



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة باجي مختار - عنابة.



UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA-

Faculté des Sciences

Département de Biologie

LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUEE

Thèse

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3^{ème} cycle en Biologie
Animale Environnementale, Option: Physiotoxicologie.

THEME

**Impact d'un régulateur de croissance des insectes,
novaluron sur *Culex pipiens*, aspects: développemental,
structural et hormonal.**

Présentée par: M^{lle}: DJEGHADER Nour EL-Houda

Jury:

Président : M. Nouredine SOLTANI.....Pr. Université Annaba.

Directeur de thèse : M. Hamid BOUDJELIDA.....Pr. Université Annaba.

Examineur : M^{me}. Fatiha BENDALI-SAOUDI.....Pr. Université Annaba.

Examineur : M^{me}. Fouzia TINE-DJEBBAR.....M.C. A. Université Tébessa.

Examineur : M^{me}. Aicha TADJINEPr. Université El Tarf.

Examineur : M. Malik LAAMARIPr. Université Batna.

Année universitaire:2013-2014

Remerciements

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

J'exprime mes plus vifs remerciements à M. **SOLTANI N.**, Professeur au département de Biologie et directeur du laboratoire de recherche (LBAA), qui m'avoir fait l'honneur de présider ce jury. Merci pour votre Confiance durant toutes ces années, pour vos précieux conseils et votre aide.

Je tiens à remercier mon encadreur, M. **BOUDJELIDA H.**, Professeur au département de Biologie, qui fut pour moi un directeur de thèse attentif et disponible. Son soutien sans taille pendant mon parcours universitaire, sa compétence, son aide précieuse pour ma recherche Bibliographique, sa rigueur scientifique et sa clairvoyance m'ont beaucoup appris. Ils ont été et resteront des moteurs de mon travail de chercheur.

Je tiens à remercier les membres de jury:

M^{me} **BENDALII-SAOUDI F.**, Professeur au département de Biologie animale, M^{me} **TINEDJEBBAR F.**, Maitre de conférences (A) à l'université de Tébessa, M^{me} **TADJINE A.**, Professeur au centre universitaire d'El Tarf, et M. **LAAMARI M.**, Professeur à l'université de Batna, d'avoir accepté de lire d'évaluer ce travail.

Je remercie également M^{me} **SOLTANI-MAZOUNI N.**, Professeur au département de Biologie Animale (Université Annaba), pour son aide concernant l'étude structural et M^{lle} **ARIBI N.**, Professeur au département de Biologie Animale (Université Annaba), pour l'étude hormonale.

Mes remerciements vont également à M. **BOUAZIZ A.**, Maitre assistant à l'université de Souk Ahras, M^{lle}. **AMIRA K.**, docteur à l'université d'Annaba et M. **HOUILIA A.**, doctorant en Ecologie Animale. J'espère que dans l'avenir nous aurons encore l'occasion de travailler et d'interagir ensemble.

J'associe à mes remerciements, ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail et plus particulièrement mes collègues au Laboratoire de Biologie Animale Appliquée; M^{mes} **DELHOUME H.**, **BENSALEM F.**, et M^{lles} **DJEMAOUNE A.**, **BOUZEREA H.**, Sans

oublier mes collègues en physiotoxicologie: **M^{me} NABTI D., et M^{lle} MANSOURI M.**

Chacun à votre façon, vous m'avez appris des choses dont je me souviendrai.

Enfin, les mots les plus simples étant les plus forts, j'adresse toute mon affection à ma famille, qui s'est consacrée à leur tâche avec dévouement et patience et ceci tout le long de mes études. Merci pour avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Est-ce un bon endroit pour dire ce genre de choses? Je n'en connais en tous cas pas de mauvais. Je vous aime !

SOMMAIRE:

I. INTRODUCTION	01
II. MATERIELS ET METHODES	05
1. Matériel biologique	05
1.1. Position systématique	05
1.2. Cycle de développement des moustiques	05
1.2.1. Les œufs de moustiques.....	06
1.2.2. Les stades larvaires.....	07
1.2.3. Le stade nymphal.....	08
1.2.4. Le stade adulte.....	09
1.3. Élevage de moustiques	10
2. Matériel chimique	10
2.1. Propriétés physico-chimiques	11
2.2. Essais toxicologiques	11
3. Effet du novaluron sur le développement de <i>Culex pipiens</i>	13
4. Dosage des métabolites	13
4.1. Extraction des métabolites.....	13
4.2. Dosage des glucides.....	14
4.3. Dosage des lipides.....	14
4.4. Dosage des protéines.....	15
5. Effet du novaluron sur les ecdystéroïdes de <i>Culex pipiens</i>	17

5.1. Principe du dosage des ecdystéroïdes.....	17
5.2. Extraction des hormones.....	17
5.3. Dosage des ecdystéroïdes.....	17
6. Etude structurale de la cuticule de <i>Culex pipiens</i>	20
6.1. Microscopie électronique à transmission.....	20
6. 2. Observations et mensuration des coupes.....	21
7. Effet du novaluron sur le potentiel de la reproduction de <i>Culex pipiens</i>	21
III. RESULTATS	23
1. Toxicité du novaluron sur le stade larvaire L3	23
1.1. Action directe	23
1.2. Action cumulée.....	26
2. Toxicité du novaluron sur le stade larvaire L4	28
2.1. Action directe	28
2.2. Action cumulée.....	31
3. Effet du novaluron sur le développement de <i>Culex pipiens</i>	33
3.1. Effet du novaluron sur la durée de développement de <i>Culex pipiens</i>	33
3.2. Effet du novaluron sur la taille des larves de <i>Culex pipiens</i>	35
3.3. Effet du novaluron sur l'aspect morphologique.....	36
4. Effet du novaluron sur les métabolites de <i>Culex pipiens</i>	37
4.1. Poids corporel des larves L4 de <i>Culex pipiens</i>	37

4.1. Quantité de glucides des larves L4 de <i>Culex pipiens</i>	38
4.2. Quantité de lipides des larves L4 de <i>Culex pipiens</i>	39
4.3. Quantité de protéines des larves L4 de <i>Culex pipiens</i>	41
5. Effet du novaluron sur les ecdystéroïdes des larves L4 de <i>Culex pipiens</i>	42
6. Etude structurale de la cuticule des larves L4 de <i>Culex pipiens</i>	44
7. Effet du novaluron sur le potentiel de la reproduction de <i>Culex pipiens</i>	47
7.1. Effet du novaluron sur le potentiel reproducteur après traitement des larves L4 de <i>Culex pipiens</i>	47
7.2. Effet du novaluron sur le potentiel reproducteur après traitement des œufs de <i>Culex pipiens</i>	48
IV. DISCUSSION	50
V. REFERENCES	59
VI. RESUMES	84
Résumé	84
Abstract	85
الملخص	86

Liste des figures

Figure 1: Cycle de développement biologique du moustique <i>Culex pipiens</i> (photo personnelle).....	6
Figure 2: Nacelle d'œufs de <i>Culex pipiens</i> (X 16,16) (www.google.com/image).....	7
Figure 3: Morphologie générale d'une larve de moustiques (X17,5) (www.google.com/image).....	8
Figure 4: Nymphe de moustiques (X 20,18) (www.google.com/image)	8
Figure 5: Aspect général d'un moustique adulte (X17,83) (www.google.com/image).....	9
Figure 6: Matériels d'élevage de moustique au laboratoire (photo personnelle).....	10
Figure 7: Structure chimique du novaluron (www.google.com/image).....	11
Figure 8: Extraction et dosage des glucides lipide et protéine selon shibko <i>et al.</i> (1966)...	16
Figure 9: Principe du dosage EIA d'après Porcheron <i>et al.</i> (1989).....	19
Figure 10: La droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée des larves L3 en fonction des logarithmes décimaux des concentrations (R^2 = coefficient de détermination): Action directe.....	25
Figure 11: La droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée des larves L3 en fonction des logarithmes décimaux des concentrations (R^2 = coefficient de détermination): Action cumulée.....	28
Figure 12: La droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée des larves L4 en fonction des logarithmes décimaux des concentrations (R^2 = coefficient de détermination): Action directe	30
Figure 13: La droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée des larves L4 en fonction des logarithmes décimaux des concentrations (R^2 = coefficient de détermination): Action cumulée.....	33
Figure 14: Effet du novaluron (CL_{50} = 0,20 μ g/l et CL_{90} = 0,69 μ g/l) sur la taille des larves L3 de <i>Culex pipiens</i>	35
Figure 15: Effet du novaluron (CL_{50} = 0,33 μ g/l et CL_{90} = 0,75 μ g/l) sur la taille des larves L4 de <i>Culex pipiens</i>	36
Figure 16: Aspects morphologiques observés au cours du traitement au novaluron (A: Gonflement du thorax, B: Absence de mélanisation, C et D : Blocage et Exuviation incomplète de la nymphe) (photos personnelles).....	37

Figure 17: Dosage des glucides totaux de <i>Culex pipiens</i> : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité du glucose (μg) (R^2 = coefficient de détermination).	39
Figure 18: Effet du novaluron ($CL_{50}= 0,33 \mu\text{g/l}$ et $CL_{90}= 0,75 \mu\text{g/l}$) sur le taux des glucides ($\mu\text{g/mg}$) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> ($m \pm SE$, $n= 10$).	39
Figure 19: Dosage des lipides totaux de <i>Culex pipiens</i> : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides (μg) (R^2 : coefficient de détermination).	40
Figure 20: Effet du novaluron ($CL_{50}= 0,33 \mu\text{g/l}$ et $CL_{90}= 0,75 \mu\text{g/l}$) sur le taux des lipides ($\mu\text{g/mg}$) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> ($m \pm SE$, $n= 10$).	42
Figure 21: Dosage des protéines totales de <i>Culex pipiens</i> : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) (R^2 : coefficient de détermination).	42
Figure 22: Effet du novaluron ($CL_{50}=0,33 \mu\text{g/l}$ et $CL_{90}=0,75 \mu\text{g/l}$) sur le taux des protéines ($\mu\text{g/mg}$) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> ($m \pm S$, $n= 75$).	42
Figure 23: Courbe de référence exprimant B/B0 en fonction du logarithme décimal de la concentration molaire de la 20-hydroxyecdysone (AC Polyclonal).	44
Figure 24: Contenu (pg20 E.equ/larve) de l'hormone de mue chez les larves L4 de <i>Culex pipiens</i> en utilisant un anticorps polyclonal (AC Lapin).	44
Figure 25: Effet du novaluron sur l'épaisseur de l'exocuticule des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> après	45
Figure 26: Effet du novaluron sur l'épaisseur de l'endocuticule des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> après	45

Liste des tableaux

<u>Tableau 1:</u> Réalisation de la gamme d'étalonnage des glucides	14
<u>Tableau 2:</u> Réalisation de la gamme d'étalonnage des lipides.....	15
<u>Tableau 3:</u> Réalisation de la gamme d'étalonnage des protéines.....	15
<u>Tableau 4:</u> Mortalité observée (%) des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> , après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75) : Action directe.....	24
<u>Tableau 5:</u> Mortalité corrigée (%) des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> , après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75) : Action directe.....	24
<u>Tableau 6:</u> Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> après traitement au novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75) : Action directe.....	24
<u>Tableau 7:</u> Analyse de la variance des données transformées lors du traitement au novaluron des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> : Action directe.....	25
<u>Tableau 8:</u> Transformation en logarithmes décimaux les concentrations testées et en probits des mortalités corrigées après traitement des L3 de <i>Culex pipiens</i> : Action directe	25
<u>Tableau 9:</u> Toxicité du novaluron à l'égard des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> : Action directe	26
<u>Tableau 10:</u> Mortalité observée (%) des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> , après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75) : Action cumulée.....	26
<u>Tableau 11:</u> Mortalité corrigée (%) des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> , après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75) : Action cumulée.....	27
<u>Tableau 12:</u> Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> après traitement au novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75) : Action cumulée.....	27
<u>Tableau 13:</u> Analyse de la variance des données transformées lors du traitement au novaluron des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> : Action cumulée.....	27

Tableau 14: Transformation en logarithmes décimaux les concentrations testées et en probits des mortalités corrigées après traitement des L3 de <i>Culex pipiens</i> : Action cumulée.....	27
Tableau 15: Toxicité du novaluron à l'égard des larves L3 de <i>Culex pipiens</i> : Action cumulée.....	28
Tableau 16: Mortalité observée (%) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> , après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75): Action directe.....	29
Tableau 17: Mortalité corrigée (%) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> , après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75): Action directe.....	29
Tableau 18: Transformation angulaire du tau de mortalité corrigée des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> après traitement au novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75): Action directe.....	29
Tableau 19: Analyse de la variance des données transformées lors du traitement au novaluron des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> : Action directe.....	30
Tableau 20: Transformation en logarithmes décimaux les concentrations testées et en probits des mortalités corrigées après traitement des L4 de <i>Culex pipiens</i> : Action directe.....	30
Tableau 21: Toxicité du novaluron à l'égard des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> : Action directe.....	30
Tableau 22: Mortalité observée (%) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> , après traitement par différentes concentrations du novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75): Action cumulée.....	31
Tableau 23: Mortalité corrigée (%) des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> , après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75): Action cumulée.....	32
Tableau 24: Transformation angulaire du tau de mortalité corrigée des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> après traitement au novaluron (C: concentrations; R: répétitions; m ± SE; n= 75): Action cumulée.....	32
Tableau 25: Analyse de la variance des données transformées lors du traitement des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> par le novaluron: Action cumulée.....	32
Tableau 26: Transformation en logarithmes décimaux les concentrations testées et en probits des mortalités corrigées après traitement des L4 de <i>Culex pipiens</i> : Action cumulée.....	33

<u>Tableau 27:</u> Toxicité du novaluron à l'égard des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> : Action cumulée	33
<u>Tableau 28:</u> Durée (j) de développement (larvaire et nymphale), après traitement au novaluron avec les concentrations létales (CL ₅₀ ; CL ₉₀), des larves L3 nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> . (n = 20 : 60).....	34
<u>Tableau 29:</u> Durée (j) de développement (larvaire, nymphale et adulte), après traitement au novaluron avec les concentrations létales (CL ₅₀ ; CL ₉₀), des larves L4 nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> . (n = 20 : 60).....	35
<u>Tableau 30:</u> Poids des larves L4 (B) de <i>Culex pipiens</i> après traitement par le novaluron (m ± SE, n=10).....	38
<u>Tableau 31:</u> Courbe de référence établie avec un anticorps polyclonal et exprimant B/B0 en fonction des concentrations molaires (M) de la 20 Hydroxyecdysone.....	31
<u>Tableau 32:</u> Effet du novaluron sur les paramètres du potentiel reproducteur après traitements des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> (n= 20 femelles, durée = 30j).....	48
<u>Tableau 33:</u> Réduction de la fécondité et du pourcentage d'éclosion des œufs de <i>Culex pipiens</i> après traitement des larves L4 de <i>Culex pipiens</i> (n=20 femelles, durée = 30j)	48
<u>Tableau 34:</u> Effet du novaluron sur le pourcentage d'éclosion (%) après traitements des œufs de <i>Culex pipiens</i>	49

INTRODUCTION

Introduction

I. INTRODUCTION:

Les invertébrés, représentent plus de 95% des espèces du règne animal (Wilson *et al.*, 1999), sont présents presque dans tous les types d'écosystèmes et constituent une part très importante de la biodiversité des milieux terrestres et aquatiques. Les Arthropodes sont l'un d'embranchements des invertébrés les plus importants, avec plus d'un million d'espèces connues, dont les trois quarts de ses espèces appartenant à la classe des insectes (Gourmelon & Ahtiainen, 2007). L'importance de cette classe ne s'exprime pas seulement par le nombre d'espèces (Chapman, 2009), mais aussi par l'étendue de leurs habitats et la diversité des formes (Regniere, 2009). La plupart des insectes sont inoffensifs, certains ont un intérêt économique, par contre d'autres tels que les diptères hématophages ont un impact sur la santé humaine et animale (Marquardt, 2005). Ces diptères en raison de leur hématophagie occupent une place toute particulière à cause des nuisances considérables qu'ils peuvent occasionner, mais surtout à cause de leur rôle de vecteur potentiel de divers agents pathogènes (virus, bactéries, protozoaires, etc) (Takken & Knols, 2007; Mavoungou *et al.*, 2008). Ils sont répartis dans diverses familles telles que les Tabanidae (les taons), les Psychodidae (les phlébotomes) et les Cératopogonidae (les culicoides), mais la famille la plus connue est celle des Culicidae regroupant les moustiques (Mullen & Durden, 2002).

