*, 2011; Sharma *et al.*, 2011, 2012). D'autres auteurs ont observés des différences qualitatives entre les deux sexes comme chez *Drosophila melanogaster* (Cobb & Jallon, 1990), les crickets *Laupala* (Mullen *et al.*, 2008), larves de *Chrysomya rufifacies* (Zhu *et al.*, 2006), *Teleogryllus oceanicus* (Thomas & Simmons, 2009) et *Riptortus pedestris* (Yoon *et al.*, 2012).

L'analyse d'hydrocarbures cuticulaires également a été appliquée comme un outil pour la séparation des espèces de moustique étroitement liées, par la comparaison des pics chromatographiques majeurs d'*Anopheles maculipennis* (Milligan *et al.*, 1986 ; Phillips *et al.*, 1990). Ceci a été fait sans identification entière des hydrocarbures cuticulaires.

Les présents résultats peuvent être un support potentiel pour d'autres études comme l'identification des espèces de moustiques, les hydrocarbures cuticulaires dans l'activité de la synthèse de la chitine et l'action des régulateurs de croissance des insectes à l'égard d'autres insectes à intérêt médical et vétérinaire.

# REFERENCES

## Références

---

### V. REFERENCES:

- Abd El-Mageed E.N. 2008. Physiological effects of certain bioagents and an insect growth regulators on the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Bosid.) (Noctuidae: Lepidoptera). *M.Sc. Thesis, Fac. of Agric., Ain Shams Univ.*
- Abdul Haq I.H., Caceres C., Hendrichs J., Teal P., Wornoyaporn V. Stauffer C. & Robinson A. S. 2010. Effects of the juvenile hormone analogue methoprene and dietary protein on male melon fly *Bactrocera cucurbitae* (Diptera: Tephritidae) mating success. *J. Insect Physiol.*, **56**: 1503-1509.
- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**: 265- 267.
- Abou El-Ela R.G., Guneidy A.M., El – Shafei A.M. & Ghali O.I. 1990. Effect of altoside (ZR–515) on oxygen consumption, carbon dioxide output and carbohydrate content of organophosphorus-resistant strain of *Musca domestica*. *J. Egypt. Soc. Parasitol.*, **20(1)**: 307-318.
- Adel M.M. 2012. Lufenuron Impair the Chitin Synthesis and Development of *Spodoptera littoralis* Bosid (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Appl. Sci. Res.*, **8(5)**: 2766-2775.
- Ament S.A., Corona M., Pollock H.S. & Robinson G.E. 2008. Insulin signaling is involved in the regulation of worker division of labor in honey bee colonies. *Proc. Nat. Acad.Sci.*, **105**: 4226- 4231.
- Amer M.S. 1990. Effects of the anti-JH synthesis (Mevalonic acid) on the main metabolites of *Spodoptera littoralis*. *Egypt. J. Appl. Sci.*, **5(1)**: 82-91.
- Amrani L., Zerguine K., Farine J.P., Smagghe G. & Soltani–Mazouni N. 2004. Imidazole derivative KK-42 reduces ecdysteroid titers and interferes with reproductive processes in adult females of *Tenebrio molitor*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **80**: 163-172.
- Anyanwu G.I., Molyneux D.H. & Phillips A. 2000. Variation in cuticular hydrocarbons among strains of the *Anopheles gambiae* sensu stricto by analysis of cuticular hydrocarbons using gas liquid chromatography of larvae. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro* **95(3)**: 295–300.
- Aribi N., Lahbar C., Smagghe G. & Soltani N. 2001- Comparative action of RH-0345 and pyriproxyfen on molting hormone production and protein analysis in mealworm pupae. *Med. Fac Landbouww. Univ. Gent*, **66 (2a)**: 445-454.
- Aribi N., Smagghe G., Lakbar S., Soltani-Mazouni N. & Soltani N. 2006. Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, on development of the mealworm, *Tenebrio molitor*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **84**: 55–62.
- Arrese E.L. & Soulages J.L. 2010. Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annu. Rev. Entomol.*, **55**: 207-225.
- Arya N., Chaurasia S., Shakya A., Bharti M. & Sahai N., 2011. Efficacy of ageratum conyzoides against the control of mosquitoes. *Internat. J. pharm. Sci. Res.*, **2(12)**: 3235-3237.

## Références

---

- Asidi A., N'Guessan R., Akogbeto M., Curtis C. & Rowland M. 2012. Loss of household protection from use of insecticide-treated nets against pyrethroid-resistant mosquitoes, Benin. *Emerging Infectious Diseases*, **18**: 1101–1106.
- Assar A.A., Abo El-Mahasen M.M., Khalil M.E. & Mahmoud S.H. 2010. Biochemical effects of some insect growth regulators on the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Egypt Acad. J. Biolog. Sci.*, **2(2)**: 33-44.
- Assar A.A., Abo El-Mahasen M.M., Harba N.M. & Rady A.A. 2012. Biochemical effects of Cyromazine on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *J. Am. Sci.*, **8(5)**: 443-450.
- Atella G.C., Alberto M., Silva-Neto C., Golodne D.M., Arefin S. & Shahabuddin M. 2006. *Anopheles gambiae* lipophorin: Characterization and role in lipid transport to developing oocyte. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, **36**: 375–386.
- Bakr R.F., Abdel Fattah H.M. & Mohamed E.K. 2007. Effect of chitin synthesis inhibitor, lufenuron on the development, haemolymph and antennal sensilla of *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). *African J. Biol. Sci.*, **3 (2)**: 35-43.
- Balenghien T. 2006. De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection en Camargue. Thèse d'université en ligne à <http://tel.archives-ouvertes.fr>.
- Barbour J.D., Lacey E.S. & Hanks L.M. 2007. Cuticular hydrocarbons mediate mate recognition in a species of longhorned beetle (Coleoptera: Cerambycidae) of the primitive subfamily Prioninae. *Annu. Entomol. Soc. Am.*, **100**: 333-338.
- Bendali F. 1989. Etude de *Culex pipiens*. Anautogène, Biologie luttés (*Bacillus thuringiensis israeliensis* serotype H14., *Bacillus sphaericus* 1593) et deux espèces d'hydracariens. Thèse de magister en biologie et physiologie des invertébrés (Arthropodologie). Université Annaba.
- Bendali F., Djebbar F. & Soltani N. 2001. Efficacite comparee de quelques especes de poissons a l'egard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, **57(4)**: 255 - 265.
- Berghiche H., Houamria M., Van de Velde S., Soltani N. & Smagghe G. 2008. Effect of two insect growth regulators on the ecdysteroid contents in eggs of the mealworm. *Belg. J. Zool.*, **138 (2)**: 140-145.
- Bernier U.R., Carlson D.A. & Geden C.J. 1998. "Gas chromatography/mass spectrometry analysis of the cuticular hydrocarbons from parasitic wasps of the genus *Muscidifurax*", *J. Am. Soc. Mass. Spectrom.*, **9**: 320–332.
- Blomquist G.J. 2003. Biosynthesis and ecdysteroid regulation of housefly sex pheromone production. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **24**: 231–252.
- Blomquist G.J. & Bagnères A.G. 2010. Introduction: history and overview of insect hydrocarbons, pp. 3–18, in G.J. Blomquist and A.G. Bagnères (eds.). *Insect Hydrocarbons: Biology, Biochemistry and Chemical Ecology*. Cambridge University Press, New York.