Les moustiques, comptés plus de 3500 espèces, sont réparties majoritairement au sein de trois genres principaux *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* (Alves *et al.*, 2010). Les femelles de ces espèces vectrices, contrairement aux mâles, sont hématophages et possèdent de longues et fines pièces buccales (Harbach, 2007), qui après avoir traversées les tissus cutanés perforent avec précision les capillaires veineux dont elles absorbent le sang en deux à trois minutes. Lorsque le moustique est affecté par un agent pathogène, il l'inocule à son hôte lors de la piqûre par la salive infectée. Les maladies vectorielles transmises par les moustiques sont présente dans toutes les régions du monde, et représentent aujourd'hui 14 % des maladies infectieuses et 28 % des maladies émergentes qui pèsent lourdement sur la santé publique et l'économie mondiale (Morens *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 2008; Tolle, 2009). Parmi les maladies les plus importantes on retrouve le paludisme, transmis par les moustiques du genre *Anopheles*, est une maladie parasitaire potentiellement mortelle a causé une mortalité qui avoisine le 863 000 décès en 2008 (WHO, 2009). Au paludisme s'ajoute le virus de la dengue, responsable d'épidémies où surviennent des fièvres hémorragiques, dont 50 à 100 millions de nouveaux cas de cette maladie sont détectés chaque année en Amérique et en Asie

Introduction

(Suaya *et al.*, 2009), ses principaux vecteurs sont *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* (Halstead, 2007; La Ruche *et al.*, 2010; Schmidt-Chanasit *et al.*, 2010). Les moustiques peuvent également être vecteurs d'agents pathogènes de maladies animales comme l'encéphalite équine ou de zoonoses comme le Virus du Nil Occidental (WNV); qui est aujourd'hui présent sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique faisant de lui le virus le plus répandu dans le monde (Kramer *et al.*, 2008). Ce virus (WNV), transmis par les moustiques du genre *Culex* (Campbell *et al.*, 2002), a fait son apparition en Algérie en 1994 et était responsable de 20 cas dont 8 décès (Le Guenno *et al.*, 1996). Le virus de l'encéphalite japonaise, est une autre zoonose transmis aussi par des moustiques du genre *Culex*, s'est étendu récemment dans le sous-continent indien et en Australie (Gould *et al.*, 2008).

En Algérie, la faune Culicidienne, par sa large répartition et sa forte abondance, a fait l'objet d'un grand nombre de travaux concernant la systématique et la morphométrie (Messai *et al.*, 2010; Bouabida *et al.*, 2012; Boudemaghe *et al.*, 2012; Bendali *et al.*, 2013), la biochimie (Bendali, 2006; Bouaziz *et al.*, 2011) et surtout la lutte chimique et biologique (Bendali *et al.*, 2001; Boudjelida *et al.*, 2002; Soltani *et al.*, 2010; Tabti & Abdellaoui-Hassaine, 2013). La lutte contre ces vecteurs de maladies a pris beaucoup d'ampleur avec le temps, soit par l'utilisation de certaines Bactéries (Boudjelida *et al.*, 2008; Aïssaoui & Boudjelida, 2014), soit par l'utilisation des poissons larvivores (Ghosh *et al.*, 2005; Chandra *et al.*, 2008; Pramanik & Aditya 2009), ou encore par l'utilisation des plantes (Dharmagada *et al.*, 2005; George & Vincent, 2005; Dua *et al.*, 2006). Mais, l'utilisation des pesticides chimiques reste le principal moyen de lutte et de contrôle des populations de moustiques (Becker *et al.*, 2010). Parmi les grandes familles de pesticides, on distingue les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates. Beaucoup de molécules appartiennent à chacune de ces familles sont révélées également toxiques et agissent sur le système nerveux (Colborn, 2006; Grandjean & Landrigan, 2006). La neurotoxicité, la non sélectivité et l'application abusive et répétée de ces produits chimiques a conduit non seulement à la pollution de l'environnement (Paoletti & Pimentel, 2000), à leur accumulation dans les chaînes trophiques en affectant ainsi la santé humaine et animale (Norman, 2000; Snedeker, 2001; Den Hond & Schoeters, 2006; Schoeters & Hoogenboom, 2006; Bonde *et al.*, 2008), mais aussi à l'apparition de certains phénomènes de résistance chez certaines espèces de moustiques (Lima *et al.*, 2011; Belinato *et al.*, 2012; Osta *et al.*, 2012), comme chez d'autres espèces d'insectes (Yang *et al.*, 2009; Carvalho *et al.*, 2013).

Introduction

Toutes ces raisons ont motivé les chercheurs de trouver d'autres alternatives aux insecticides classiques (kim *et al.*, 2000) et ont conduit à la découverte de nouveaux composés chimiques, sélectives et non polluantes (Grafton-Cadwell *et al.*, 2005) dégradables et semblent non toxiques pour les organismes non visés (Kostyukovsky *et al.*, 2000), nommées les régulateurs de croissance des insectes (Insect Growth Regulators: I.G.Rs). Ces molécules agissent sur les deux principales hormones de développement et de la reproduction des insectes; l'hormone juvénile (HJ) et l'hormone de mue, mais aussi sur un composé majeur de la cuticule, la chitine, perturbant ainsi la mue, la métamorphose et leur régulation endocrine (Ishaaya, 1990; Dhadialla *et al.*, 2005). Les I.G.Rs sont regroupés en trois catégories selon leur mode d'action, soit des analogues de l'hormone juvénile, soit des analogues de l'hormone de mue, ou bien des inhibiteurs de la synthèse de la chitine. Les analogues de l'hormone juvénile, agissent sur la sécrétion cuticulaire en induisant chez les individus traités, un stade surnuméraire des larves permanentes ou des intermédiaires larve-pupe (Gorman *et al.*, 2002), tandis que les analogues de l'hormone de mue mimant l'action de la 20E en se fixant sur les récepteurs spécifiques des ecdystéroïdes entraînant des mues prématurées et létales (Dhadialla *et al.*, 1998). Les inhibiteurs de la synthèse de la chitine (I.S.C), dont le diflubenzuron (DFB) est le plus connu, entrave la mue larvaire en interférant avec la biosynthèse de la chitine; un polymère linéaire de N-acétylglucosamine représentant 5 à 25 % de la cuticule des insectes et 2 à 72% de la masse corporelle des arthropodes (Merzendorfer & Zimoch, 2003), en altérant ainsi la structure cuticulaire (Hassan, 2009; Salokhe *et al.*, 2013). L'efficacité de ces molécules a été testée à l'égard de plusieurs ordres d'insectes, tels que les lépidoptères, les coléoptères ainsi que les diptères (Khalil *et al.*, 2010; Sial & Brunner, 2010; Chandra *et al.*, 2013; Singh & Johnson, 2013).

La présente étude consiste à évaluer l'efficacité d'un inhibiteur de la synthèse de la chitine (novaluron) sur l'espèce de moustique, *Culex pipiens*, qui présente le plus d'intérêt en Algérie, vue de sa large répartition géographique et son abondance principalement dans les zones urbaines. Une première partie du travail a été destinée à l'étude toxicologique du novaluron sur des différents stades de développement de *Culex pipiens*. Ensuite, pour une meilleure compréhension du mode d'action de cette molécule, les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) ont fait l'objet d'une autre partie d'investigation sur l'effet du novaluron sur plusieurs aspects; biochimique, hormonal, structural et de reproduction, dans le but de proposer les I.G.R.s comme une bonne alternative des pesticides conventionnels pour lutter

Introduction

contre les moustiques vecteurs de maladie, afin de réduire leur rôle épidémiologique sur la santé humaine et animale tout en respectant l'environnement.

MATERIELS ET METHODES

II. MATERIELS ET METHODES:

Le présent travail consiste à évaluer l'efficacité d'un régulateur de croissance des insectes, novaluron, à l'égard d'une espèce à intérêt médical, *Culex pipiens*, sur le développement, la composition biochimique, le profil hormonale des ecdystéroïdes, la structure cuticulaire et la potentiel de la reproduction.

1. Matériel biologique:

Le matériel biologique est représenté par l'espèce de moustique la plus abondante dans les zones urbaines, *Culex pipiens*, c'est un moustique capable de coloniser différents biotopes, grâce à sa forte capacité d'adaptation (Savage & Miller, 1995). Les diptères du genre *Culex* sont des agents nuisants et des vecteurs compétents pour plusieurs agents pathogènes affectant l'homme et les animaux, tel est le cas du virus du Nil occidental et de la fièvre de la Vallée du Rift (Moutailler *et al.*, 2008; Krida *et al.*, 2011; Reusken *et al.*, 2011).

1.1. Position systématique :

La position systématique de l'espèce étudiée selon Linné (1857) est la suivante:

Règne :	Animalia
Embranchement :	Arthropoda
Classe :	Insecta
Ordre :	Diptera
Famille :	Culicidae
Genre :	<i>Culex</i>
Espèce :	<i>Culex pipiens</i>

1.2. Cycle de développement des moustiques:

Les moustiques sont des insectes holométabole, qui au cours de leur cycle de développement passent par une première vie aquatique contenant les œufs, les stades larvaires et le stade nymphale puis, après la métamorphose, une vie aérienne comprenant le stade adulte (Figure 1) (Clements, 2000). Ce cycle dure environ douze à vingt jours dans les conditions optimales. L'accouplement des moustiques a lieu en vol ou dans la végétation et il

ne se fait en générale qu'une seule fois durant leurs vies. La femelle, après la prise du sang, se pose dans un endroit abrité pour digérer son repas. La ponte des œufs aura lieu 2 à 4 jours après la prise du sang.

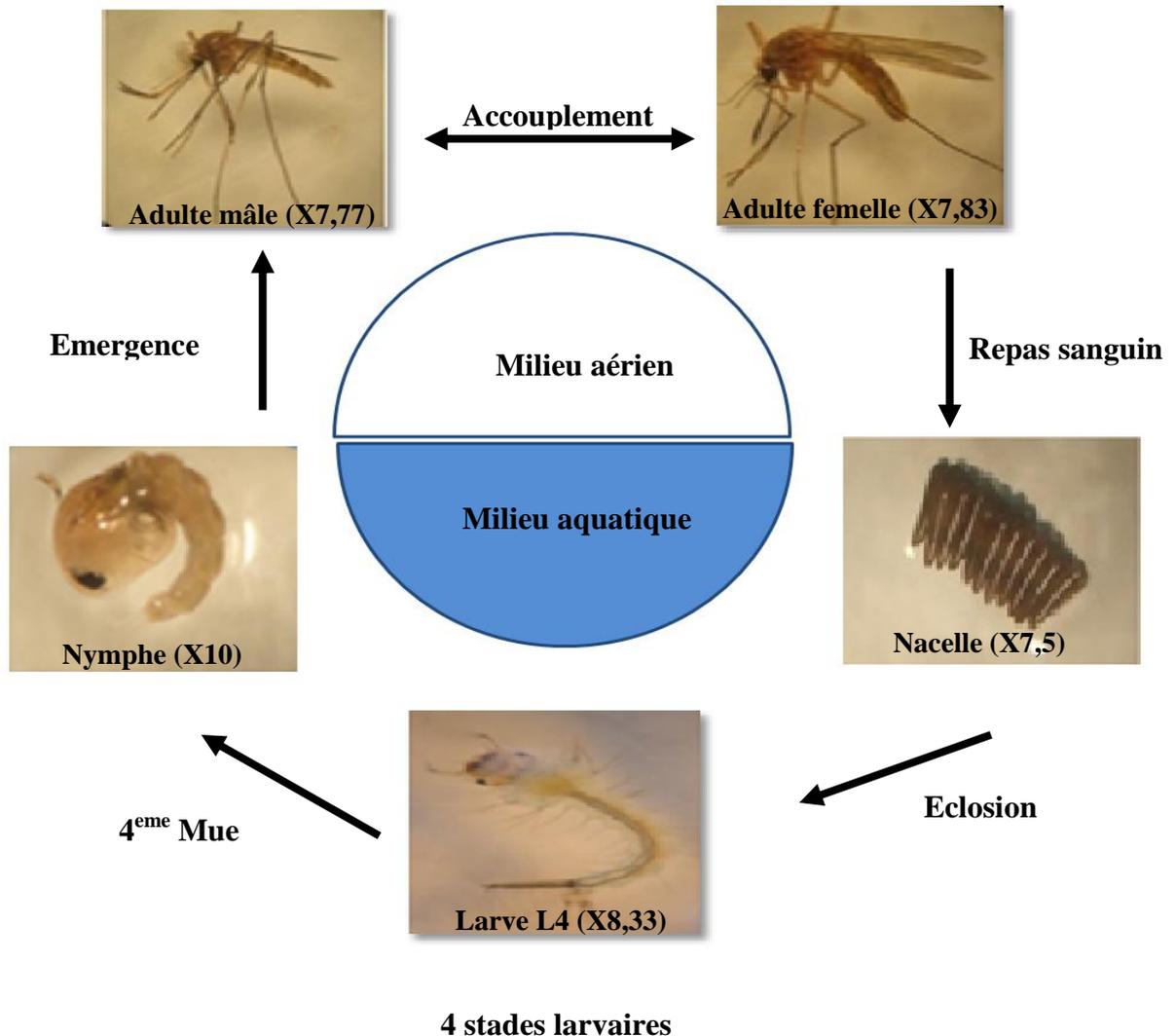


Figure 1: Cycle de développement biologique du moustique *Culex pipiens* (photo personnelle).

1.2.1. Les œufs de moustiques:

Selon les genres, les femelles gravides pondent leurs œufs de différentes manières, les œufs d'*Aedes* sont généralement déposés un par un sur un substrat humide à l'interface

air/eau. Les femelles du genre *Culex* pondent plus d'une centaine d'œufs à la surface de l'eau sous forme de barquettes ou nacelle (Figure 2), alors que les œufs du genre *Anopheles* sont pondus individuellement à la surface de l'eau. Le nombre des œufs pondus peut atteindre le 300 selon les espèces (Urquhart, 1996) qui éclosent en 24 à 48 heures (Ripert, 2007).

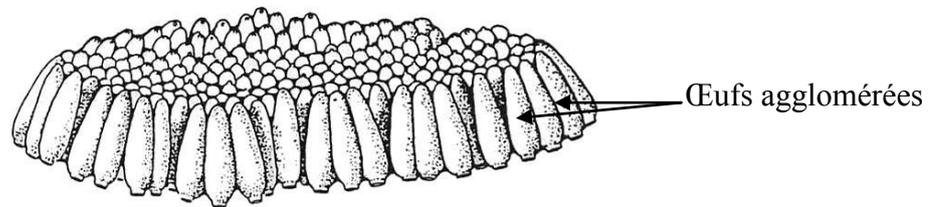


Figure 2: Nacelle d'œufs de *Culex pipiens* (X16,66) (www.google.com/image).

1.2.3. Les stades larvaires :

Pour tous les moustiques, le développement embryonnaire (dans l'œuf), commence pratiquement après la ponte des œufs. Au bout de quelques jours à une semaine où plus l'embryon se développe en larve entièrement formée, pour une grande partie des espèces la larve éclore une fois qu'elle est formée (Figure 3). Quatre stades larvaires se succèdent séparés chacun par une mue (Cachareul, 1997). La durée du stade larvaire varie selon les espèces de Culicidae, la température du milieu, la densité larvaire ainsi que la disponibilité en nourriture. Dans les zones tropicales, elle ne dure que quelques jours pour des espèces telles que *Aedes aegypti* et *Aedes albopictus* alors qu'en zone tempérée, elle peut durer plusieurs mois chez le moustique *Aedes rusticus* (Clements, 1992). Les larves peuvent être présentes dans des étendues d'eau permanentes ou temporaires, fortement polluées ou pures, grandes ou petites, même les plus petites accumulations d'eau dans les seaux, vases, pneus, empreintes, sont des habitats larvaires potentiels (Clements, 2000). Les larves de moustiques sont généralement considérées comme détritivores bien qu'elles se nourrissent aussi de micro-organismes vivants tels que les bactéries et les algues.

1.2.5. Le stade adulte :

L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau (Figure 5). Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours, et elles sont plus grandes que les mâles issus d'une même émergence (Clements, 1999). Les moustiques, comme beaucoup d'insectes se nourrissent de nectar, source d'énergie. Seules les femelles sont hémaphages; elles n'ont pas besoin de sang pour leur propre survie mais en retirent les protéines nécessaires à la maturation de leurs œufs. La fécondation des œufs s'effectue lors de la ponte grâce au stockage du sperme des mâles par la femelle dans une spermathèque. En général, la durée de vie des moustiques adultes varie d'une semaine à plus d'une trentaine de jours. Deux éléments permettent de distinguer le mâle de la femelle à l'œil nu; les palpes maxillaires sont très courts et effilés chez la femelle, contrairement au mâle où ils sont plus longs que la trompe et ses antennes sont plus développées et très poilues (Urquhart *et al.*, 1996; Euzéby, 2008).