## Références

---

- Bouaziz A., Boudjelida H. & Soltani N. 2011. Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Annu. Biol. Res.*, **2(3)**: 134-143.
- Boudjelida H. 2006. Essai de lutte contre un insecte à intérêt médical (*Culex pipiens*) et deux ravageurs des denrées stockées (*Ceratitis capitata* weid et *Cydia pomonella*). Thèse de doctorat. Université BADJI Mokhtar –Annaba.
- Boudjelida H., Bouaziz A., Smaghe G. & Soltani N. 2002. Insecticidal activity of a nonsteroidal moulting hormone agonist on mosquito larvae and effects on ecdysteroid amounts. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.*, **67 (3)**: 657 – 663.
- Boudjelida H., Bouaziz A., Thomas S., Smaghe G. & Soltani N. 2005. Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pest. Biochem. Physiol.*, **83**: 115- 123.
- Boudjelida H., Aïssaoui L., Bouaziz A., Smaghe G. & Soltani N. 2008. Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac WDG) against mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Comm. Agric. Appl. Biol. sci.*, **73(3)**: 603-609.
- Bounechada M., Benia F., Aïouaz M., Bouharati S., Djirar N. & Benamrani H. 2011. Use Cuticular Hydrocarbons as Chemotaxonomic of The Pamphagidae *Pamphagus elephas* (Insecta, Orthoptera) of Algeria. *World Academy of Science, Eng. Technol.*, 77.
- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding. *Analytic. Biochem.*, **72**: 248 -254.
- Canavoso L.E., Jouni Z. E., Karnas K. J., Pennington, J. E. & Wells. M .A. 2001. Fat metabolism in insects. *Annual Review of Nutrition.* **21**: 23–46.
- Caputo B., Dani F.R., Horne G.L., N’Fale S., Diabate A., Turillazzi S., Coluzzi M., Costantini C., Priestman A.A., Petrarca V. & della-Torre A. 2007. Comparative analysis of epicuticular lipid profiles of sympatric and allopatric field populations of *Anopheles gambiae* s.s. molecular forms and *An. arabiensis* from Burkina Faso (West Africa). *Insect Biochem. Molec. Biol.*, **37**: 389 398.
- Carpenter J.E. & Chandler L.D. 1994. Effects of sublethal doses of two insect growth regulators on *Helicoverpa zea* (Lepidoptera : Noctuidae) reproduction. *J. Entomol. Sci.*, **29**: 428-435.
- Casida J.E. & Quistad G.B. 1998. Golden age of insecticide research: past, present, or future?. *Ann. Rev. Entomol.*, **43**: 1-16.
- Chapman R.F. 1998. The insects: structure and function. 4th ed. Cambridge: Cambridge University Press.
- Charmillot P.J., Favre R., Pasquier D., Rhyn M. & Scalco A. 1994. Effet du régulateur de croissance d’insectes (RCI) tébufénozide sur les oeufs, les larves et les papillons des vers de la grappe *Lobesia botrana* Den & Schiff. et *Eupoecilia ambiguella* Hb. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft*, **67**: 393-402.

## Références

---

- Chebira S., Soltani N., Muylle S. & Smagghe G. 2006. Uptake and distribution of three insect growth regulators: Diflubenzuron, Flucycloxuron and Halofénoside in pupae and adults of *Tenebrio molitor*. *Phytoparasitica*, **34(2)**: 187-196.
- Chen C.S., Mulla M.S., March R.B. & Chaney J.D. 1990. Cuticular hydrocarbon patterns in *Culex quinquefasciatus* as influenced by age, sex and geography. *Bulletin of the Society of Vector Ecology*, **15**: 129–139.
- Choe D.H. & Ramirez S.R. 2012. A Silica Gel Based Method for Extracting Insect Surface Hydrocarbons. *J. Chem. Ecol.*, **38**: 176-187.
- Chugh M., Adak T., Sehrawat N. & Gakhar S.K. 2011. Effect of anti-mosquito midgut antibodies on development of malaria parasite, *Plasmodium vivax* and fecundity in vector mosquito *Anopheles culicifacies* (Diptera: Culicidae). *Indian J. Experiment. Biol.*, **49**: 245-253.
- Claude Wicker T. 2007. Pheromonal communication involved in courtship behavior in Diptera. *J. Insect Physiol.*, **53**: 1089-1100.
- Clements A.N. 1992. The Biology of Mosquitoes. Development, Nutrition and Reproduction, vol. 1. Chapman & Hall, New York, NY, USA, pp. 63–71.
- Clements A.N. 1996. *The biology of mosquitoes*. London : Chapman and Hall. v. 1.
- Cobb M. & Jallon J.M. 1990. Pheromones, mate recognition and courtship stimulation in the *Drosophila melanogaster* species sub-group. *Animal Behav.*, **39**: 1058–1067.
- Cuvillier-Hot V., Gadagkar R., Peeters C. & Cobb M. 2002. Regulation of reproduction in a queenless ant: aggression, pheromones and reduction in conflict. Proceedings of the Royal Society of London, **269(B)**: 1295-1300.
- Cuvillier-Hot V., Lenoir A., Crewe R., Malosse C. & Peeters C. 2004. Fertility signalling and reproductive skew in queenless ants. *Anim. Behav.*, **68**: 1209–1219.
- d’Ettorre P. & Lenoir A. 2010. Nestmate recognition. In: Lach, L., Parr, C., Abbott, K. (Eds.), *Ant Ecology*. Oxford University Press, pp. 194–209.
- Dallaire R., Labrecque A., Marcotte M., Bause E. & Delisle J. 2004. The sublethal effects of tebufenozide on the precopulatory activities of *Christoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. *Entomol. Exp. Appl.*, **112**: 169-181.
- Dapporto L., Lambardi D. & Turillazzi S. 2008. Not only cuticular lipids: first evidence of differences between foundresses and their daughters in polar substances in the paper wasp *Polistes dominulus*. *J. Insect Physiol.*, **54(1)**: 89-95.
- de Biseau J.C., Passera L., Daloze D. & Aron S. 2004. Ovarian activity correlates with extreme changes in cuticular hydrocarbon profile in the highly polygynous ant, *Linepithema humile*. *J. Insect Physiol.*, **50**: 585-593.
- Dhadialla T.S., Retnakaran A. & Smagghe G. 2005. Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert L. I.; Kostas I. And Gill S. (Eds.) *Comprehensive Insect Molecular Science*. Pergamon Press, New York, NY. **6**: 55-116.

## Références

---

- Díaz P.C., Alvarez Gavilán Y., de Armas Rodríguez Y. & Bisset Lazcano J.A. 2007. Determination of insecticide-resistance and resistance mechanisms of *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). *Rev. Cubana Med. Trop.*, **59(2)**: 159-65.
- Dietemann V., Peeters C., Liebig J., Thivet V. & Hölldobler B. 2003. Cuticular hydrocarbons mediate discrimination of reproductives and nonreproductives in the ant *Myrmecia gulosa*, *Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.* **100**: 10341–10346.
- Djeghader N., Boudjelida H., Bouaziz A. & Soltani N. 2013. Biological effects of a benzoylphenylurea derivative (Novaluron) on larvae of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Adv. Appl. Sci. Res.*, **4(4)**: 449-456.
- Duchateau G. & Florkin M. 1959. Sur la trehalosemie des insectes et sa signification. *Arch. Insect Physiol. Biochem.*, **67**: 306-314.
- El-Ouar I., Aribi N. & Soltani-Mazouni N. 2006. Effet d'un analogue de l'hormone juvénile (Pyriproxyfene) sur le profil de l'hormone de mue et la résistance chez la pyrale de la farine *Ephestia kuehniella*. Actes du Colloque International d'Entomologie et de Nématologie, pp. 75-81.
- El-Sheikh T.A. 2002. Effects of application of selected insect growth regulators and plant extracts on some physiological aspects of the black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Huf). Ph. D. Thesis, *Fac. Sci.*, Ain Shams Univ.
- Endler A., Liebig J., Schmitt T., Parker J.E., Jones G., Schreier P. & Holldobler B. 2004. Surface hydrocarbons of queen eggs regulate worker reproduction in a social insect. *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA.* **101**: 2945-2950.
- Ferreira-caliman, Nascimento F.S., Turatti I.C., mateus S., Lopesand N.P. & Zucchi R. 2010. "The cuticular hydrocarbons profiles in the stinless bee *Melipona marginata* reflect task-related differences", *J. Insect Physiol.*, **36(7)**: 800-804.
- Ferveur J.F. 1997. The pheromonal role of cuticular hydrocarbons in *Drosophila melanogaster*. *Bioessays*, **19**: 353–358.
- Ferveur J.F. 2005. Cuticular hydrocarbons: their evolution and roles in *Drosophila* pheromonal communication. *Behav Genet.* **35**: 279–295.
- Ficher R.A. & Yates. 1957. Statistical tables for biological agricultural and medical research .5<sup>ème</sup> edition, Olivirer et Boyd. London, pp. 64-66.
- Finney D.J. 1971. Probit analysis (3<sup>ème</sup> edn) *Cambridge University Press*. London.
- Foitzik A., Fröba J., Rüger M.H. & Witte V. 2011. Competition over workers: fertility signalling in wingless queens of *Hypoconera opacior*. *Insect Soc.*, **58**: 271–278.
- Gäde G. 2004. Regulation of intermediary metabolism and water balance of insects by neuropeptides. *Annu. Rev. Entomol.*, **49**: 93–113.



## Références

---

- Gäde G., Hoffmann K.H. & Spring J.H. 1997. Hormonal regulation in insects: Facts, Graps and Future directions. *J. Physiol. Rev.*, **77(4)**: 263-1032.
- Ghasemi A., Sendi J.J. & Ghadamyari M. 2010. Physiological and biochemical effect of pyriproxyfen on Indian meal moth *Plodia interpunctella* (Lepidoptera Pyralidae). *J. Plant Prot. Res.*, **50 (4)**: 416-422.
- Ghoneim K.S. 1994. Synergistic and antagonistic action of Chlorfluazuron and mevalonic acid against the main body metabolism of the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* Boisd. (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Egypt Ger. Soc. Zool.*, **14(D)**: 89-115.
- Ghoneim K.S., Al-Dali A.G. & Abdel-Ghaffar A.A. 2003. Effectiveness of Lufenuron (CGA-184699) and Diofenolan (CGA-59205) on the general body metabolism of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Curculionidae: Coleoptera). *Pakistan J. Biol. Sci.*, **6(13)**: 1125-1129.
- Ghoneim K.S., Abdel-Ghaffar A.A., Amer M.S., Bream A.S., Al-Dali A.G. & Hamadah Kh.Sh. 2006. Effects of certain insect growth regulators and plant extracts on carbohydrate metabolism in the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Egypt. J. Biomed. Sci.*, **21**: 206-219.
- Ghoneim K.S., Hamadah Kh.Sh. & Tanani M.A. 2012. Protein disturbance in the haemolymph and fat body of the desert locust *Schistocerca gregaria* as a response to certain insect growth regulators. *Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci.*, **1**: 73-83.
- Gilbert L.I., Granger N.A. & Roe R.M. 2000. The juvenile hormones: historical facts and speculations on future research directions. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **30**: 617-644.
- Goldsworthy A.C., Mordue W. & Guthkelch J. 1972. Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18**: 306-314.
- Golebiowski M., Malinski E., Nawrot J. & Stepnowski P. 2008. Identification and characterization of surface lipid components of the dried-bean beetle *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae). *J. Stor. Prod. Res.*, **44**: 386-388.
- Gramdi H. 2007. Impact d'un analogue de l'hormone de mue, le methoxyfénozide, sur le potentiel reproducteur d'un ravageur des denrées stockées, *Ephestia Kuehniella zeller*. Thèse de Magister. Université BADJI Mokhtar-Annaba.
- Habbachi W., Bensafi H., Adjami Y., Ouakid M.L., Farine J.P. & Everaerts C. 2009. Spinosad Affects Chemical Communication in the German Cockroach, *Blattella germanica* (L). *J. Chem.Ecol.*, **35 (12)**: 1423-1426.
- Hamadah Kh.Sh., Ghoneim K.S. & Tanani M.A. 2012. Effect of certain insect growth regulators on the lipid content of some tissues of the desert locust *Schistocerca gregaria*. *African J. Biochem. Res.*, **6(9)**: pp. 121-128.
- Hami M., Taibi F. & Soltani-Mazouni N. 2004. Effects of flucycloxuron, chitin synthesis inhibitor on reproductive events and thickness of chorion in mealworms. *Commun Agric. Appl. Biol. Sci.*, **69(3)**: 249-255.