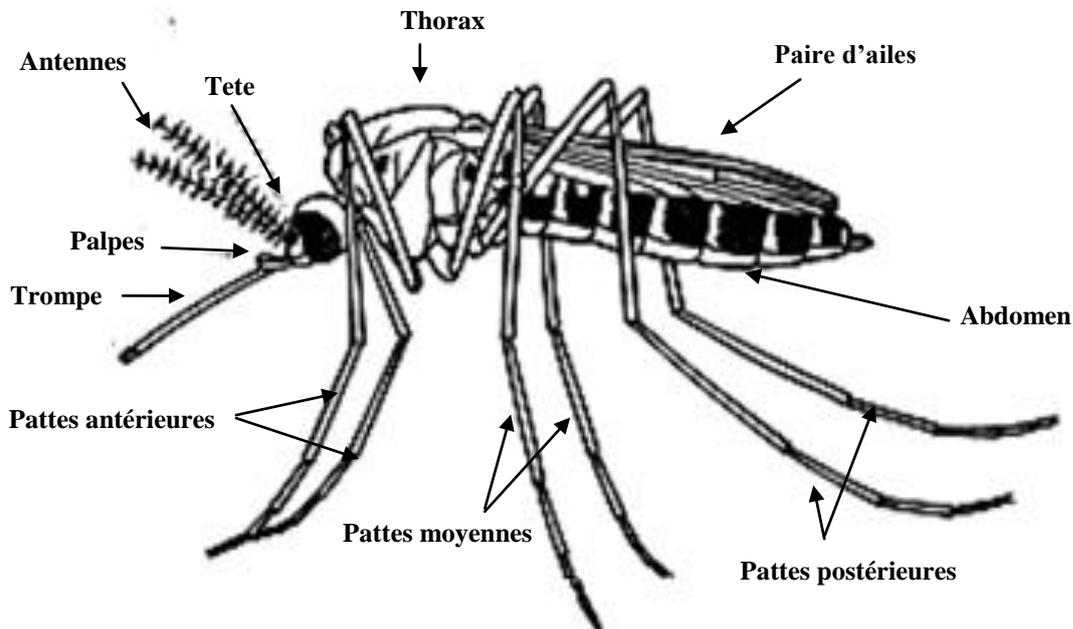


Figure 5 : Aspect général d'un adulte de moustique (X17,83) (www.google.com/image).

1.2.6. Elevage de moustiques :

L'élevage de moustiques a été réalisé sous les conditions de laboratoire avec une température de $25^{\circ} \pm 2$ et une photopériode journalière (Bendali *et al.*, 2001), dans des cages de forme cubiques (30 x 30 x 30 cm) avec une armature en bois, couverte de tulle comportant sur le coté un manchon qui permet l'introduction du matériels d'élevage (Figure 6). La capture des adultes a été effectuée au niveau des caves des bâtiments de l'agglomération de la commune de Sidi Ammar, à la wilaya d'Annaba, à l'aide d'un tube à essai posé rapidement sur les moustiques qui s'envolent et gagnent le fond du tube. Les adultes de moustiques sont nourris de dattes suspendues dans les cages d'élevage contenant des récipients remplis d'eau déchlorurée (Figure 6) où les femelles peuvent pondre des œufs en amas sous forme de nacelle flottante à la surface de l'eau. Une fois les œufs éclosent, les larves sont nourries d'un mélange de biscuit (75%) et de levure sèche (25%) (Bendali, 2006), qui permet un apport de protéines, de glucides et de Vitamine B (Andrean *et al.*, 1981). Une fois que les larves atteignent le stade nymphal, les pupes sont disposées dans des cages où elles se transformeront en adulte. Le changement de l'eau et l'ajout de la nourriture sont effectués tous les 2 à 3 jours.

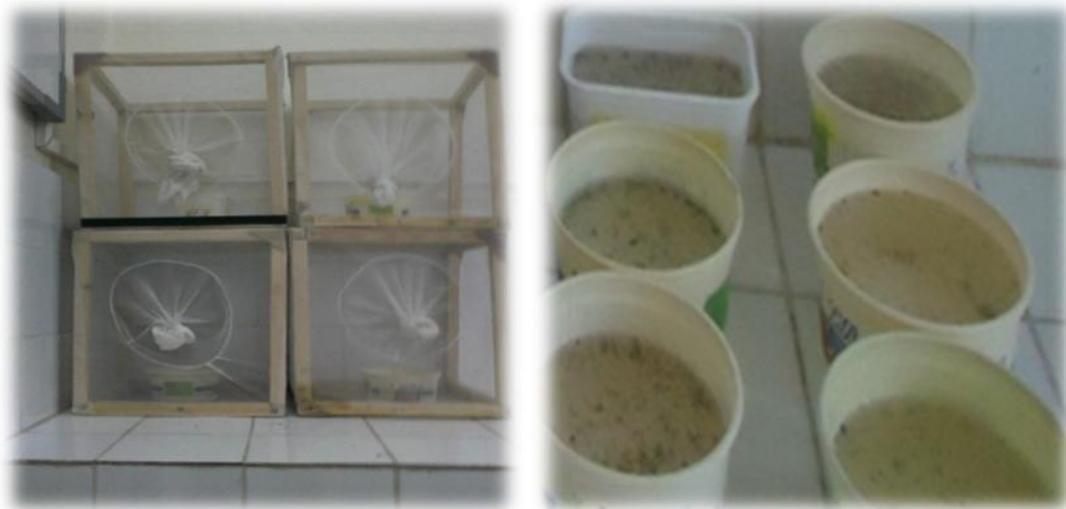


Figure 6: Matériels d'élevage des moustiques au laboratoire (photo personnelle).

2. Matériel chimique :

Le matériel chimique utilisé est présenté par le novaluron, qui est une molécule chimique appartenant à la classe des inhibiteurs de la synthèse de la chitine et à la famille des benzoylphenylurées (Figure 7). En interférant avec le processus de la biosynthèse de la

chitine, le novaluron (EC, courtesy by Rohm and Haas, Spring House, PA) comme toutes les substances actives des benzoylphénylurées vise sélectivement les stades larvaires (Cutler *et al.*, 2007) et provoque l'apparition d'un dépôt endocuticulaire anormal ce qui entraîne la mort de l'insecte (Farnesi *et al.*, 2012).

2.1. Propriétés physico-chimiques :

Les propriétés physico-chimiques du novaluron sont les suivantes:

Nom commun : Novaluron.

Nom chimique: N-[3-chloro-4-(1,1,2-trifluoro-2-trifluoromethoxyethoxy)phenyl]-3-(2,6-difluorobenzoyl)urea.

Formule empirique : $C_{17}H_9ClF_8N_2O_4$.

Famille chimique : benzoylphénylurée.

Poids moléculaire : 492,7 g/mol. T° de Fusion: 176 à 179 C°.

Solubilité dans l'eau: 3 µg/l.

Photolyse: 139jours.

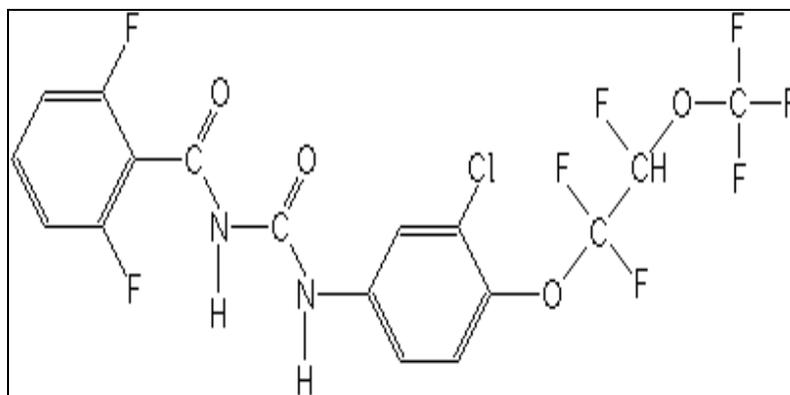


Figure 7: Structure chimique du novaluron (www.google.com/image).

2.2. Essais toxicologiques:

Les essais toxicologiques ont été réalisés à partir d'une formulation de 10% du novaluron avec différentes concentrations 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 et 0,9 (µg/l), à l'égard des larves L3 et L4 de *Culex pipiens*. Le traitement, pour les séries traitées et témoins de chaque stade, sont réalisés en trois répétitions pour chaque concentrations dans des récipients comportant chacun 25 larves nouvellement exuviées. Chaque récipient contient 500 ml d'eau d'élevage

additionnée aux concentrations choisies du produit testé. Après une exposition de 24h aux différentes concentrations, selon les recommandations de l'O.M.S, l'ajout de la nourriture et le changement d'eau sont effectués jusqu'à l'émergence des adultes. La toxicité du novaluron à l'égard du moustique *Culex pipiens* a été révélée après plusieurs étapes avec un logiciel MINITAB (version 13,31 PA State College, USA):

Mortalité observée (M.O): Le pourcentage de la mortalité observée chez les larves témoins et traitées de *Culex pipiens* a été déterminé par la formule suivante :

$$M.O = \frac{\text{Nombre de moustiques morts après traitement}}{\text{Nombre total de moustiques}} \times 100$$

Mortalité corrigée (M.C): Le pourcentage de la mortalité observée est corrigé par la formule d'Abott (1925), afin d'éliminer la mortalité naturelle, si elle est enregistrée dans la série des témoins (4 à 16%), et d'évaluer la toxicité réelle du novaluron.

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

La transformation angulaire : Les pourcentages de la mortalité corrigée subissent une transformation angulaire selon Bliss, cité par Fisher & Yates (1957), les données ainsi font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (traitement) réalisée avec le Minitab pour déterminer le seuil de signification (P).

L'analyse de probits : Les moyennes de la mortalité corrigée se convertissent en probits (Fisher & Yates, 1957) et les concentrations testés en logarithmes décimaux. Ces logarithmes décimaux en fonction des probits permettent de déterminer la droite de régression à partir de laquelle les CL₅₀ et CL₉₀ sont estimées (Finney, 1971).

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

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

Anti log X = CL₅₀. Ainsi que pour la CL₉₀.

L'intervalle de confiance : La méthode de Swaroop, (1965) précise l'intervalle de confiance avec une probabilité de 95%, en donnant la limite inférieure et supérieure de chaque concentration létale (CL₅₀ et CL₉₀).

Limite supérieure = CL₅₀ × FCL₅₀ et Limite inférieure = CL₅₀ / FCL₅₀

FCL₅₀ = Anti log C où $C = S (2.77/\sqrt{N})$ et $S = \frac{CL_{84}/CL_{50} + CL_{50}/CL_{16}}{2}$

N: Nombre des insectes morts entre la CL₁₆ et la CL₈₄; S: Slope.

3. Effet du novaluron sur le développement de *Culex pipiens* :

L'effet du novaluron sur le développement de *Culex pipiens* a été déterminé sur deux paramètres, la durée de développement et la longueur des séries larvaires traitées aux concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) ainsi que des séries témoins. L'effet du novaluron sur la durée de développement larvaire a été estimé par une action directe (enregistrée dans le stade traité) et indirecte (enregistrée dans les stades de développements qui suivent le stade traité) du produit testé avec plusieurs répétitions pour obtenir un nombre suffisants de larves survivantes. L'effet du novaluron sur la longueur des larves a été effectué sur 10 larves pour chaque âge; 1 et 3 jours pour les L3 et 1, 3, 5 et 7 jours pour les L4. Les larves et les nymphes mortes, sous l'effet de cet insecticide, ont fait l'objet d'une observation microscopique, afin d'enregistrer les différents aspects morphologiques.

4. Dosage des métabolites:

L'analyse biochimique des différents métabolites (protéines, glucides et lipides) a été effectuée sur le corps entier des larves L4 de *Culex pipiens* âgées de 1, 3, 5 et 7 jours, selon la méthode de Shibko *et al.* (1966) résumée dans la figure 8.

4.1. Extraction des métabolites:

L'extraction des métabolites a été conduit avec un nombre de 5 répétitions pour chaque traitement (CL₅₀, CL₉₀) ainsi que le témoin. Un groupe de 10 larves nouvellement exuviés, de chaque répétition, est pesé et homogénéisé dans 1 ml d'acide trichloracétique ou TCA (20 %). Après une première centrifugation de la solution broyée (5000 trs/min à 4°C, pendant 10 min), le surnageant (I) obtenu sert au dosage des glucides totaux selon la méthode de

Duchateau & Florkin (1959), tandis que le reste des tubes (culot I) est additionné du mélange en partie égale d'éther et de chloroforme et subie ensuite une seconde centrifugation (5000 trs/min à 4°C, pendant 10 min), qui donne un autre surnageant (II) destiné au dosage des lipides totaux (Goldsworthy *et al.*, 1972). Alors que, le culot (II) sera dissout dans de la soude (0,1 N) et utilisé pour la quantification des protéines totales selon Bradford (1976).

4.2. Dosage des glucides:

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de Duchateau & Florkin (1959). Elle consiste à additionner à 100 µl du surnageant I, contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone 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 glucide présente dans l'échantillon, et la lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La préparation du réactif d'anthrone se fait comme suit: à 150 mg d'anthrone est ajouté 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée, pour obtenir à la fin une solution limpide de couleur verte, utilisé après 4h d'obscurité. La quantité des glucides est calculée à partir de la gamme d'étalonnage, effectuée à partir d'une solution mère de glucose 1mg/1ml d'eau distillée (Tableau 1).

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

4.3. Dosage des lipides:

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.*, (1972) en utilisant la vanilline comme réactif. Le dosage des lipides se fait sur des prises de 100 µl du surnageant II qui subissent une évaporation totale puis 1ml d'acide sulfurique concentré a été ajouté, les tubes sont ensuite agités et mises pendant 10 min dans un bain de sable à 100 °C. Après refroidissement, 200 µl de ce mélange est ajouté à 2,5 ml de la vanilline et après 30 mn d'obscurité, une coloration rose se développe. La densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Le réactif est préparé comme suit: faire Dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée et ajouter 195 ml d'acide

Matériels et méthodes

orthophosphorique à 85%, ce réactif se conserve à l'obscurité. La quantité des lipides est calculée à partir de la droite de régression obtenue à partir de la gamme d'étalonnage, effectuée à partir d'une solution mère de lipides en ajoutant à 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V) (Tableau. 2).

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

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

4.4. Dosage des protéines:

Le dosage de protéines totales est effectué selon la méthode de Bradford (1976) en ajoutant à 100 μ l du culot II, 4 ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC) G 250 (Merck). La solution de BBC, se prépare comme suit: 100 mg de BBC est homogénéisée dans 50 ml d'éthanol (95°), ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% est additionné au mélange et ensuite compléter à 1000 ml avec l'eau distillée. 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 gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant 1 mg/ml d'eau distillée (Tableau.3).

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

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

Matériels et méthodes

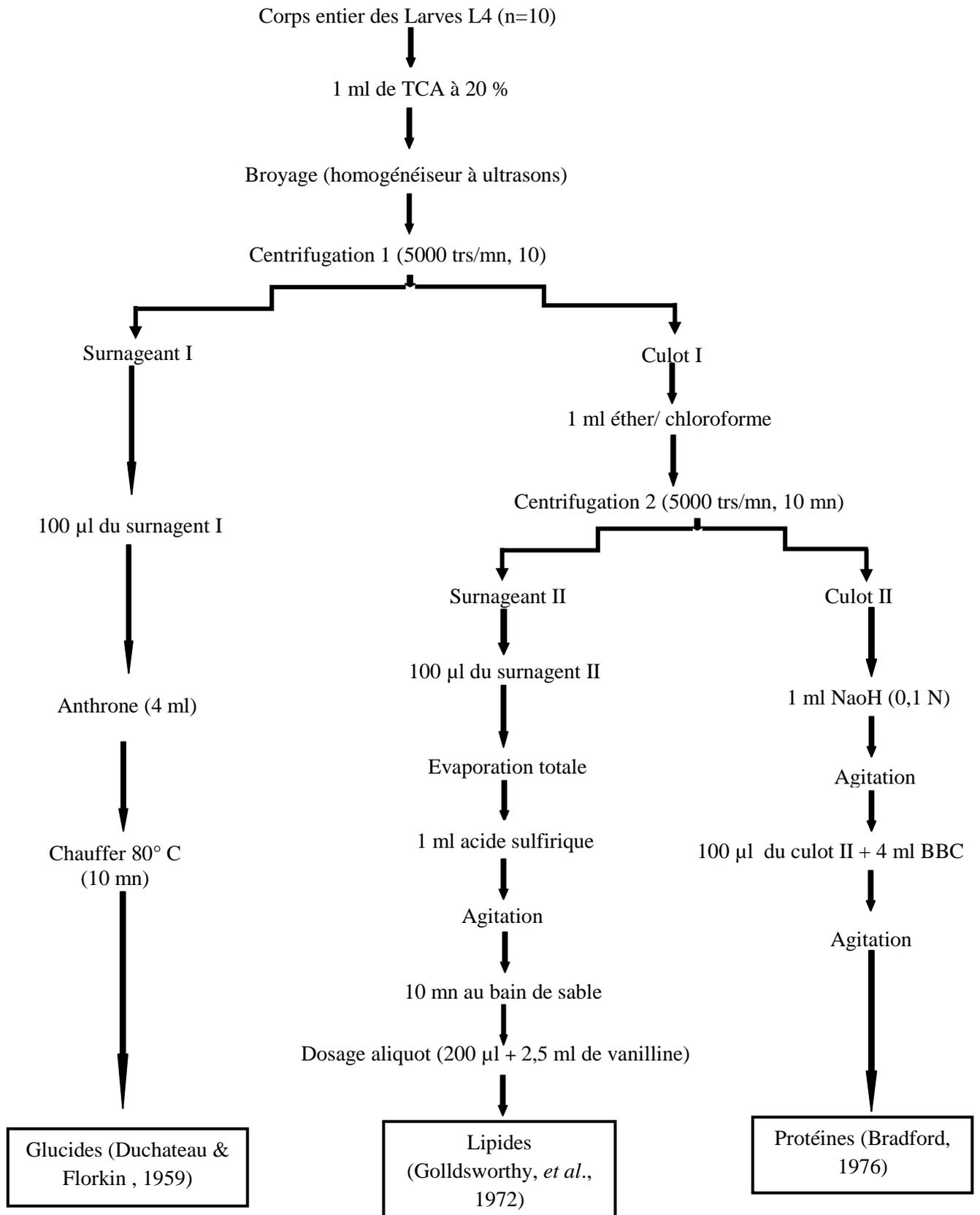


Figure 8 : Extraction et dosage des glucides, lipide et protéines.