## Références

---

- Hami M., Taibi F., Smagghe 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)**: 767-774.
- Hannonen M. & Sundström L. 2002. Proximate determinants of reproductive skew in polygynous colonies of the ant *Formica fusca*. *Ethol.*, **108**: 961-973.
- Harbach R.E. 2007. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa.*, **1668**: 591-638.
- Hefetz A. 2007. The evolution of hydrocarbon pheromone parsimony in ants (Hymenoptera: Formicidae)—interplay of colony odor uniformity and odor idiosyncrasy. *Myrmecol News*, **10**: 59-68.
- Hefetz A., Tengö J., Lübke G. & Francke W. 1993. Inter-colonial and intra-colonial variation in Dufour's gland secretion in the bumblebee species *Bombus hypnorum* (Hymenoptera: Apidae). In *Sensory Systems of Arthropods*, Weise K, Gribakin FG and Renninger G (eds.), pp. 469-480, Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland.
- Heinze J., Stengl B. & Sledge M.F. 2002. Worker rank, reproductive status and cuticular hydrocarbon signature in the ant, *Pachycondyla cf. inversa*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **52**: 59-65.
- Horne G.L. & Priestman A.A. 2002. The chemical characterization of the epicuticular hydrocarbons of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Bull. Entomol. Res.*, **92**: 287-294.
- Howard R.W. & Blomquist G.J. 1982. Chemical ecology and biochemistry of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.*, **27**: 149-172.
- Howard R.W. & Blomquist G.J. 2005. Ecological, behavioral and biochemical aspects of insect hydrocarbons. *Annu. Rev. Entomol.*, **50**: 371-393.
- Hubálek Z. 2008. Mosquitoes-borne viruses in Europe. *Parasitol. Res.*, **103**: 529-543.
- Hugo L.E., Kay B.H., Eaglesham G.K., Holling N. & Ryan P.A. 2006. Investigation of cuticular hydrocarbons for determining the age and survivorship of Australian mosquitoes. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **74 (3)**: 462-474.
- Imboden H. & Luscher M. 1976. Allatectomy in adult worker *Apis mellifera* (Hym., Apidae). *Rev. Suisse Zool.*, **82**: 964-989.
- Ingleby F.C., Hosken D.J., Flowers K., Hawkes M.F., Lane S.M., Rapkin J., Dworkin I. & Hunt J. 2012. Genotype-by-environment interactions for cuticular hydrocarbon expression in *Drosophila simulans*. *J. Evol. Biol.*, **26**: 94-107.
- Ishaaya I. 1990. Benzoylphenyl ureas and other selective control agents-mechanism and application. In: Casida, J. E. (ED.) *Pesticides and alternatives*. Elsevier, Amsterdam, the Netherlands. pp. 365-376.
- Ishaaya I. & Horowitz A.R. 1998. Insecticides with novel mode of action: overview. In: Ishaaya I. & Degheele D. (eds). *Insecticides with novel mode of action- mechanisms and application*, p. 1-24. Berlin: Springer.

## Références

---

- Izzo A., Wells M., Huang Z. & Tibbetts E. 2010. Cuticular hydrocarbons correlate with fertility, not dominance, in a paper wasp, *Polistes dominulus*. *Behav. Ecol. Sociobiol.*, **64**: 857–864.
- Kaufmann C. & Brown M.R. 2008. Regulation of carbohydrate metabolism and flight performance by a hypertrehalosaemic hormone in the mosquito *Anopheles gambiae*. *J. Insect Physiol.*, **54**: 367-377.
- Kellouche A. & Soltani N. 2006. Impact of hexaflumuron, a chitin synthesis inhibitor, on growth, development and reproductive performance of the progeny in *Callosobruchus maculatus* after adult treatments. *Afr. J. Agric. Res.*, **1(3)**: 57– 64.
- Khalil M.S., Assar A.A., Abo El-Mahasen M.M. & Mahmoud S.H. 2010. Morphological effects of some insect growth regulators on *Musca domestica*, (Diptera, Muscidae). *Egypt. Acad. J. biolog. Sci.*, **2 (2)**: 29- 36.
- Khebbeb M.E.H., Gaouaoui R. & Bendjeddou F. 2008. Tebufenozide effects on the reproductive potentials of the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. *African J. Biotechnol.*, **7 (8)**: 1166-1170.
- Khidr S.K., Linforth R.S.T., Hardy I.C.W. 2013. Genetic and environmental influences on the cuticular hydrocarbon profiles of *Goniozus* wasps. *Entomol. Experiment. Appl.*, **147(2)**: 175–185.
- Kilani-Morakchi S., Aribi N., Farine J.P., Smagghe G. & Soltani N. 2009. Halofenozide affects sexual behaviour, cuticular hydrocarbons and reproduction in the female German cockroach *Blattella germanica* (Dictyoptera, Blattellidae). *Belg. J. Zool.*, **139 (2)**: 147-155.
- Klowden M.J. 1990. The endogenous regulation of mosquito reproductive behavior. *Experimentia*, **46**: 660-670.
- Knight A.L. 2000. Tebufenozide targeted against codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) adults, eggs, and larvae. *J. Econ. Entomol.*, **93**: 1760-1767.
- Konan O.Y.L., Koffi A.A., Doannio J.M.C. & Darriet F. 2003. Résistance de *Culex quinquefasciatus* (SAY, 1823) à la Deltaméthrine et l'utilisation de la moustiquaire imprégnée en milieu urbain de Bouaké, Côte d'ivoire. *Ent. Méd.*, **2380**: 128-129.
- Kruger E.L. & Pappas C.D. 1993. Geographic variation of cuticular hydrocarbons among fourteen populations of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.*, **30**: 544–548.
- Kumar A.N., Murugan K., Shobana K. & Abirami D. 2013. Isolation of *Bacillus sphaericus* screening larvicidal, fecundity and longevity effects on malaria vector *Anopheles stephensi*. *Academic Journals. Sci. Res. Essays*, **8(11)**: 425-431.
- Kuo T.H., Yew J.Y., Fedina T.Y., Dreisewerd K., Dierick H.A. & Pletcher S.D. 2011. Aging modulates cuticular hydrocarbons and sexual attractiveness in *Drosophila Melanogaster*. *J. Experiment. Biol.*, **215**: 814-821.
- Lafont R. 2000. Understanding insect endocrine systems: molecular approaches. *Entomol. Exp. Appl.*, **97**: 123-136.