5. Effet du novaluron sur les ecdystéroïdes de *Culex pipiens*:

Le profil hormonal des ecdystéroïdes a été déterminé par une méthode enzymo-immunologique (EIA). Cette technique a été adaptée à l'analyse de l'hormone de mue (20E) par Porcheron *et al.* (1989) et modifiée par De Reggi *et al.* (1992).

5.1. Principe du dosage:

Le principe de cette technique est de mettre en compétition le traceur enzymatique (la peroxydase couplée à la 2-succinyl-20E) et les ecdystéroïdes des échantillons biologiques pour les mêmes sites limités d'un anticorps anti-ecdystéroïde appelé anticorps primaire. Les échantillons sont fixés par un second anticorps (anticorps anti-immunoglobuline) retenu sur une microplaque à 96 puits (NUNC Immunoplate Maxisorp F96, Danemark). Après incubation, lavage et révélation, le signal colorimétrique (exprimé par les absorbances) sera inversement proportionnel à la quantité d'ecdystéroïdes contenus dans les échantillons et exprimé sous la forme d'un rapport:

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

B: absorbances de l'échantillon ou du standard.

B₀: absorbances en absence d'hormone.

T: absorbances en absence d'hormone et d'anticorps.

5.2. Extraction des hormones :

Le corps entier des séries témoins et traitées de différents âges (1, 2, 4 et 6 jours) préalablement pesés, est conservés dans des tubes eppendorf contenant 500 µl de méthanol. Après broyage aux ultrasons et une centrifugation à 2700 tours pendant 10 minutes, le surnageant est récupéré et évaporé dans un bain à sec réglé à 60°C. Les extraits secs obtenus sont dissous dans 500 µl de tampon EIA (Tampon phosphate (0,1M, pH 7,4) additionné de NaCl 0,4M, EDTA (Ethylene Diamine Tetra Acétique acide), BSA (Sérum Albumine Bovine), et eau distillée) et conservés au congélateur jusqu'au dosage.

5.3. Dosage des ecdystéroïde:

Le dosage des ecdystéroïdes est réalisé après plusieurs étapes résumées dans la figure 9, à savoir :

Coating et saturation des plaques: Le coating est un traitement qui permet de fixer les immunoglobulines anti-IgG de lapin (pour le dosage avec un anticorps polyclonal de lapin) sur la phase solide des microplaques, en distribuant 200 µl d'une solution purifiée d'immunoglobuline anti-IgG (Sigma, Angleterre) dans chaque puits. Cette solution est préparée en rajoutant 200 ml de solution mère de tampon phosphate (0,1M; pH=7,4) et 400 ml d'eau distillée à 2 mg d'anti-immunoglobuline. Les plaques sont laissées pendant 24 heures à une température ambiante. Ce traitement est suivi d'une saturation dans un tampon EIA à 0,3 % d'albumine bovine, distribué à raison de 100 µl dans chaque puits. Les plaques seront conservées à 4°C et peuvent être utilisées 12 heures après la saturation.

Distribution des différents éléments: Après lavage de la microplaque avec le tampon de lavage (Tampon phosphate additionné de tween 20 et d'eau distillée), afin d'éliminer la solution de saturation, la répartition des échantillons dans les différents puits se fait à l'aide d'une micropipette multicanaux, dans l'ordre suivant:

- Le premier puits de la première colonne est réservé au témoin dans lequel on distribue 100 µl du tampon EIA et 50 µl du traceur enzymatique.
- Les puits restants de la première colonne sont réservés aux blancs (B0), en absence d'hormone, dans lesquels on distribue 50 µl du tampon EIA, 50 µl du traceur enzymatique et 50 µl d'anticorps.
- Dans la deuxième et la troisième colonne, on distribue en double respectivement 50 µl des différentes concentrations des solutions standards (10^{-14} à 10^{-7}), 50 µl du traceur enzymatique et 50 µl d'anticorps.
- Tous les puits restants sont réservés aux échantillons à doser dans lesquels on distribue respectivement 50 µl d'échantillon, 50 µl du traceur et 50 µl d'anticorps. Le volume final dans chaque puits doit être de 150 µl. Enfin, la microplaque est mise sous agitation pendant trois heures à une température ambiante et à l'obscurité.

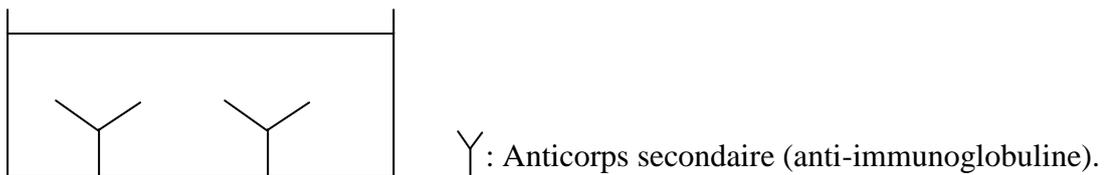
Lavage et révélation: Au terme de l'incubation, la microplaque est lavée afin d'éliminer tout élément non fixé sur l'anticorps utilisé. La révélation de la coloration se fait par la tétraméthyl-benzidine (TMB) pendant 30 à 45 mn et sous agitation.

Lecture des densités optiques: Les densités optiques sont mesurées à l'aide d'un lecteur de plaque à 630 nm, puis à 450 nm après addition d'acide sulfurique H_2SO_4 2N qui permet

Matériels et méthodes

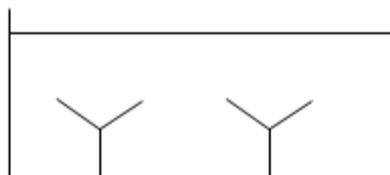
d'amplifier et de stabiliser la coloration. La quantification des taux des ecdystéroïdes a été réalisée à l'aide d'un logiciel Graphpad prisme version 5.00 et les résultats du dosage sont exprimés en pg équivalent 20E/Ech du corps entier des larves.

Etape1 : Coating pour 24 heures à température ambiante (Fixation des anticorps sur la microplaque) et saturation (12 heures à 4°C).

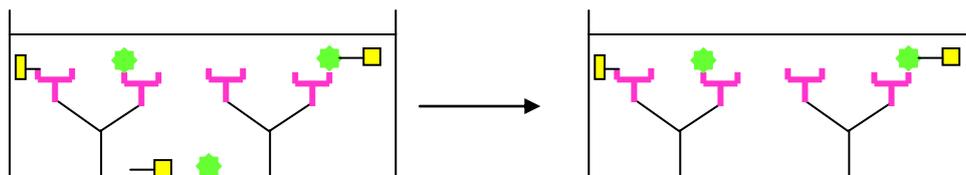


Etape2 : Distribution des différents éléments.

Le traceur enzymatique (—■), l'échantillon (●) et l'anticorps primaire (T)



Etape 3 : réaction immunologique puis lavage des éléments non fixés.



Etape 4 : Révélation de la peroxydase avec la TMB et lecture des densités optiques à 630 nm:

- Coloration faible → forte concentration d'ecdystéroïde.
- Coloration forte → faible concentration d'ecdystéroïde.

Figure 9: Principe du dosage EIA d'après Porcheron *et al.* (1989).

6. Etude structurale de la cuticule de *Culex pipiens*:

L'épaisseur de la cuticule a été déterminée sur des coupes semi-fines préparées selon la technique de microscopie électronique à transmission, réalisée par Karnovsky (1965) et modifiée par Friend & Farquhar (1967).

6.1. Microscopie électronique à transmission:

Les larves du stade L4 de *Culex pipiens* témoins et traitées avec le novaluron (CL₅₀ et CL₉₀), sont prélevées à différents âges (1, 4 et 6 jours) avec 3 répétitions de chaque série, et déposées dans des tubes eppendorf contenant du fixateur. Les échantillons doivent passer par plusieurs étapes afin d'éviter toute altération des tissus et assurer la stabilité de leur structure macromoléculaire.

-Fixation:

La fixation est généralement réalisée par des substances chimiques dites les fixateurs ayant la caractéristique de préserver les constituants cellulaires à leur état naturel. Le fixateur utilisé est composé d'un mélange de paraformaldéhyde 5 % (10 ml) et glutaraldéhyde 25 % (3 ml). A cette formulation est additionné de l'eau distillée (7 ml), de sucrose (1 ml) et de tampon cacodylate 0,4 M (5 ml). La fixation se pratique par immersion des pièces dans des tubes bien bouchés et étiquetés et stockés à 4°C. Après une fixation qui peut durer plusieurs semaines les spécimens sont rincés avec un mélange de cacodylate 0,4 M (10 ml), eau distillée (18 ml) et sucrose (12 ml), dans 2 bains de 20 minutes chacun et un troisième jusqu'au lendemain. Une post-fixation est réalisée dans le mélange tetroxyde d'osmium (2,5 ml), cacodylate (2,5 ml), sucrose et eau distillée (2 ml), pendant une heure.

-Déshydratation:

La déshydratation des échantillons est effectuée à l'aide d'alcool éthylique, dans des bains à degrés croissants 30°, 70°, 95° (10 minutes chacun) et 100° (3 fois 10 minutes). Les pièces subissent par la suite un bain d'oxyde de propylène (2 fois 30 minutes).

-Inclusion:

Pour cette étape, le milieu d'inclusion est la résine qui est préparée d'un mélange de 60 ml de DDSA (Dodecyl Sulfate Aldéhyde), 25 ml d'épidote et 20 ml d'araldite. L'inclusion est effectuée dans 3 bains. Le premier bain est réalisé avec des quantités égales d'oxyde de

propylène et de résine additionnée de 4 % d'accélérateur DMP 30 (2, 4,6-bis diméthyl-amino-méthyl-phénol) pendant une heure, le deuxième bain est fait dans un mélange de résine et d'accélérateur à 4 % jusqu'au lendemain et finalement un troisième bain qu'est effectué avec de la résine et de l'accélérateur 4 % pendant une heure. La dernière étape est la mise en bloc, réalisée dans des moules en forme de cercueil remplis de résine où les échantillons sont orientés. Les moules sont ensuite placés dans une étuve à 60°C, pour une polymérisation de la résine pendant toute la nuit.

-Microtomie et coloration des coupes semi-fines:

La confection des coupes est assurée par un ultra-microtome LBK 2088 muni d'un couteau en verre réalisés par un Knife Maker LBK 7800. Avant l'opération, le bloc est taillé puis collé au porte objet. Les coupes semi-fines d'une épaisseur de 1 à 2 μm sont obtenues et déposées sur des lames propres en verre, séchées et colorées au bleu de toluidine (Bleu de Toluidine à 1 % et Borax de Na à 1 % dans l'eau distillée) pendant 8 à 10 minutes. Les lames sont finalement prêtes à l'observation microscopique.

6.2. Observations et mensuration des coupes:

L'observation des lames est effectuée afin de révéler les coupes intéressantes qui expliquent la structure cuticulaire des séries témoins et traitées. La morphométrie des différentes coupes sélectionnées est effectuée à l'aide d'un microscope photonique pourvu d'un micromètre oculaire préalablement étalonné.

7. Effet du novaluron sur le potentiel de la reproduction de *Culex pipiens*:

Le potentiel de la reproduction du moustique *Culex pipiens* a été mené par deux expérimentations; la première consiste à faire exposer des larves L4 nouvellement exuviées, aux deux concentrations létales CL_{50} et CL_{90} . Après 24h de traitement, les larves sont placées dans des nouveaux récipients contenant de l'eau propre et de la nourriture jusqu'à l'émergence. Ensuite, un effectif égal des adultes mâles et femelles (20 adultes témoins et traités) a été retenu et mise en cage en déterminant ainsi le nombre des œufs pondus (compté sous binoculaire), la fécondité ainsi que le pourcentage d'éclosion. Dans une seconde expérimentation, un nombre des œufs nouvellement pondus (Témoins= 1588 œufs, CL_{50} = 1544 œufs, CL_{90} = 1562 œufs) issus des adultes élevés sous les conditions de laboratoire, a été exposées aux deux concentrations létales du novaluron jusqu'à l'éclosion, pour déterminer le

pourcentage d'éclosion (%). Les différents paramètres du potentiel de la reproduction ont été calculés par les formules suivantes:

La fécondité (F):

$$F = \frac{\text{Nombre total des oeufs pondus}}{\text{Nombre totale des femelles}} \times 100$$

La réduction de la fécondité:

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

Le pourcentage d'éclosion (PE):

$$PE = \frac{\text{Nombre des oeufs éclos}}{\text{Nombre des oeufs pondus}} \times 100$$

La réduction du pourcentage d'éclosion:

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

RESULTATS

III. RESULTATS:

1. Toxicité du novaluron sur le stade larvaire L3 de *Culex pipiens*:

Les essais toxicologiques du novaluron, effectués sur les stades de développement de *Culex pipiens*, sont présentés par la mortalité des larves suite aux traitements. La toxicité de cette molécule est déterminée par une action directe, exprimée par la mortalité enregistrée durant le stade traité (L3 ou L4), et une action cumulée exprimée par la mortalité enregistrée durant le stade traité jusqu'à l'émergence des adultes.

1.1. Action directe:

La mortalité observée après une exposition de 24h des larves L3 de *Culex pipiens*, des différentes séries d'expérience aux concentrations du novaluron, (0,1; 0,3; 0,5; 0,7 et 0,9 µg/l), est mentionnée dans le tableau 4. Pour la concentration la plus faible 0,1 µg/l un taux de 32 % est enregistré. Cette mortalité augmente en fonction des concentrations, jusqu'à 97,33 % pour la concentration la plus élevée 0,9 µg/l. La correction des mortalités observées a été effectuée selon la formule d'Abott et présentée dans le Tableau 5. La mortalité corrigée est toujours considérable avec des moyennes, qui varie entre 25,41 % et 97,05% pour les concentrations 0,1 et 0,9 µg/ respectivement. Une transformation angulaire des mortalités corrigées a été effectuée (Tableau 6) pour normaliser les données obtenues, et permet d'effectuer l'analyse statistique (ANOVA). L'analyse statistique à un seul critère de classification (traitement) révèle un effet hautement significatif ($P < 0,001$) pour les différentes concentrations du novaluron à l'égard des larves L3 de *Culex pipiens* (Tableau 7). Par la suite, une transformation des moyennes des mortalités corrigées en probits et les concentrations testées en logarithmes décimaux a été réalisée (Tableau 8), en déterminant l'équation de la droite de régression mentionnée dans la figure 10, dont le coefficient de détermination ($R^2 = 0,94$) révèle une liaison très forte entre les probits et les logarithmes décimaux. Les concentrations létales CL_{50} et CL_{90} , sont estimées à partir de l'équation et la droite de régression. La CL_{50} est de 0,21 µg/l avec un intervalle de confiance de 0,15 à 0,27 (µg/l) et la CL_{90} est de 0,69 µg/l avec un intervalle de confiance de 0,51 à 0,91 (µg/l) respectivement (Tableau 9).

Résultats

Tableau 4: Mortalité observée (%) des larves L3 de *Culex pipiens*, nouvellement exuviées, après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations; R: répétition; $m \pm SE$; $n= 75$).

R/C	Témoin	0,1 µg/l	0,3 µg/l	0,5 µg/l	0,7 µg/l	0,9 µg/l
R1	4	36	68	76	84	92
R2	4	28	56	88	88	100
R3	8	32	52	76	96	100
m ± SE	5,33 ± 1,88	32,00 ± 3,26	58,66 ± 8,32	80,66 ± 5,24	89,33 ± 4,98	97,33 ± 3,77

Tableau 5: Mortalité corrigée (%) des larves L3 de *Culex pipiens*, nouvellement exuviées, après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations, R: répétition, $m \pm SE$, $n= 75$).

R/C	0,1 µg/l	0,3 µg/l	0,5 µg/l	0,7 µg/l	0,9 µg/l
R1	33,33	66,66	75	83,33	91,16
R2	25	54,16	87,5	87,5	100
R3	23,91	47,82	73,91	95,65	100
m ± SE	25,41 ± 5,15	56,21 ± 7,82	78,80 ± 7,55	88,82 ± 5,11	97,05 ± 4,16

Tableau 6: Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée des larves L3 de *Culex pipiens* après traitement au novaluron (C: concentrations, R: répétitions, $m \pm SE$, $n= 75$).

R/C	0,1 µg/l	0,3 µg/l	0,5 µg/l	0,7 µg/l	0,9 µg/l
R1	35,06	54,33	60	65,65	72,54
R2	30	47,09	68,87	68,87	84,26
R3	28,66	43,78	58,69	77,08	84,26
m ± SE	32,24 ± 2,75	48,4 ± 4,40	62,52 ± 4,52	70,53 ± 4,81	80,35 ± 5,24

Résultats

Tableau 7: Analyse de la variance de données transformées lors du traitement au novaluron des larves L3 de *Culex pipiens*.

Source	Ddl	SC	CM	F. Obs	P
Factorielle	4	5171,5	1292,7	50,83	0,000***
Erreur	10	254,4	25,4		
Total	14	5425,8			

Tableau 8: Transformation en logarithmes décimaux les concentrations testées, et en probits les mortalités corrigées après traitement des L3 de *Culex pipiens*.

Concentrations ($\mu\text{g/l}$)	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9
Logarithme décimaux (X)	1	1,47	1,69	1,84	1,95
Mortalités corrigées (%)	25,41	56,21	78,80	88,82	97,05
Probits (y)	4,33	5,15	5,79	6,18	6,88

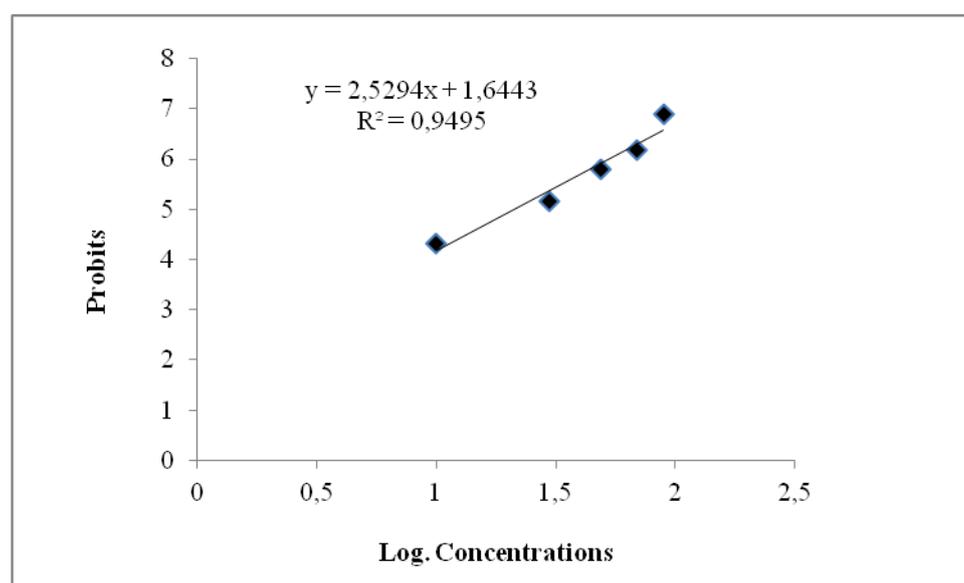


Figure 10: La droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée des larves L3 en fonction des logarithmes décimaux des concentrations (R^2 = Coefficient de détermination).

Résultats

Tableau 9: Toxicité du novaluron à l'égard des larves L3 de *Culex pipiens*.

Stade	Slope	CL ₅₀ (µg/l)	CL ₉₀ (µg/l)
		Intervalle de confiance (95%)	Intervalle de confiance (95%)
L3	2,4	0,15>0,21>0,27	0,51>0,69>0,91

1.2. Action cumulée:

L'action cumulée du novaluron sur les larves L3 qui est enregistrée jusqu'à l'émergence des adultes est présentée dans le tableau 10. Les taux de mortalité observée et cumulée, sont comprises entre 32% pour la concentration la plus faible 0,1 µg/l et 100% pour les concentrations les plus élevées (0,7 µg/l et 0,9 µg/l), avec une relation concentration – réponse. Les moyennes de la mortalité observée sont corrigées, pour éliminer les mortalités observées chez les témoins (Tableau 11), puis subissent une transformation angulaire (Tableau 12). Ensuite les données obtenus ont fait l'objet d'une analyse statistique à un seul critère de classification qui révèle un effet hautement significatif ($P < 0,001$) du produit testé sur l'ensemble des stades étudiés (Tableau 13). Par la suite une transformation des moyennes des mortalités corrigées en probits et des concentrations testées en logarithmes décimaux a été réalisée (Tableau 14), pour évaluer l'équation et tracer la droite de régression (Figure 11). Le coefficient de détermination de cette droite ($R^2 = 0,89$) révèle une liaison positive très forte entre les probits et les logarithmes décimaux. Les concentrations CL₅₀ et CL₉₀, déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement 0,16 µg/l avec un intervalle de confiance 0,13 à 0,18 (µg/l), et 0,30 µg/l avec un intervalle de confiance de 0,25 à 0,35 (µg/l) (Tableau 15).

Tableau 10: Mortalité observée (%) des larves L3 de *Culex pipiens*, nouvellement exuviées, après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations, R: répétitions, $m \pm SE$, $n = 75$).

R/C	Témoin	0,1 µg/l	0,3 µg/l	0,5 µg/l	0,7 µg/l	0,9 µg/l
R1	12	24	76	84	100	100
R2	8	36	68	92	100	100
R3	12	36	52	88	100	100
m ± SE	10,66 ± 1,88	32,00 ± 5,65	66,00 ± 7,88	88,00 ± 3,26	100,0 ± 0,00	100,0 ± 0,00

Résultats

Tableau 11: Mortalité corrigée (%) des larves L 3 de *Culex pipiens*, nouvellement exuviées, après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations, R: répétitions, $m \pm SE$, $n= 75$).

R/C	0,1 µg/l	0,3 µg/l	0,5 µg/l	0,7 µg/l	0,9 µg/l
R1	18,63	72,72	81,81	100	100
R2	30,43	65,21	91,30	100	100
R3	27,27	52,27	86,36	100	100
m ± SE	25,29 ± 5,19	63,73 ± 8,53	86,49 ± 3,87	100,00 ± 0,00	100,00 ± 0,00

Tableau 12: Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée des larves L3 de *Culex pipiens* après traitement au novaluron (C: concentrations, R: répétitions, $m \pm SE$, $n= 75$).

R/C	0,1 µg/l	0,3 µg/l	0,5 µg/l	0,7 µg/l	0,9 µg/l
R1	25,50	58,63	64,16	84,26	84,26
R2	33,21	53,73	72,54	84,26	84,26
R3	31,31	46,15	68,03	84,26	84,26
m ± SE	30,00 ± 3,27	52,83 ± 5,13	68,24 ± 3,42	84,26 ± 0,00	84,26 ± 0,00

Tableau 13: Analyse de la variance des données transformées lors du traitement au novaluron des larves L3 de *Culex pipiens*.

Source	Ddl	SC	CM	F.obs	P
Factorielle	4	6357,2	1589,3	108,47	0,000***
Erreur	10	146,5	14,7		
Total	14	6503,8			

Tableau 14: Transformation en logarithmes décimaux Les concentrations testées et en probits Les mortalités corrigées après traitement des L3 de *Culex pipiens*.

Concentrations (µg/l)	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9
Logarithmes décimaux (X)	1	1,47	1,69	1,84	1,95
Mortalités corrigées (%)	25,29	63,73	86,49	100	100
Probits (y)	4,33	5,35	6,09	8,71	8,71

Résultats

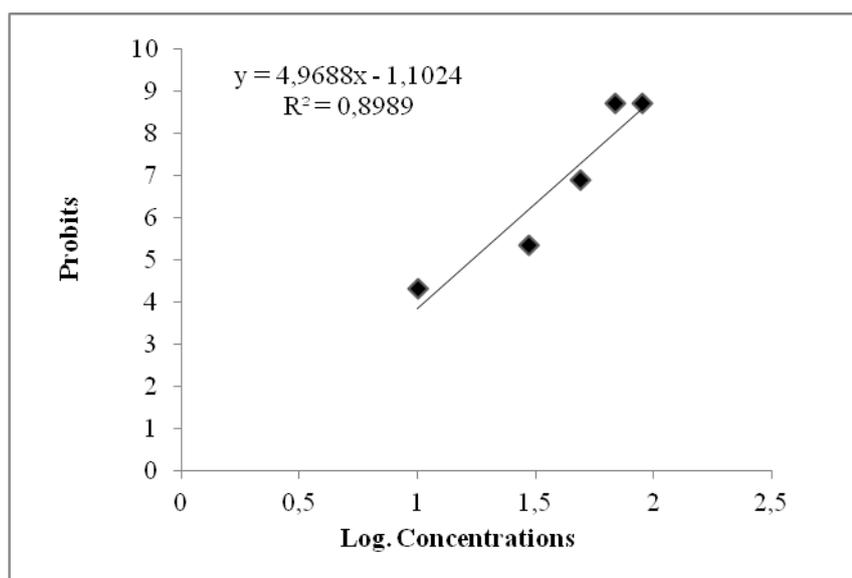


Figure 11: La droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée en fonction des logarithmes décimaux des concentrations (R^2 = Coefficient de détermination).

Tableau 15: Toxicité du novaluron à l'égard des larves L3 de *Culex pipiens*.

Stade	Slope	CL ₅₀ (µg/l)	CL ₉₀ (µg/l)
		Intervalle de confiance (95%)	Intervalle de confiance (95%)
L3	1,67	0,13>0,16>0,18	0,30>0,25>0,35

2. Toxicité du novaluron sur le stade larvaire L4:

2.1. Action directe:

L'efficacité du novaluron a été évaluée sur des larves L4 de *Culex pipiens* exposées pendant 24h à la même gamme de concentrations du novaluron de 0,1 à 0,9 µg/l. La mortalité observée durant ce stade traité est mentionnée dans le tableau 16 avec des taux de 20 % pour la concentration la plus faible 0,1 µg/l et 93,33 % pour la concentration la plus élevée 0,9 µg/l, avec toujours une relation concentration-réponse. La mortalité observée, corrigée par la formule d'Abott, est mentionnée dans le tableau 17. Les moyennes de la mortalité corrigées sont normalisées par une transformation angulaire (Tableau 18) pour effectuer une analyse statistique. Les résultats de l'analyse statistique à un seul critère de classification (traitement) révèlent un effet hautement significatif ($P < 0,001$) (Tableau 19). L'équation et la droite de régression ont été déterminés (Figure 12) après une transformation des moyennes des mortalités corrigées en probits et les concentrations testées en logarithmes décimaux (Tableau

Résultats

20). Le coefficient de détermination ($R^2 = 0,90$) révèle une liaison aussi positive entre les probits et les logarithmes décimaux des concentrations testées. Les concentrations létales CL_{50} et CL_{90} , estimées à partir de l'équation et la droite de régression sont respectivement $0,33 \mu\text{g/l}$ avec un intervalle de confiance de $0,22$ à $0,40 (\mu\text{g/l})$ et $0,75 \mu\text{g/l}$ avec un intervalle de confiance de $0,50$ à $1,05 (\mu\text{g/l})$ (Tableau 21).

Tableau 16: Mortalité observée (%) des larves L4 de *Culex pipiens* nouvellement exuviées, après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations, R: répétition, $m \pm SE$, $n = 75$).

R/C	Témoin	0,1 $\mu\text{g/l}$	0,3 $\mu\text{g/l}$	0,5 $\mu\text{g/l}$	0,7 $\mu\text{g/l}$	0,9 $\mu\text{g/l}$
R1	4	28	36	72	92	96
R2	8	20	48	64	78	96
R3	8	24	40	60	88	82
m \pm SE	6,66 \pm 1,88	20,00 \pm 6,53	41,33 \pm 6,11	65,33 \pm 4,98	86,00 \pm 5,88	93,33 \pm 4,61

Tableau 17: Mortalité corrigée (%) des larves L4 de *Culex pipiens*, nouvellement exuviées, après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations, R: répétition, $m \pm SE$, $n = 75$).

R/C	0,1 $\mu\text{g/l}$	0,3 $\mu\text{g/l}$	0,5 $\mu\text{g/l}$	0,7 $\mu\text{g/l}$	0,9 $\mu\text{g/l}$
R1	25	33,33	70,83	91,16	95,83
R2	13,04	43,47	60,86	76,08	95,65
R3	17,39	34,78	56,52	86,95	80,43
m \pm SE	18,47 \pm 4,94	37,19 \pm 4,47	62,73 \pm 5,99	84,7 \pm 6,38	90,63 \pm 7,21

Tableau 18: Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée des larves L4 de *Culex pipiens* après traitement au novaluron (C: concentrations, R: répétitions, $m \pm SE$; $n = 75$).

R/C	0,1 $\mu\text{g/l}$	0,3 $\mu\text{g/l}$	0,5 $\mu\text{g/l}$	0,7 $\mu\text{g/l}$	0,9 $\mu\text{g/l}$
R1	30	35,06	56,79	72,54	77,08
R2	21,13	40,98	50,77	60,67	77,08
R3	24,35	35,67	48,45	68,03	63,43
m \pm SE	25,13 \pm 3,66	37,23 \pm 2,65	52,00 \pm 3,51	67,08 \pm 4,89	66,97 \pm 5,03

Résultats

Tableau 19: Analyse de la variance des données transformées lors du traitement au novaluron des larves L4 de *Culex pipiens*.

Source	Ddl	SC	C M	F.obs	P
Factorielle	4	4740,2	1185,0	40,22	0,000***
Erreur	10	294,7	29,5		
Total	14	5034,8			

Tableau 20: Transformation en logarithmes décimaux les concentrations testées et en probits les mortalités corrigées après traitement des L4 de *Culex pipiens*.

Concentrations ($\mu\text{g/l}$)	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9
Logarithmes décimaux (X)	1	1,47	1,69	1,84	1,95
Mortalités corrigées (%)	18,47	37,19	62,73	84,7	90,63
Probits (y)	3,09	4,67	5,32	6,02	6,92

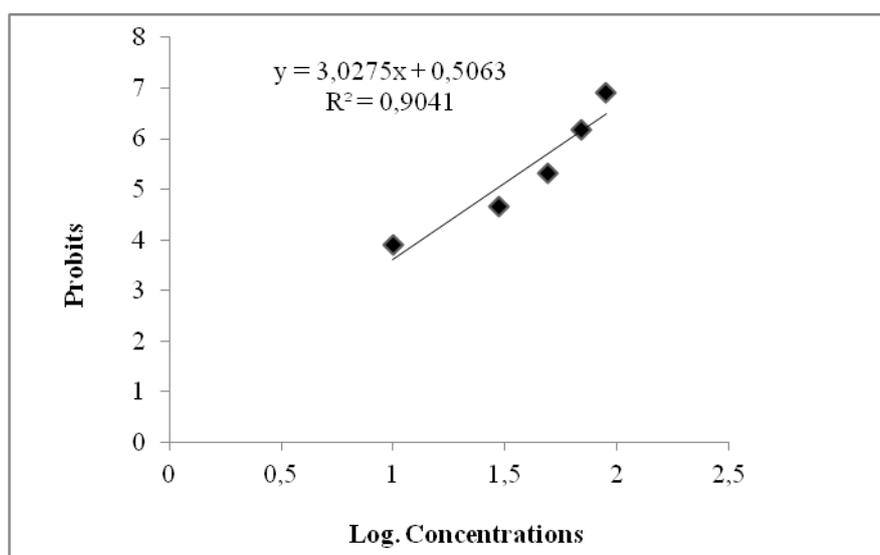


Figure 12: La droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée des larves L3 en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2 =$ Coefficient de détermination).

Tableau 21: Toxicité du novaluron à l'égard des larves L3 de *Culex pipiens*.

Stade	Slope	CL ₅₀ ($\mu\text{g/l}$)	CL ₉₀ ($\mu\text{g/l}$)
		Intervalle de confiance (95%)	Intervalle de confiance (95%)
L4	2,4	0,22>0,33>0,41	0,59>0,75>1,05

Résultats

2.2. Action cumulée:

L'effet cumulé du novaluron sur le stade L4 de *Culex pipiens* est mentionné dans le tableau 22. Une augmentation de la mortalité observée (%) est enregistrée à chaque fois qu'on augmente en concentration avec des pourcentage de 25,33 % pour la concentration de 0,1 µg/l à 100% pour la concentration de 0,9 µg/l. Par la suite une correction des mortalités observées a été effectuée (Tableau 23) et les données ont ensuite subies une transformation angulaire (Tableau 24). L'analyse statistique à un seul critère de classification (traitement) des données obtenus, révèle un effet cumulé hautement significatif ($p < 0,001$) (Tableau 25). Une transformation des moyennes des mortalités corrigées et des concentrations testées en logarithmes décimaux a été réalisée (Tableau 26), pour tracer et évaluer l'équation de la droite de régression (Figure 13). Le coefficient de détermination ($R^2 = 0,89$) révèle une liaison positive entre les probits et les logarithmes décimaux des concentrations testées. Les concentrations létales CL_{50} et CL_{90} , déterminées à partir de l'équation de la droite de régression sont de 0,22 µg/l avec un intervalle de confiance de 0,19 à 0,25 (µg/l) et de 0,48 µg/l avec un intervalle de confiance de 0,42 à 0,54 (µg/l) respectivement (Tableau 27).

Tableau 22: Mortalité observée (%) des larves L4 de *Culex pipiens*, nouvellement exuviées, après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations, R: répétition, $m \pm SE$, $n = 75$).