## Références

---

- Lakbar C. 2000. Effet d'un analogue des écdystéroïdes (RH-0345) et un agoniste de l'hormone juvénile (pyriproxyfen) sur le développement et la reproduction de *Tenebrio molitor*. Thèse de Magister. Université BADJI Mokhtar-Annaba.
- Lenormand T. 1998. Dynamique de l'adaptation locale. Résistance aux insecticides chez *Culex pipiens*. Dynamics of local adaptation. Resistance to insecticides in *Culex pipiens*. [Note(s): [50 p.]] (bibl.: 201 refs).
- Linné C. 1758. Systema naturae per regna fria naturae. Edition 10. Holmia, **1**: 82.
- Lounibos L.P. 2002. Invasions by insect vectors of human disease. *Annu. Rev. Entomol.*, **47**: 233-266.
- Luna J.C., Robinson V.A., Martinez A.M., Schneider M.I., Figueroa J.I., Smagghe G., Vinuela E., Budia F. & Pineda S. 2011. Long-Term Effects of Methoxyfenozide on the Adult Reproductive Processes and Longevity of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, **104(4)**: 1229-1235.
- Maiza A., Aribi N., Smagghe G., Kilani-Morakchi S., Bendjedid M. & Soltani N. 2013. Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroaches *Blattella germanica*. *Bull. Insectol.*, **66 (1)**: 11-20.
- Martin S.J., Vitikainen E., Helantera H. & Drijfhout F.P. 2008b. Chemical basis of nestmate discrimination in the ant *Formica exsecta*. *Proc. R. Soc.*, **275(B)**: 1271–1278.
- Merzendorfer H., Kim H.S., Chaudhari S.S., Kumari M., Specht C.A., Butcher S., Brown S.J., Beeman R.W., Kramer K.J. & Muthukrishnan S. 2012. Genomic and proteomic studies on the effects of the insect growth regulator diflubenzuron in the model beetle species *Tribolium castaneum*. *Insect Biochemist. Molec. Biol.*, **42**: 264-276.
- Milligan P.J.M., Phillips A., Molyneux D.H., Subbarao S.K. & White G.B. 1986. Differentiation of *Anopheles culicifacies* Giles (Diptera: Culicidae) sibling species by analysis of cuticular components. *Bulletin of Entomological Research*, **76**: 529–537.
- Miyamoto J., Hirano M., Takimoto Y. & Hatakoshi M. 1993. Insect growth regulators for pest control, with emphasis on juvenile hormone analogs : Present status and future prospects. ACS Symp. Ser., ACS, Washington, DC. **524**: 144-168.
- Mukherjee S.N. & Sharma R.N. 1996. Azadirachtin induced changes in feeding, dietary utilization and midgut carboxylesterase activity of the final instar larvae of *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Environ. Sci. Health*, **31(B)**: 1307-1319.
- Mullen, S.P, Millar J.G., Schal G. & Shaw K.L. 2008. Identification and charecterization of cuticular hydrocarbons from rapid Species radiation of Hawaiian Swordtailed crickets (Gryllidae: laupala). *J. Chem. Ecol.*, **34**: 198-204.
- Nasr H.M., Badawy M.E.I., Rabea E.I. 2010. Toxicity and biochemical study of two insect growth regulators, buprofezin and pyriproxyfen, on cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. *Pest. Biochemist. Physiol.*, **99**: 198–205.

## Références

---

- Nelson D.R., Adams T.S. & Fatland C.L. 2003. "Hydrocarbons in the surface wax of eggs and adults of the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*", *Comp. Biochem. Physiol.*, **134(B)**: 447-466.
- Nuttall I. 1997. Web pages, Division of Control of Tropical Diseases. World Health Organization, Geneva, Switzerland.
- OMS. 1983. Anonym, informal consultation on insect growth regulators. WHO/VBC/83: 1983.
- Osorio A., Martinez A.M., Schneider M.I., Diaz O., Corrales J.L., Avile's M.C., Smaghe G. & Pineda S. 2008. Monitoring of beet armyworm resistance to spinosad and methoxyfenozide in Mexico. *Pest Manag. Sci.*, **64**: 1001-1007.
- Padmaje P.G. & Rao P.J. 2000. Effect of plant oils on haemolymph proteins of final instar larvae of *Helicoverpa armigera* Hubner. *Entomol.*, **25 (2)**: 107-115.
- Pavela R. 2009. Larvicidal property of essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Industrial Crops and Products*, **30**: 311–315.
- Perveen F. & Miyata T. 2000. Effects of sublethal dose of chlorfluazuron on ovarian development and oogenesis in the common cutworm, *Spodoptera litura* (F.) Lepidoptera: Noctuidae). *Annu. Entomol. Soc. Am.*, **93**: 1131-1137.
- Pescke K. 1987. Cuticular hydrocarbons regulate mate recognition, male aggression and female choice of the rove beetle, *Aleochara curtula*. *J. Chem. Ecol.*, **13**: 993–1008.
- Phillips A., Milligan P.J.M. Broomfield G. & Molyneux D.H. 1988. Identification of medically important Diptera by analysis of cuticular hydrocarbons. In: Service, M.W. *Biosystematics of Haematophagous Insects*. 39–59. ClarendonPress, Oxford, U.K.
- Phillips A., Sabatini A., Milligan P.J.M., Boccolini D., Brppmfield G. & Molyneux D.H. 1990. The *Anopheles maculipennis* complex (Diptera: Culicidae): comparison of the cuticular hydrocarbon profiles determined in adults of five Palearctic species. *Bulletin of Entomological Research* **80**: 459–464.
- Pineda S., Schneider M.I., Smaghe G., Martinez A.M., Del Estal P., Vinuela E., Valle J. & Budia F. 2007. Lethal and sublethal effects of methoxyfenozide and spinosad on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, **100**: 773-780.
- Pineda S., Martinez A.M., Figueroa J.I., Schneider M.I., Del Estal P., Vinuela E., Gomez B., Smaghe G., Valle J. & Budia F. 2009. Influence of azadirachtin and methoxyfenozide on life parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, **102**: 1490-1496.
- Rachinsky A., Tobe S.S. & Feldauer M.F. 2000. Terminal steps in JH biosynthesis in the honey bee (*Apis mellifera* L.) developmental changes in sensitivity to JH precursor and allotropin. *Insect Biochemist. Molec. Biol.*, **30**: 729-737.
- Radhika D., Ramathilaga A., Sathesh Prabu C. & Murugesan A.G. 2011. Evaluation of larvicidal activity of soil microbial isolates (*Bacillus* and *Acinetobactor* Sp.) against *Aedes*

## Références

---

- aegypti* (Diptera: Culicidae) - the vector of Chikungunya and Dengue. *Proceed Internat. Acad. Ecol. Environ. Sci.*, **1(3-4)**: 169-178.
- Rees H.H. 1995. Ecdysteroid biosynthesis and inactivation in relation to function. *Eur. J. Entomol.*, **92**: 9-39.
- Rehimi N. & Soltani N. 1999. Laboratory evaluation of alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens* (Dip., Culicidae): Effects on development and cuticle secretion. *J. Appl. Entomol.*, **123**: 437- 441.
- Rehimi N. & Soltani N. 2002. Laboratory evaluation of Andalin, in insect growth regulator interfering with cuticle deposition, against mosquito larvae. *Sci. & Technol.*, **18**: 106-110.
- Rehimi N., Alouani A. & Soltani N. 2011. Efficacy of Azadirachtin against Mosquito Larvae *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) under Laboratory Conditions. *European J. Sci Res.*, **57(2)**: 223-229.
- Reinert J.F. 2000. New classification for the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: Aedini), elevation of subgenus *Ochlerotatus* to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. *J. Am. Mosquito Control Assoc.*, **16**: 175–188.
- Rharrabe K., Amri H., Bouayad B. & Sayah F. 2008. Effects of azadirachtin on post-embryonic development, energy reserves and  $\alpha$ -amylase activity of *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Stored Prod. Res.*, **44 (3)**: 290-294.
- Riddiford L.M. 1996. Molecular aspects of juvenile hormone action in insect metamorphosis. In *Metamorphosis*, Gilbert, L.I., Tata J.R. & Atkinson, B.G. (eds.), *Academic Press, Inc.*, **6**: 223 -243.
- Rodhain F. & Perez C. 1985. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine S. A. Eds. 27 rue de l'école de médecine Paris.
- Rodriguez L.M., Ottea J.A. & Reagan T.E. 2001. Selection, egg viability, and fecundity of the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) with tebufenozide. *J. Econ. Entomol.*, **94**: 1553-1557.
- Rodriguez M., Bisset J., De Ruiz M. & Soca A. 2002. Cross-Resistance to Pyrethroid and Organophosphorus Insecticides Induced by Selection with Temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba: *J. Med. Entomol.*, **39 (6)**: 882-888.
- Rodriguez-Ortega M.J., Grosvik B.E., Rodriguezariza A., Goksoyr A. & Lopez-Barea J. 2003. Changes in protein expression profiles in bivalve molluscs (*Chamaeleagallina*) exposed to four model environmental pollutants. *Proteomics*, **3**: 1535–1543.
- Roeder T. 2005. Tyramine and octopamine: Ruling behavior and metabolism. *Annu. Rev. Entomol.*, **50**: 447-477.
- Romer F. 1991. The oenocytes of insects: Differentiation, changes during molting, and their possible involvement in the secretion of molting hormone. In A. P. Gupta (ed.),

## Références

---

- Morphogenetic hormones of arthropods*, **3**: 542- 566, Rutgers University Press, New Brunswick, New Jersey.
- Rouault J.D., Marican C., Wicker-Thomas C. & Jallon J.M. 2004. Relations between cuticular hydrocarbon (HC) polymorphism, resistance against desiccation and breeding temperature; a model of HC evolution in *D. melanogaster* and *D. simulans*. *Genetica*, **120**: 195-212.
- Salem H., Smagghe G. & Degheele D. 1997. Effects of tebufenozide on oocyte growth in *Plodia interpunctella*. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, **62**: 9-13.
- Salokhe S.G., Mukherjee S.N., Deshpande S.G., Ghule V.P. & Mathad J.R. 2010. Effects of sub-lethal concentrations of insect growth regulator, lufenuron on larval growth and development of *Aedes aegypti*. *Current Sci.*, **99 (9)**: 1256-1259.
- Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Hervy J.P., Rhaiem A. & Brunhes J. 2001. Les moustiques d'Europe: logiciel d'identification et d'enseignement. Cédérom, Montpellier, IRD/ Editions.
- Schal C., Fan Y. & Blomquist G.J. 2003. Regulation of pheromone biosynthesis, transport and emission in cockroaches. In *Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology: the Biosynthesis and Detection of Pheromones and Plant Volatiles*, ed. G. J. Blomquist and R. G. Vogt. London: Elsevier Academic Press, pp. 283-322.
- Shahout H.A., Xu X., Qiao J. & Jia Q.D. 2011. Sublethal Effects of Methoxyfenozide, in Comparison to Chlorfluazuron and Beta-Cypermethrin, on the Reproductive Characteristics of Common Cutworm *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Entomol. Res. Soc.*, **13(3)**: 53-63.
- Sharma M.D., Hunt J., Hosken D.J. & Forthcoming 2011. Antagonistic responses to natural and sexual selection and the sex-specific evolution of cuticular hydrocarbons in *Drosophila simulans*. *Evolution*. doi:10.1111/j.1558-5646.2011.01468.x
- Sharma M.D., Mitchell C., Hunt J., Tregenza T. & Hosken D.J. 2012. The Genetics of Cuticular Hydrocarbon Profiles in the Fruit Fly *Drosophila Simulans*. *J. Heredity*, **103(2)**: 230–239.
- Shashank P.R., Bhattacharyya A. & Chakravarthy A.K. 2010. Effect of Tebufenozide (RH-5992) on *Spodoptera litura* Fab. (Lepidoptera: Noctuidae). *Ins. Evt.*, **16(1)**: 2010.
- Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneck C., New Hall. & Feidman L. 1966. A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, **19**: 415-528.
- Smagghe G. & Degheele D. 1994a. Action of a novel nonsteroidal ecdysteroid mimic, tebufenozide (RH-5992), on insects of different orders. *Pest. Sci.*, **42**: 85-92.
- Smagghe G. & Degheele D. 1994b. The significance of pharmacokinetics and metabolism to the biological activity of RH-5992 (tebufenozide) in *Spodoptera exempta*, *Spodoptera exigua*, and *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest. Biochem. Physiol.*, **49**: 224-234.



## Références

---

- Smagghe G., Viñuela E., Limbergen H.V., Budia F. & Tirry L. 1999. Nonsteroidal moulting hormone agonists: effects on protein synthesis and cuticle formation in Colorado potato beetle larvae. *Entomol. Experiment. Appl.*, **93**: 1–8.
- Smagghe G., Braeckman P., Huys N. & Rees H. 2003. Cultured mosquito cells *Aedes albopictus* C6/36 (Dip., Culicidae) responsive to 20-hydroxyecdysone and non-steroidal ecdysone agonists, *J. Appl. Entomol.*, **127**: 167–173.
- Soltani N., Quennedy A, Delbecque J.P. & Delachambre J. 1987. Diflubenzuron induced alterations during in vitro development of *Tenebrio molitor* pupal integument. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **5**: 201-209.
- Soltani N. & Soltani-Mazouni N. 1992. Diflubenzuron and oogenesis in the codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *pestic. Sci.*, **34**: 257-261.
- Soltani N., Chebira S., Delbecque J.P. & Delachambre J. 1993. Biological activity of flucycloxuron, a novel benzoylphenyl urea derivative on *Tenebrio molitor* comparaison with diflubenzuron and triflumuron. *Experienta.*, **49**: 1088-1091.
- Soltani N., Soltani-Mazouni N. & Delachambre J. 1996. Evaluation of triflumuron, a benzoylphenyl urea derivative, on *Tenebrio molitor* pupae (Col., Tenebrionidae): effects on cuticle. *J. Appl. Entomol.*, **120**: 627-629.
- Soltani N., Rehim N., Drardja H. & Bendali F. 1999. Activité du triflumuron à l'égard de *Culex pipiens* et impacts sur deux espèces larvivores non visées. *Ann. Soci. Entomol. France* (N.S.), **35**: 59- 64.
- Soltani N., Aribi N., Berghiche H., Lakbar S. & Smagghe G. 2002. Activity of RH-0345 on ecdysteroid production and cuticle secretion in *Tenebrio molitor* pupae in vivo and in vitro. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **72**: 83-90.
- Soltani N., Chouahda S. & Smagghe G. 2008. Evaluation of halofenozide against prey mosquito larvae *Culex pipiens* and the predator fish *Gambusia affinis*: impact on growth and enzymatic activities. *Commun Agric. Appl. Biol. Sci.*, **73(3)**: 659-66.
- Soltani-Mazouni N. 1994. Effects of ingested diflubenzuron on ovarian development during the sexual maturation of mealworms. *Tissue Cell*, **32(3)**: 439-445.
- Soltani-Mazouni N., Khebbab M.E.H. & Soltani N., 1999. Production d'ecdystéroïdesovariensdurant la maturation des oocytes chez *Tenebrio molitor*. *Ann. Soc. Entomol. France*, **35**: 82-86.
- Soltani-Mazouni N., Hami M. & Gramdi H., 2011. Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella* Zeller. *Invertebrate Reproduction and Development DOI : 10.1080/07924259.582695*.
- South A., LeVan K., Leombruni L., Orians C.M. & Lewis S.M. 2008. Examining the role of cuticular hydrocarbons in Firefly Species Recognition. *Ethol.*, **114**: 916-924.
- Stay B. 2000. A review of the role of neurosecretion in the control of juvenile hormone synthesis: a tribute to Berta Scharrer. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **30**: 653–662.