R/C	Témoin	0,1 µg/l	0,3 µg/l	0,5 µg/l	0,7 µg/l	0,9 µg/l
R1	4	28	52	56	92	100
R2	4	12	48	72	88	100
R3	4	28	44	80	92	100
m ± SE	4,00 ± 0,00	25,33 ± 3,77	48,00 ± 3,26	69,33 ± 9,79	90,66 ± 1,88	100 ± 0,00

Résultats

Tableau 23: Mortalité corrigée (%) des larves L4 de *Culex pipiens*, nouvellement exuviées, après traitement par les différentes concentrations du novaluron (C: concentrations, R: répétitions, $m \pm SE$, $n= 75$).

R/C	0,1 µg/l	0, 3 µg/l	0,5 µg/l	0,7 µg/l	0,9 µg/l
R1	25	50	54,16	91,16	100
R2	8,33	45,83	68	87,5	100
R3	25	41,66	76	91,16	100
m ± SE	19,44 ± 7,85	45,83 ± 3,40	66,05 ± 9,02	89,94 ± 1,72	100 ± 0,00

Tableau 24: Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée des larves L4 de *Culex pipiens* après traitement au novaluron (C: concentrations, R: répétitions, $m \pm SE$, $n= 75$).

R/C	0,1 µg/l	0,3 µg/l	0,5 µg/l	0,7 µg/l	0,9 µg/l
R1	30	45	47,09	72,54	84,26
R2	16,43	40,13	55,55	68,89	84,26
R3	30	39,84	60,67	72,54	84,26
$m \pm SE$	$25,47 \pm 6,39$	$41,65 \pm 2,36$	$54,43 \pm 5,59$	$71,32 \pm 1,72$	$84,26 \pm 0,00$

Tableau 25: Analyse de la variance des données transformées lors du traitement au novaluron des larves L4 de *Culex pipiens*.

Source	DL	SC	C M	F. Obs	P
Factorielle	4	6515,0	1628,7	67,16	0,000 ***
Erreur	10	242,5	24,3		
Total	14	6757,5			

Tableau 26: Transformation en logarithmes décimaux les concentrations testées et en probits Les mortalités corrigées après traitement des L4 de *Culex pipiens*.

Concentrations (µg/l)	0,1	0,3	0,5	0,7	0,9
Logarithmes décimaux (X)	1	1,47	1,69	1,84	1,95
Mortalités corrigées (%)	19,44	45,83	66,05	89,94	100
Probits (y)	4,13	4,89	5,41	6,27	8,71

Résultats

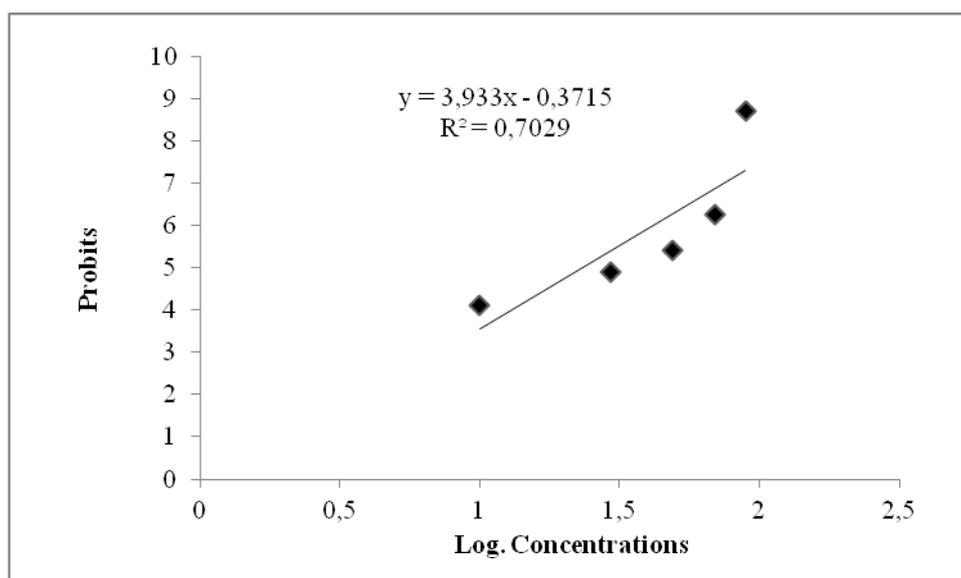


Figure 13: La droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2 =$ Coefficient de détermination).

Tableau 27: Toxicité du novaluron à l'égard des larves L3 de *Culex pipiens*.

Stade	Slope	CL ₅₀ (µg/l)	CL ₉₀ (µg/l)
		Intervalle de confiance (95%)	Intervalle de confiance (95%)
L4	1,5	0,19>0,22>0,25	0,42>0,48>0,54

3. Effet du novaluron sur le développement de *Culex pipiens*:

L'évaluation de l'effet du novaluron sur le développement de *Culex pipiens* a été réalisée aussi sur les deux stades larvaires L3 et L4, en étudiant son action directe et indirecte sur la durée des stades de développements (larves, nymphe et adulte), la taille (longueur) ainsi que les changements morphologiques observés suite au traitement.

3.1. Effet du novaluron sur la durée de développement de *Culex pipiens*:

L'effet de l'inhibiteur de la synthèse de la chitine, novaluron, a été évalué sur la durée de développement des L3 et L4 de *Culex pipiens*. L'action directe de ce produit sur la durée des stades larvaires est estimée de leur 1^{er} jour d'exuviation jusqu'à la mue complète du stade traité. L'action indirecte est évaluée sur les stades de développement qui suivent le stade traité. La durée de développement des larves L3 de la série des témoins est de 4,35 jours tandis que chez la série des larves traitées, est de 4,53 et 5,53 jours pour les larves exposées à

Résultats

la CL₅₀ et CL₉₀ respectivement. La comparaison des moyennes, réalisée par le test *t* de Student, ne révèle aucune différence significative ($P > 0,05$) entre la durée de développement des témoins et celle des traitées avec la CL₅₀ (Tableau 28). Par contre le traitement à CL₉₀ provoque une augmentation significative comparativement au témoin ($P < 0,05$). L'effet indirecte du novaluron sur les deux stades, L4 et nymphale, ne présente aucune différence significative entre les séries traitées et témoins ($P > 0,05$). Tandis qu'au stade adulte, une diminution très significative de la longévité a été constatée après traitement à la CL₅₀ et à la CL₉₀ ($P < 0,01$).

Tableau 28: Durée (j) de développement (larvaire, nymphale et adulte), après traitement au novaluron avec les concentrations létales (CL₅₀; CL₉₀) des larves L3 nouvellement exuviées de *Culex pipiens*. (n= 20 : 60) (* $P < 0,05$ = différence significative; ** $P < 0,01$ = différence très significative; *** $P < 0,001$ = différence hautement significative).

Stade de développement	Témoin	CL ₅₀ = 0,21 µg/l	CL ₉₀ = 0,69 µg/l
Stade L3	4,35 ± 0,3	4,53 ± 0,49	5,53 ± 0,58*
Stade L4	6,50 ± 0,52	7,6 ± 0,32	7,33 ± 0,78
Stade nymphal	3,83 ± 0,55	3,32 ± 0,45	3,90 ± 0,75
Longévité des adultes	32,33 ± 3,20	25,42 ± 5,21**	24,51 ± 4,11**

Le tableau 29 représente les résultats de la durée de développement des larves L4 après traitement par le novaluron. Chez les séries témoins, la durée de développement est estimée de 6,80 jours tandis que chez les séries traitées à la CL₅₀ une prolongation de la durée a été enregistrée, et estimée de 7,33 jours avec une aucune différence significative ($P > 0,05$). Par contre, la CL₉₀ a prolongé la durée de développement des L4 (9,16 jours) significativement ($P < 0,05$) et ce comparativement aux témoins. Pour les adultes émergés du traitement larvaire (L4), l'action indirecte du novaluron a diminué leur durée de vie très significativement ($P < 0,01$) par rapport aux adultes témoins (Tableau 29).

Résultats

Tableau 29: Durée (j) de développement (larvaire, nymphale et adulte), après traitement au novaluron avec les concentrations létales (CL₅₀; CL₉₀) des larves L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens*. (n = 20 : 60) (* P<0,05= différence significative; ** P<0,01 = différence très significative; ***P<0,001 = différence hautement significative).

Stade de développement	Témoin	CL ₅₀ = 0,33 µg/l	CL ₉₀ = 0,75µg/l
Stade L4	6,80 ± 0,40	7,6 ± 0,32	9,16 ± 0,78*
Stade nymphal	3,53 ± 1,67	3,66 ± 0,30	3,81 ± 0,65
Longévité des adultes	32,33 ± 3,20	27,53 ± 3,16**	27,34 ± 3,62**

3.2. Effet du novaluron sur la taille des larves de *Culex pipiens*:

Les résultats de l'effet du novaluron sur la taille exprimé par la longueur des larves L3 de *Culex pipiens* sont représentés par la figure 14. La longueur des larves L3 témoins est de 3,4 mm à l'âge de 1 jour et atteint le 4,49 mm au 3^{ème} jour. Chez les séries traitées par la CL₅₀, la taille à l'âge de 1jour jusqu'au 3jours, est estimée de 3,48 à 4,43 mm, tandis que chez les séries exposées à la CL₉₀ la taille est de 3,44 à 4,14 mm. L'analyse statistiques des moyennes obtenus montre que le novaluron a réduit significativement (P<0,01) la longueur des larves L3 par rapport aux témoins du même âge.

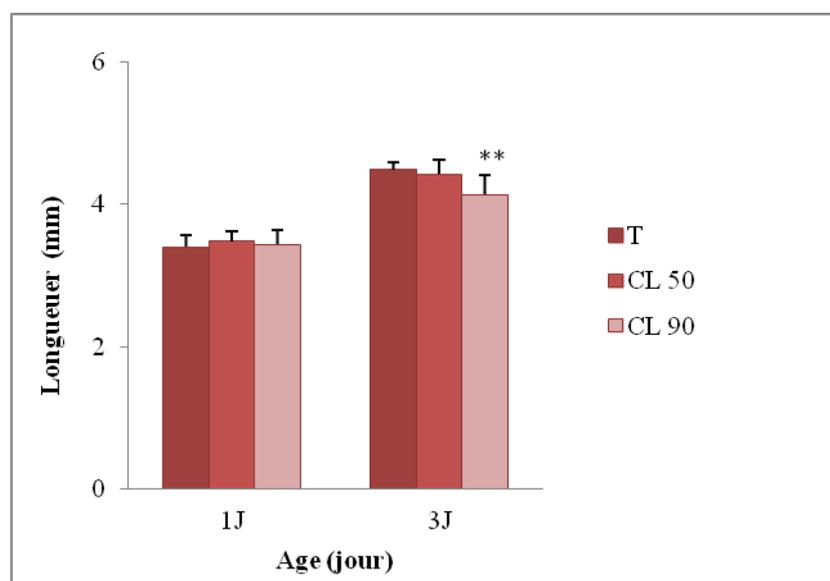


Figure 14: Effet du novaluron (CL₅₀ = 0,21 µg/l et CL₉₀ = 0,69 µg/l) sur la longueur des larves L3 de *Culex pipiens* (m ± SE) (** P<0,01 = différence très significative).

Résultats

Les résultats de l'effet du novaluron sur la longueur des larves L4 sont représentés par la figure 15. Chez les séries témoins, la longueur au premier jour du développement est d'une valeur de 5,58 mm puis augmente en fonction d'âge pour atteindre une valeur de 6,74 mm au 7^{ème} jour. Chez les séries traitées, la taille au premier jour de développement est comprise entre 5,49 et 5,52 mm pour la CL₅₀ et CL₉₀ respectivement (Figure 15). Ces valeurs ont été augmenté jusqu'à 6,48 et 6,35 (mm) au 7^{ème} jour pour les séries exposées à la CL₅₀ et à la CL₉₀ respectivement. L'analyse statistique révèle une diminution significative de la taille ($P < 0,01$) chez les séries traitées par rapport aux témoins du même âge.

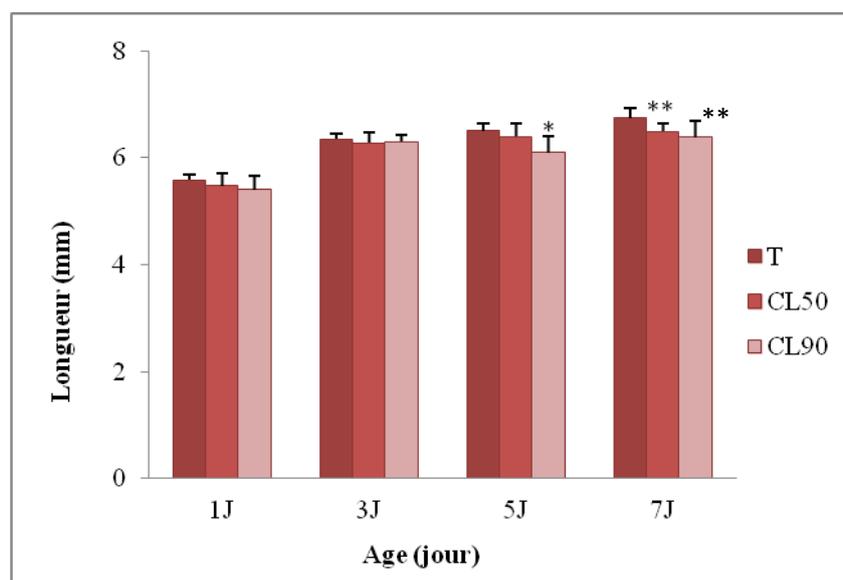


Figure 15: Effet du novaluron (CL₅₀= 0,33 µg/l et CL₉₀= 0,75 µg/l) sur la longueur des larves L4 de *Culex pipiens* (m ± SE) (* P<0,05 = différence significative; ** P<0,01 = différence très significative).

3. 3. Effet du novaluron sur l'aspect morphologique:

Les larves mortes suite au traitement au le novaluron ont été soumises à une observation microscopique afin de révéler les aspects ou les changements morphologiques. Dans la figure 16 (A) une malformation est observée chez les larves traitées, représentée par un gonflement du thorax qui donne l'impression de double tête. Pour le stade nymphale, les principaux aspects observés sont; une absence de mélanisation, représentée par un aspect clair (Figure 16B), et un blocage avec une exuviation incomplète dans la figure 16 (C et D).

Résultats



Figure 16: Aspects morphologiques observés au cours du traitement par le novaluron (A: Gonflement du thorax, B: Absence de mélanisation, C: Blocage et Exuviation incomplète de la nymphe) (photos personnelles).

4. Effet du novaluron sur les métabolites des larves L4 de *Culex pipiens*:

L'analyse biochimique des glucides, lipides et protéines de *Culex pipiens* a été réalisée après une exposition de 24h, des larves L4 aux concentrations létales ($CL_{50} = 0,33 \mu\text{g/l}$ et $CL_{90} = 0,75 \mu\text{g/l}$) de l'inhibiteur de la synthèse de la chitine, le novaluron.

4.1. Poids corporel des larves L4 de *Culex pipiens*:

Les résultats de l'effet de cet inhibiteur de la synthèse de la chitine, novaluron, sur le poids des larves de *Culex pipiens* sont représentés par le tableau 30. Le poids corporel à l'âge de 1 jour est estimée à 2,92 mg/larve chez les larves témoins, et de 2,83 et 2,9 chez les séries exposées à la CL_{50} et CL_{90} respectivement, avec un seuil de signification $P < 0,05$. De l'âge de 3 à 7 jours, une augmentation du poids larvaire (témoins traités) a été constatée. La valeur maximale du poids est enregistrée au 7^{ème} avec 4,6 mg/larve chez les témoins, contrairement

Résultats

aux poids des larves traitées (CL₅₀ et CL₉₀), qui n'atteint que le 3,4 et 3,3 mg/larve respectivement. L'analyse statistique révèle une différence très significative (P<0,01) du poids larvaire traitée âgée de 3, 5 et 7 jours par rapport au témoin du même âge.

Tableau 30: Poids larvaire L4 de *Culex pipiens* après traitement aux concentrations létales du novaluron (m ± ES; n = 10) (* P<0,05 = différence significative, ** P<0,01 = différence très significative; ***P<0,001= différence hautement significative).

Age (Jour)	Poids (mg)/larve		
	Témoin	CL ₅₀ = 0,33 µg/l	CL ₉₀ = 0,75 µg/l
1	2,92 ± 0,13	2,71 ± 0,25	2,83 ± 0,76
3	3,76 ± 0,25	2,60 ± 0,17 **	2,86 ± 0,11 **
5	4,26 ± 0,25	3,23 ± 0,32 **	3,03 ± 0,5 **
7	4,60 ± 0,17	3,40 ± 0,26 **	3,30 ± 0,20 **

4.1. Quantité de glucides des larves L4 de *Culex pipiens*:

Le taux glucides des larves L4 de *Culex pipiens* a été calculé d'après une courbe de référence, utilisant le glucose comme standard, représenté par la figure 17 et les résultats du dosage biochimique sont représentés par la figure 18. La quantité des glucides dans le corps entier des larves L4 a été estimée à 38 µg/mg à l'âge de 1 jour pour les séries témoins, et à 38,76 et 41,3 (µg/mg) pour les larves exposées à la CL₅₀ ainsi qu'à la CL₉₀ respectivement. Une augmentation de la quantité de ce métabolite a été constatée en fonction d'âge arrivant jusqu'au 47 µg/mg au 7^{ème} jour de développement des larves L4 témoins. Tandis que chez les séries traitées une augmentation beaucoup plus importante a été constatée arrivant au 7^{ème} jour jusqu'au 58,5 et de 56,7 (µg/mg) pour la CL₅₀ et CL₉₀ respectivement. L'analyse statistique des résultats obtenus, révèle un effet significatif du novaluron sur les larves âgées de 3 jours après traitement au novaluron et un effet très significatif (P<0,01) chez les larves âgées de 5 et 7 jours.