## Références

---

- Sugumaran M. 2010. Chemistry of cuticular sclerotization. *Advances in insect Physiol.*, **39**: 151-209.
- Suman D.S., Wang Y., Bilgrami A.L. & Gaugler R. 2013. Ovicidal activity of three insect growth regulators against *Aedes* and *Culex* mosquitoes. *Acta Tropica*, **128**: 103– 109.
- Sun X., Barrett B.A. & Biddinger D.J. 2000. Fecundity and fertility reductions in adult leafrollers exposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonist tebufenozide and methoxyfenozide. *Entomol. Exp. Appl.*, **94**: 75-83.
- Sun X., Song Q. & Barrett B.A. 2003. Effect of ecdysone agonist on vitellogenesis and the expression of EcR and USP in codling moth *Cydia pomonella*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.*, **52**: 115-129.
- Suneja A., Gulia M. & Gakhar S.K. 2003. Blocking the malaria parasite development in mosquito and fecundity reduction by midgut antibodies in *Anophele stephensi* (Diptera : Culicidae), *Arch. Biochem. Physiol.*, **52(2)**: 63-69.
- Swaroop S., Gilroy A.B. & Uemura K. 1965. Statistical methods in malaria eradication. Geneva: World Health Organisation.
- Swevers L. & Iatrou K. 1999. The ecdysone agonist tebufenozide (RH- 5992) blocks the progression into the ecdysteroid-induced regulatory cascade and arrests silkworm oogenesis and midvitellogenesis. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **29**: 955-963.
- Swevers L. & Iatrou K. 2003. The ecdysone regulatory cascade and ovarian development in lepidopteran insects: insights from the silkworm paradigm. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **33**: 1285-1297.
- Swevers L., Kravariti L., Ciol W.S., Xenou-Kokoletsi M., Wong G., Ragousis N., Smagghe G., Nakagawa G.Y., Mazomenos V. & Iatrou K. 2003. A high-throughput screening system for fast detection of ecdysteroid mimetic and antagonistic substances using transformed *Bombyx mori*-derived cell lines, *FASEB J.*, **17**: 134–136.
- Taibi F., Smagghe G., Armani L. & Soltani-Mazouni N. 2003. Effect of ecdysone agonist, RH-0345, on reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **135**: 257-267.
- Tanani M.A., Ghoneim K.S. & Hamadah Kh.Sh. 2012. Comparative effects of certain IGRs on the carbohydrates of hemolymph and fat body of *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). *Florida Entomol.*, **95 (4)**: 928-935.
- Thomas L. & Leigh W.S. 2008. "Sexual dimorphism in cuticular hydrocarbons of the Australian field cricket *Teleogryllus oceanicus* (Orthoptera, Gryllidae) ", *J. Insect Physiol.*, **54(6)**: 1081-1089.
- Thomas M.L. & Simmons L.W. 2009. Sexual selection on cuticular hydrocarbons in the Australian field cricket, *Teleogryllus oceanicus*. *BMC Evolutionary Biol.*, **9**: 162.
- Timmermann S.E. & Briegel H. 1999. Larval growth and biosynthesis of reserves in mosquitoes. *J. Insect. Physiol.*, **45**: 461-470.



## Références

---

- Trabalon M., Plateaux L., Peru L., Bagnères A.G. & Hartmann N. 2000. Modification of morphological characters and cuticular compounds in worker ants *Leptothorax nylanderii* induced by endoparasites *Anomotaenia brevis*. *J. Insect Physiol.*, **46**: 169-178.
- Urbanski J.M., Benoit J.B., Michaud M.R., Denlinger D.L. & Armbruster P. 2011. The molecular physiology of increased egg desiccation resistance during diapause in the invasive mosquito *Aedes albopictus*. *Proceedings of the Royal Society*, **277(B)**: 2683–2692.
- Vasuki V. 1990. Effect of insect growth regulators on hatching of eggs of three vector mosquito species. *Proceedings: Animal Sci.*, **99(6)**: 477-482.
- Yoon C., Yang J.O., Youn Y.N. & Kim G.H. 2012. Changes in cuticular hydrocarbons in different developmental stages of the Bean Bug, *Riptortus pedestris* (Hemiptera: Alydidae). *J. Asia-Pacific Entomol.*, 1-26.
- Yu S.J. 2008. *The Toxicology and Biochemistry of Insecticides*. CRC Press, Llc, London, England.
- Zhou G. & Miesfeld R.L. 2009. Energy metabolism during diapause in *Culex pipiens* mosquitoes. *J. Insect Physiol.*, **55**: 40-46.
- Zhu G.H., Ye G.Y., Hu C., Xu X.H. & Li K. 2006. Development changes of cuticular hydrocarbons in *Chrysomya rufifacies* larvae: potential for determining larval age. *Med. Veter. Entomol.*, **20**: 438-444.
- Zibae A., Zibae I. & Sendi J.J. 2011. A juvenile hormone analog, pyriproxyfen, affects some biochemical components in the hemolymph and fat bodies of *Eurygaster integriceps* Puton (Hemiptera: Scutelleridae). *Pesticide Biochem. Physiol.*, **100 (3)**: 289-298.
- Ziegler R. & Ibrahim M.M. 2001. Formation of lipid reserves in fat body and eggs of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *J. Insect Physiol.*, **47**: 623-627.
- Zohry N.M.H. 2006. Aberration of some insecticides on some biological aspects of the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Lpidoptera: Noctuidae). Unpublished Ph.D. Thesis, Fac. Sci., South Valley Univ., Egypt.
- Zoubiri S. & Baaliouamer A. 2011. Potentiality of plants as source of insecticide principles. *J. Saudi Chemical Society xxx*: xxx–xxx.

www.alanwood.net.

# RESUMES

## **Résumé:**

Ce travail consiste à évaluer l'effet d'un régulateur de croissance, agoniste de l'hormone de mue, le RH-0345 qui a été appliqué aux concentrations qui varient entre 8 & 150 µg / l, sur des nymphes de moustique *Culex pipiens*, âgées de 1jour. Les CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> (Boudjelida *et al.*, 2005) ont été appliquées sur des larves L4, nymphes et œufs nouvellement pondus pour évaluer leurs effets sur plusieurs aspects: morphologique, biochimique, reproduction et les hydrocarbures cuticulaires chez la même espèce.