Résultats

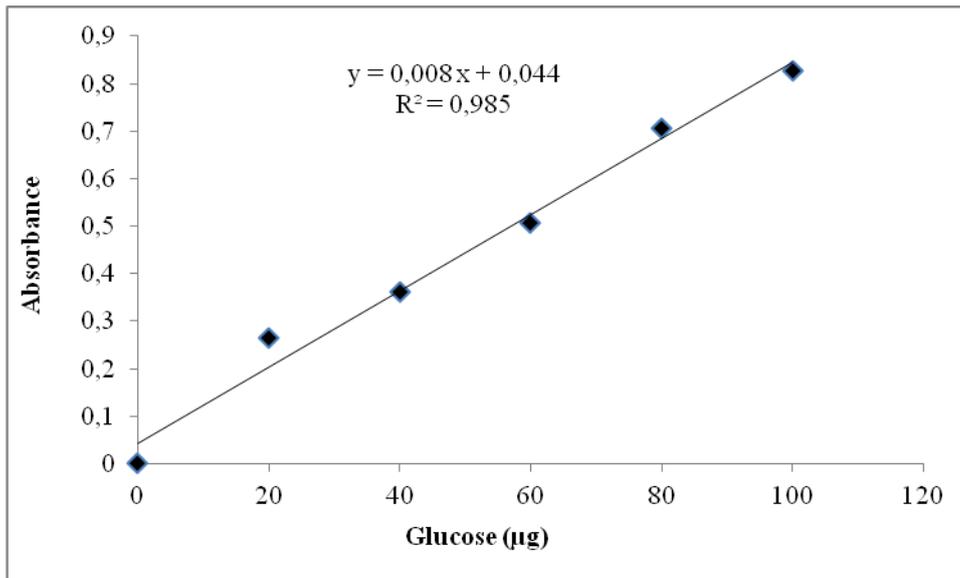


Figure 17: Dosage des glucides totaux de *Culex pipiens*: courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité du glucose (μg) (R^2 = Coefficient de détermination).

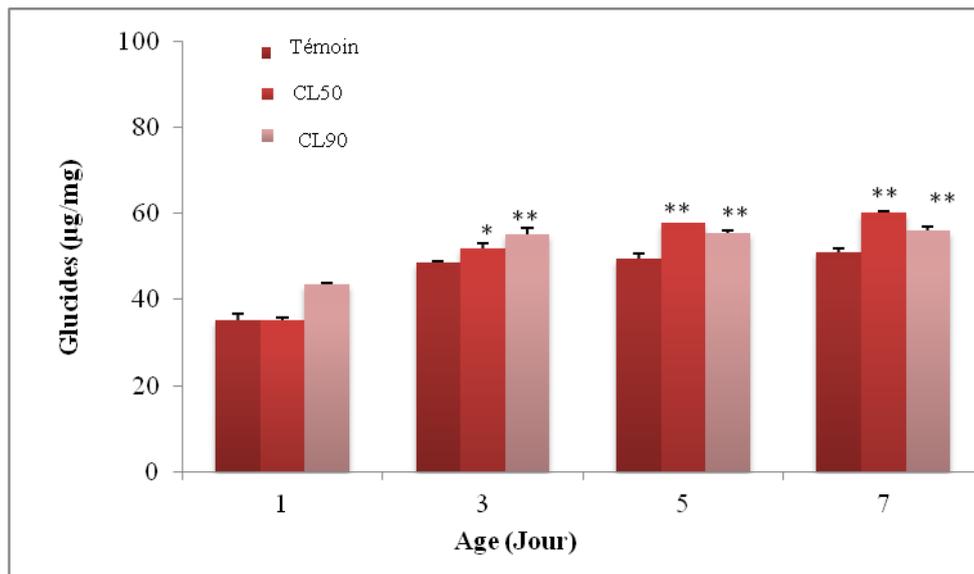


Figure 18: Effet du novaluron ($\text{CL}_{50} = 0,33 \mu\text{g}/\text{l}$; $\text{CL}_{90} = 0,75 \mu\text{g}/\text{l}$) sur le taux des glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$) des larves L4 de *Culex pipiens* ($m \pm \text{SE}$, $n = 10$) (* $P < 0,05$ = différence significative, ** $P < 0,01$ = différence très significative).

4.2. Quantité de lipides des larves L4 de *Culex pipiens*:

La quantité des lipides des larves L4 de *Culex pipiens*, a été évaluée à partir de la droite de régression de la gamme d'étalonnage représentée par la figure 19. Les résultats obtenus du dosage biochimique de ce métabolite, montre une augmentation quantitative des

Résultats

lipides en fonction d'âge. En effet, chez les témoins âgés de 1 jour une valeur de 65 $\mu\text{g}/\text{mg}$ a été enregistré, qui augmente jusqu' au 80 $\mu\text{g}/\text{mg}$ au 7^{ème} jour. Par contre chez les séries traitées une augmentation beaucoup plus importante que celle des témoins a été enregistré, notamment une valeur de 62,7 $\mu\text{g}/\text{mg}$ et de 64,2 $\mu\text{g}/\text{mg}$ chez les larves âgées de 1 jour et atteint la valeur de 87 et 82 ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les larves âgées de 7^{ème} jours, après traitement à la CL_{50} ainsi qu'à la CL_{90} respectivement (Figure 20). L'analyse statistique des données obtenues, révèle un effet très significative ($P < 0,01$) du novaluron sur la quantité des lipides chez larves L4 âgées de 3 et 5 jours chez les séries traitées avec la CL_{50} . Tandis que l'application de la CL_{90} présente un effet hautement significatif ($P < 0,001$) chez les larves âgées de 5 et 7 jours.

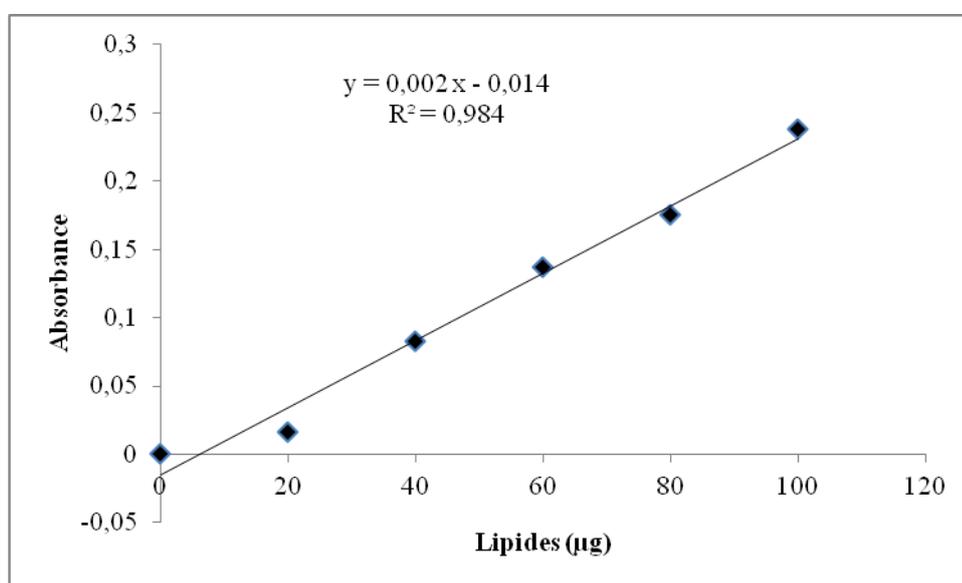


Figure 19 : Dosage des lipides totaux de *Culex pipiens*: courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides (μg) (R^2 = Coefficient de détermination).

Résultats

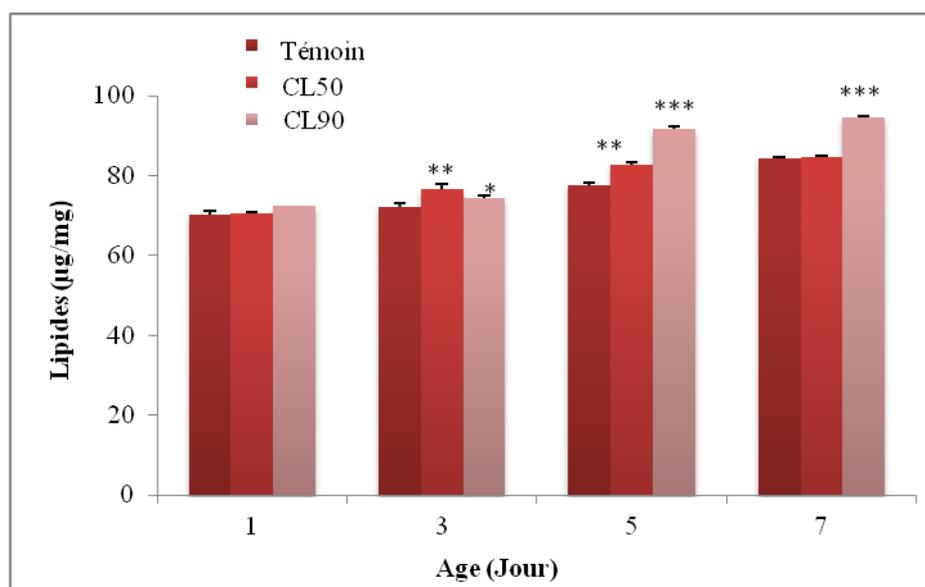


Figure 20: Effet du novaluron ($CL_{50}= 0,33 \mu\text{g/l}$, $CL_{90}= 0,75 \mu\text{g/l}$) sur le taux des lipides ($\mu\text{g/mg}$) des larves L4 de *Culex pipiens* ($m \pm SE$, $n= 10$) (* $P<0,05$ = différence significative, ** $P<0,01$ = différence très significative, *** $P<0,001$ = différence hautement significative).

4.3. Quantité de protéines des larves L4 de *Culex pipiens* :

La gamme d'étalonnage exprimée par l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (Figure 21) a permis de calculer les quantités de protéines des larves L4 de *Culex pipiens* des séries témoins et traitées. Chez les larves témoins, une augmentation de la quantité des protéines a été enregistrée de l'âge de 1 jour ($48 \mu\text{g/mg}$) jusqu'au 5^{ème} jour ($65 \mu\text{g/mg}$), puis une diminution au 7^{ème} jour enregistrant une valeur de $50 \mu\text{g/mg}$ (Figure 22). Chez les séries traitées, une augmentation a été observée du 1^{er} au 3^{ème} jour, puis une diminution du 5^{ème} au 7^{ème} jour. L'analyse statistique révèle une différence hautement significative entre la quantité des protéines chez les larves exposées aux deux concentrations létales CL_{50} et CL_{90} ($P<0,001$) et les séries témoins, notamment à l'âge de 3 et 5 jours.

Résultats

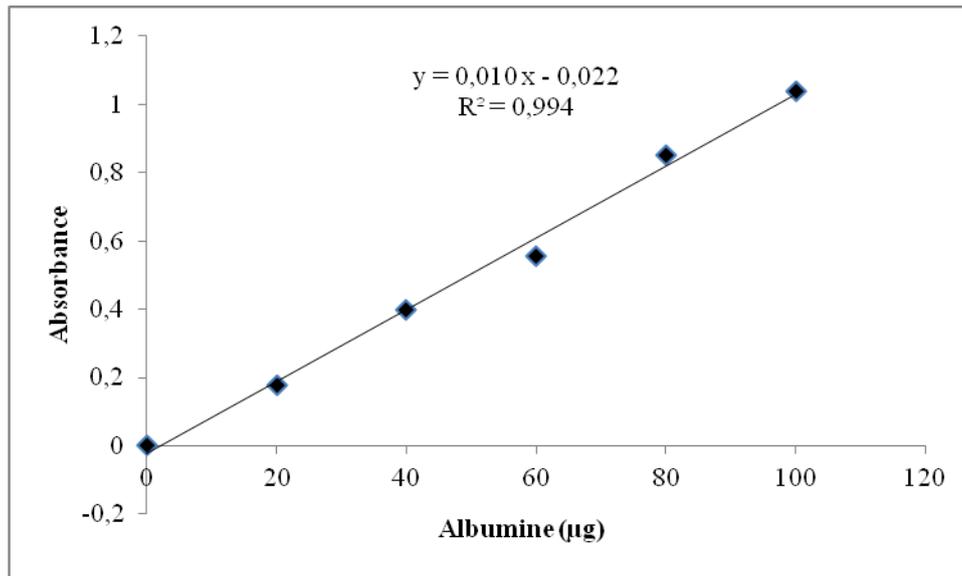


Figure 21: Dosage des protéines totales de *Culex pipiens*: courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine (μg) ($R^2 =$ Coefficient de détermination).

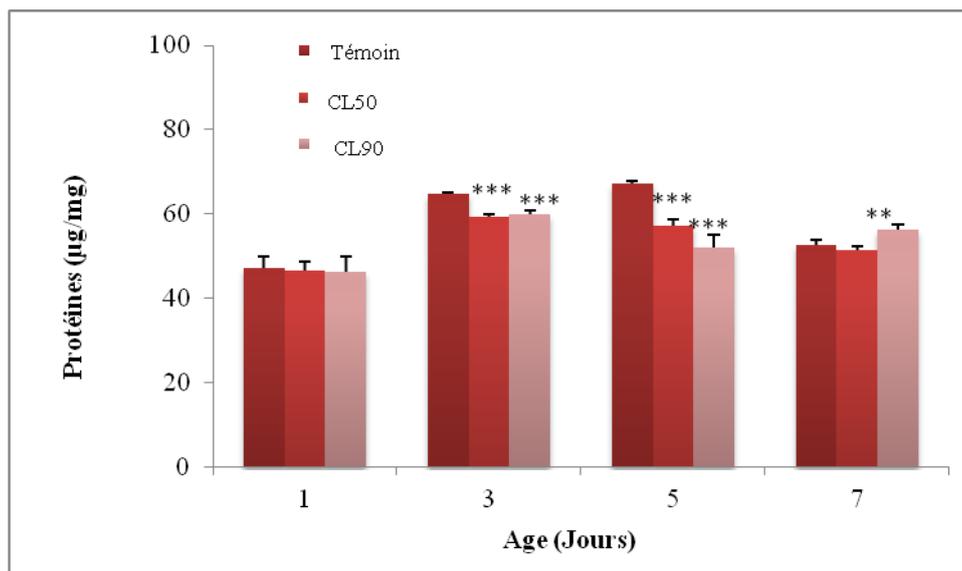


Figure 22: Effet du novaluron sur ($CL_{50} = 0,33 \mu\text{g/l}$; $CL_{90} = 0,75 \mu\text{g/l}$) le taux des protéines ($\mu\text{g/mg}$) des larves L4 de *Culex pipiens* ($m \pm SE$, $n = 10$) (** $P < 0,01$ = différence très significative, *** $P < 0,001$ = différence hautement significative).

5. L'effet du novaluron sur les ecdystéroïdes des larves L4 de *Culex pipiens*:

Le dosage quantitatif des ecdystéroïdes a été réalisé par une technique enzymo-immunologique, après pesage des différents échantillons. La courbe de référence pour le dosage des séries témoins et traitées au novaluron est représentée par le tableau 31 et la figure 23, exprimant le rapport B/B_0 (%) (B: absorbance du blanc, B_0 : absorbance de l'échantillon)

Résultats

en fonction du logarithme décimal des concentrations molaires de l'hormone standard. Le profil hormonal au cours du stade larvaire L4 chez les séries témoins et traitées est représenté par la figure 24. D'après les résultats obtenus, le contenu des hormones des larves témoins augmente du 1^{er} au 4^{ème} jour suivi d'une diminution au 6^{ème} jour. Chez les séries traitées, de la même manière que les témoins, une augmentation a été constatée de 1 au 4^{ème} jour, puis une baisse du contenu de la 20E (20-Hydroxyecdysone) a été observée (pg/larve) après une exposition de 24h à la CL₅₀ CL₉₀ respectivement. L'analyse statistique, ne révèle aucune différence significative ($p < 0,05$) entre le contenu en ecdystéroïdes des larves traitées et témoins.

Tableau 31: Courbe de référence établie avec un anticorps polyclonal et exprimant B/B₀ en fonction des concentrations molaires (M) de la 20-Hydroxyecdysone.