Les résultats obtenus montrent que le RH-0345 n'a aucun effet toxique à l'égard des nymphes car une mortalité négligeable a été enregistrée après traitement. Par contre cette molécule a perturbé le développement par la réduction de la durée de développement du stade larvaire L4, cependant il n'a présenté aucun effet sur la durée du stade nymphal. L'observation de plusieurs types de malformations est enregistrée, avec la réduction du poids des larves et la perturbation des taux des métabolites (glucides, lipides et protéines). De plus, se produit affecte la reproduction, par la diminution du nombre des œufs pondus, le pourcentage d'éclosion et la fécondité suite au traitement des larves. Une réduction du pourcentage d'éclosion après traitement des œufs aussi a été remarquée, cependant, il ne présente aucun effet sur ces paramètres après traitement des nymphes.

L'analyse biochimique des hydrocarbures cuticulaires des larves L4 de *Cx. pipiens* âgées de 1 & 6 jours montre une variation uniquement quantitative. Le traitement des larves du stade L4 du même âge au CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> entraîne une réduction quantitative des taux des hydrocarbures cuticulaires sans aucune modification qualitative enregistrée.

**Mots clés:** régulateur de croissance des insectes, hormone de mue, RH-0345, *Culex pipiens*, hydrocarbures cuticulaires.

**Abstract:**

The present work consists to evaluate the effect of an insect growth regulator, agonist of molting hormone, the RH-0345 applied at different concentrations ranging between 8 & 150  $\mu\text{g} / \text{l}$ , on new pupae of *Culex pipiens* of 1 day old. The product represented with the  $\text{LC}_{50}$  and  $\text{LC}_{90}$  (Boudjelida *et al.*, 2005) was applied on fourth instar larvae, pupae and freshly laid eggs, of *Cx. pipiens* in order to evaluate its effect on several biological aspects: morphology, biochemistry, reproduction and cuticular hydrocarbons of the mosquito species.

The obtained results revealed that the RH-0345 exhibited any toxic effect on pupae, but it disturbed the development by the reduction of the developmental duration of the fourth instar larvae, however, it has no effect on the duration of pupae. Also some malformations aspects were observed with a reduction of larvae weight and the perturbation of metabolite contents (carbohydrates, lipids and proteins). The essays on reproduction revealed that the product reduced the laid eggs number, the hatching percentage and the fecundity after larvae treatment. The treatment of the eggs with the same molecule affected the hatching percentage however, no result was recorded on these reproduction parameters following the pupae treatment.

The biochemical analysis of cuticular hydrocarbons of the fourth instar larvae of *Cx. pipiens* of 1 & 6 days old revealed only a quantitative increase of the contents without any changes in the hydrocarbons qualities. The treatment of the larvae of the same age with the  $\text{LC}_{50}$  and  $\text{LC}_{90}$  of the RH-0345 showed a modification in the quantities of both ages without any qualitative perturbation of the cuticular hydrocarbons of these larvae.

**Key words:** insect growth regulators, molting hormone, RH-0345, *Culex pipiens*, cuticular hydrocarbons.

## المخلص:

هذه الدراسة تهدف إلى تقييم تأثير معدل نمو من فئة مشابهاة هرمون النمو RH-0345 أو الهالوفينوزيد المستعمل بعدة تراكيز (8 – 150 µg / l) على عذارى عمرها 1 يوم عند البعوض *Culex pipiens*. استعملت التراكيز CL<sub>50</sub> و CL<sub>90</sub> (Boudjelida et al., 2005) على يرقات الطور الرابع, عذارى و بيوض حديثة الوضع لتقييم تأثيرها على عدة ظواهر فيزيولوجية (مورفولوجيا, بيوكيمياء, تكاثر و هيدروكربونات الجليد) عند نفس النوع.

أظهرت نتائج هذه التجربة أن الهالوفينوزيد ليس لديه تأثير سمي على العذارى لأن نسبة الموت كانت مهملة بعد المعاملة, كما أدى إلى نقص مدة الطور اليرقي الرابع بينما لم يكن لديه تأثير على مدة طور العذراء مع ظهور بعض التشوهات, نقص وزن اليرقات, كما لاحظنا اختلافات في محتوى المؤشرات البيوكيميائية (غلوسيدات, ليبيدات و بروتينات), كما أن لديه تأثير على تكاثر البالغات مقارنة مع الشاهد و هذا يظهر بتراجع عدد البيض الموضوع, نسبة الفقس, الخصوبة و ذلك بعد معاملة اليرقات, نسبة الفقس بعد معاملة البيوض, بينما لم يكن لديه تأثير على هذه الظواهر بعد معاملة العذارى.

فيما يخص هيدروكربونات الجليد, فإن محتواها يتغير كميًا حسب العمر (يرقات 1, 6 يوم) و المعاملة (CL<sub>50</sub> و CL<sub>90</sub>). بينما, لم تلاحظ أي فروقات نوعية.

**الكلمات المفتاحية:** معدل نمو, مشابه هرمون النمو, RH-0345, *Culex pipiens*, هيدروكربونات الجليد.

# ANNEXES

## **PRODUCTION SCIENTIFIQUE:**

### **I/ Publication Internationale:**

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

### **II/Communications Internationales :**

1. Djeghader N., boudjelida H. & **amira K.** Action d'un régulateur de croissance des insectes contre les Culicidae. Le 23<sup>ème</sup> *Forum des Sciences Biologiques et de Biotechnologie* Yasmine Hammamet, Tunis ; du 21 au 24 mars 2012.
2. **Amira K.**, boudjelida H. Action d'un régulateur de croissance des insectes, le RH-0345 sur le développement et la reproduction de *Culex pipiens*. Les 3<sup>èmes</sup> *journées scientifiques de l'ATT Toxicologie-Environnement-Santé*, 03-05 Février 2012, Tabarka, Tunis.
3. **Amira K.**, boudjelida H. & djeghader N. Les régulateurs de croissance des insectes et les moustiques: essai de lutte. Le 23<sup>ème</sup> *Forum des Sciences Biologiques et de Biotechnologie*, Yasmine Hammamet, Tunis, du 21 au 24 mars 2012.
4. **Amira K.**, boudjelida H. & djeghader N. Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires de moustiques *Culex pipiens*. *Quatrièmes journées scientifiques sur la valorisation des bioressources*, du 04 au 05 mai 2013, à l'Hôtel Tour Khalef, Tunisie.
5. Djeghader N., boudjelida H. & **amira K.** Evaluation de l'effet d'un régulateur de croissance des insectes (I.G.Rs) sur le développement et les métabolites des larves de moustiques *Culex pipiens*. *Quatrièmes journées scientifiques sur la valorisation des bioressources*, du 04 au 05 mai 2013, à l'Hôtel Tour Khalef, Tunisie.
6. **Amira K.**, boudjelida H. & djeghader N. Toxicité de l'halofenozide (RH-0345) sur les larves de *Culex pipiens*. *1er colloque international sur la préservation de l'environnement des régions semi-arides*. Le 20-21 Octobre 2013. Tebessa. Algérie.