Solution standard	Concentration (M)	B/B ₀
1	10^{-14}	100,0
2	10^{-13}	88,0
3	10^{-12}	51,0
4	10^{-11}	19,5
5	10^{-10}	8,0
6	10^{-9}	3,9
7	10^{-8}	1,2
8	10^{-7}	0,4

Résultats

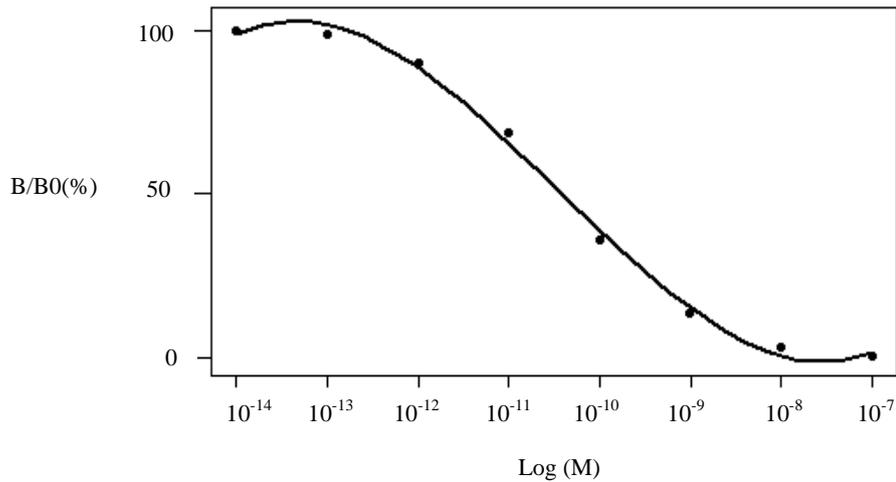


Figure 23: Courbe de référence établie avec un anticorps polyclonal (AC polyclonal de lapin), exprimant B/B0 en fonction des concentrations molaires (M).

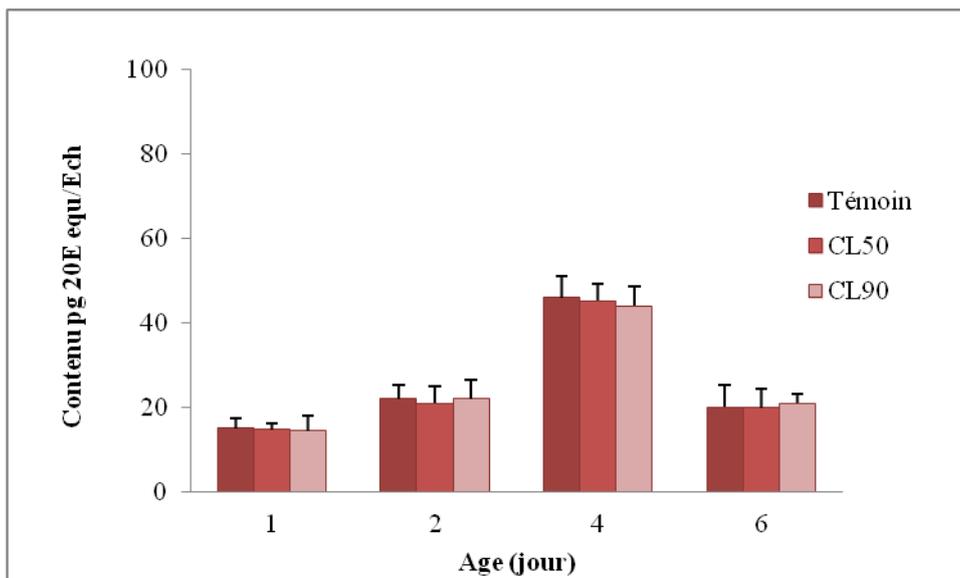


Figure 24 : Effet du novaluron ($CL_{50}= 0,33 \mu\text{g/l}$; $CL_{90}= 0,75\mu\text{g/l}$) sur le contenu de la 20-Hydroxyecdysone (pg20 E.equ/Ech) chez les larves L4 de *Culex pipiens* en utilisant un anticorps polyclonal (AC Lapin).

6. Etude structurale de la cuticule des larves L4 de *Culex pipiens*:

Les observations microscopiques des coupes des séries témoins et traitées, ont permis de mesurer l'épaisseur de la cuticule des larves L4 de *Culex pipiens*. La cuticule se présente avec 2 couches; une couche interne appelée endocuticule et une externe appelée exocuticule.

Résultats

Chez les séries témoins, l'épaisseur de l'exocuticule est à son maximum à 4 jours puis diminue à l'âge de 6 jours (Figure 25). Tandis que, chez les séries traitées la même couche a subit une diminution significative ($P < 0,05$), qui est constatée à partir de l'âge de 4 jours, et continue jusqu'au 6^{ème} jour ($P < 0,01$) comparativement aux témoins. L'épaisseur de l'endocuticule est représenté par la figure 26, où est enregistré une diminution très significative ($P < 0,01$) chez les séries traitées en fonction d'âge et de concentration par rapport aux témoins.

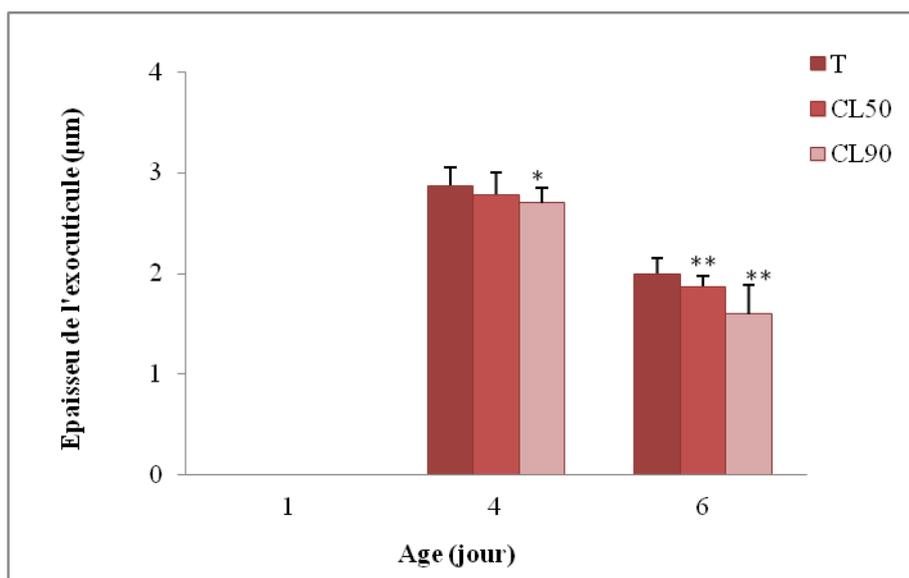


Figure 25: Effet du novaluron sur l'épaisseur (μm) de l'exocuticule chez les larves L4 de *Culex pipiens* ($m \pm \text{SE}$, $n = 3$).

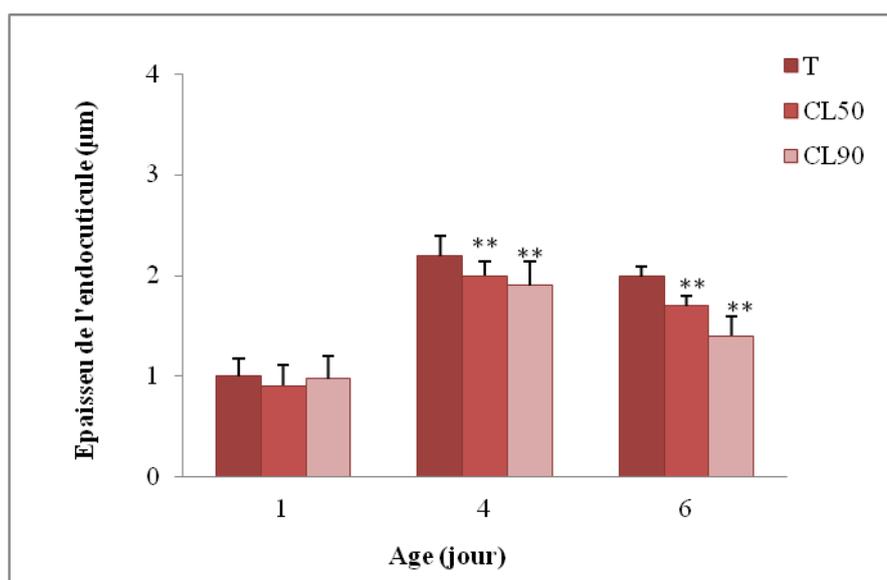


Figure 26: Effet du novaluron sur l'épaisseur (μm) de l'endocuticule chez les larves L4 de *Culex pipiens* ($m \pm \text{SE}$, $n = 3$).

Résultats

7. Effet du novaluron sur le potentiel de la reproduction de *Culex pipiens*:

L'effet du novaluron sur la reproduction de *Culex pipiens* est évalué à partir de deux expérimentations; la première est effectuée après une exposition des larves L4 pendant 24h aux deux concentrations létales ($CL_{50}= 0,33$ et $CL_{90}= 0,75$ $\mu\text{g/l}$) et la deuxième expérimentation a été réalisée après une exposition des œufs nouvellement pondus issus de l'élevage.

7.1. Effet du novaluron sur le potentiel reproducteur après traitement des larves L4 de *Culex pipiens*:

Les résultats de la première expérimentation après traitement des L4 de *Culex pipiens* par le novaluron sont résumés dans les tableaux 32 et 33. Le nombre des œufs pondus des femelles témoins est estimé de 1571 œufs, tandis que chez les femelles émergées des larves exposées à la CL_{50} et la CL_{90} ce nombre a été diminué en fonction des concentrations (Tableau 32). De même pour la fécondité, une réduction très significative ($P<0,01$) de 15,32% chez les séries traitées avec la CL_{50} et de 16,22% chez les séries traitées à la CL_{90} par rapport aux séries non traitées (Tableau 33). De plus, le pourcentage d'éclosion des œufs est de 97,41% pour les séries témoins et n'atteint que le 92,04 et 84,08 (%) chez les séries traitées avec la CL_{50} et CL_{90} respectivement. Cette diminution dans le pourcentage d'éclosion des œufs suite au traitement au novaluron est significative ($P<0,05$) avec la CL_{50} et très significative avec la CL_{90} ($P<0,01$) (Tableau 33).

Tableau 32: Effet du novaluron sur les paramètres du potentiel reproducteur après traitements des larves L4 de *Culex pipiens* (n= 20 femelles, durée= 30j) (** $P<0,01$: différence très significative, *** $P<0,001$: différence hautement significative).

Concentrations ($\mu\text{g/l}$)	Nombre des œufs pondus	Pourcentage d'éclosion (PE)	Fécondité (%)
Témoin	1571	$97,41 \pm 2,07$	66,6
$CL_{50}= 0,33$	1353	$92,05 \pm 4,82^*$	49,4***
$CL_{90}= 0,75$	1304	$84,08 \pm 5,89^{**}$	34,8***

Tableau 33: Réduction de la fécondité et du pourcentage d'éclosion des œufs de *Culex pipiens* après traitement des larves L4 de *Culex pipiens* (n=20 femelle, durée = 30j).

Résultats

Concentrations ($\mu\text{g/l}$)	Réduction de la fécondité (%)	Réduction du pourcentage d'éclosion (PE)
CL ₅₀ = 0,33	15,32 \pm 0,43	11,37 \pm 2,6
CL ₉₀ = 0,75	16,22 \pm 1,20	27,49 \pm 3,1

7.2. Effet du novaluron sur le potentiel reproducteur après traitement des œufs de *Culex pipiens*:

Les résultats de l'exposition des œufs de *Culex pipiens* aux deux concentrations létales du novaluron (CL₅₀ et CL₉₀) sont mentionnés dans le tableau 30. Le pourcentage d'éclosion des œufs exposés au novaluron a été diminué par rapport au pourcentage d'éclosion enregistré chez les séries non traitées, notamment une réduction de 1,17 % a été révélée chez les œufs exposés à la CL₅₀. Tandis que chez les séries exposées à la CL₉₀ la réduction est de 7,76% et ce comparativement au témoin. L'analyse statistique de l'ensemble des résultats, révèle un effet significatif du novaluron sur le pourcentage d'éclosion des œufs de *Culex pipiens*.

Tableau 34: Effet du novaluron sur le pourcentage d'éclosion (%) après traitements des œufs de *Culex pipiens*. (*P<0,05= différence significative).

Concentrations ($\mu\text{g/l}$)	Nombre des œufs pondus	Pourcentage d'éclosion (%)	Réduction du (PE)
Témoin	1588	97,5 \pm 2,12	/
CL ₅₀ = 0,33	1544	94,68 \pm 3,60	1,17 \pm 0,25
CL ₉₀ = 0,75	1562	90,5 \pm 4,10*	7,76 \pm 1,10

DISCUSSION

IV. DISCUSSION:

La lutte contre les insectes nuisibles et vecteurs de maladies, par essentiellement les insecticides conventionnels, a fait apparaître à long terme des effets secondaires sur l'homme et l'environnement. Ces produits sont répartis en deux générations, la première est représentée par les organochlorés, les organophosphorés et la deuxième par les carbamates et les pérythrinoides. Les régulateurs de croissance des insectes ou les I.G.Rs (insect growth regulators) constituent la troisième génération des insecticides, développés sur le principe de perturber la croissance et le développement des insectes. Ces composés ont fait l'objet de plusieurs recherches au Laboratoire de Biologie Animale Appliqué (LBAA) à l'égard de différentes espèces cibles (Taibi *et al.*, 2003; Aribi *et al.*, 2006; Khebbeb *et al.*, 2008; Soltani-Mazouni & Hami, 2010; Bouzereaa & Soltani-Mazouni, 2012; Amira & Boudjelida, 2013), ainsi que sur d'autres espèces non cibles (Chouahda *et al.*, 2005; Soltani *et al.*, 2008; Zaidi *et al.*, 2011).

Les essais toxicologiques par le régulateur de croissance des insectes, novaluron, menés à l'égard des larves L3 et L4 de *Culex pipiens* montrent que son application directe à différentes concentrations, présente un effet toxique exprimé par une mortalité relativement importante comparativement aux témoins. L'efficacité du novaluron a été montrée par plusieurs travaux à l'égard de plusieurs espèces de moustique tels que *Aedes aegypti* (Apiwat *et al.*, 2007; Nwankwo *et al.*, 2011; Fontoura *et al.*, 2012) et *Culiseta longiareolata* (Bouaziz *et al.*, 2011). Les recherches d'Arredondo-Jiménez & Valdez-Delgado (2006) ont montré aussi une grande efficacité du novaluron à l'égard d'*Anopheles albimanus*, *Anopheles pseudopunctipennis*, *Aedes aegypti*, et *Aedes albopictus*. De même, pour les travaux de Jambulingam *et al.* (2009) sur *Culex quinquefasciatus*, et Ijumba *et al.* (2010) sur *Anopheles gambiae* qui révèlent aussi un effet toxique du novaluron sur les séries traitées. L'action toxique de ce régulateur de croissance des insectes a été enregistrée contre plusieurs ordres d'insectes, autres que les diptères (Cetin *et al.*, 2006; Lohmeyer & Pound, 2012), notamment à l'égard des lépidoptères (Gupta & Kumar-Gupta, 2013); des coléoptères (Arthur & Fontenot, 2012) et des hémiptères (Kamminga *et al.*, 2012). D'autres molécules appartenant à la même classe du novaluron, inhibiteurs de la synthèse de la chitine, ont provoqué une augmentation du taux de mortalités par rapport aux témoins chez les moustiques (Batra *et al.*, 2005; Chen *et al.*, 2008; Belinato *et al.*, 2010). L'activité larvicide de ces composés est le résultat de leur interférence avec le processus de la mue, notamment la synthèse de la chitine

Discussion

en réduisant sa quantité dans la cuticule ce qui affecte les propriétés de cette exosquelette et conduit à un déficit du rejet de l'ancienne cuticule ce qui est par la suite la cause d'une mue incomplète (Merzendenroff *et al.*, 2012; Salokhe *et al.*, 2013). L'effet cumulé du novaluron a provoqué des taux de mortalité de 100% pour les deux stades larvaires étudiés. Le traitement du stade L3 présente les taux de mortalité les plus élevés par rapport au stade L4 par action directe ou cumulée, tout comme l'effet du novaluron à l'égard des larves d'*Aedes aegypti* (Mulla *et al.*, 2003) et de *Culex quinquefasciatus* (Su *et al.*, 2003), où le stade larvaire L2 présente des taux de mortalités beaucoup plus importante que ceux enregistrés au stade L4. Des effets similaires ont été enregistrés lors du traitement au chlorfluazuron et teflubenzuron, des larves L3 et L4 de *Spodoptera littoralis* (Bayoumi *et al.*, 1998) ainsi que le traitement au flufenoxuron des larves L2 et L4 de la même espèce. Beaucoup d'études ont montré que la plus part des benzoylurées sont efficaces contre les stades larvaires (Linduska *et al.*, 2001, 2002; Cutler *et al.*, 2005), mais aussi sur le stade nymphale et adulte (Rehimi & Soltani, 1999; Bakr *et al.*, 2008; Martins *et al.*, 2008). Les altérations de certaines structures internes dans le corps de l'insecte peuvent être la cause de la mort des nymphes et des adultes par effet cumulé. En effet, la structure et la physiologie des insectes peuvent varier considérablement au cours de la croissance et du développement, dont certains stades de développement seront plus sensibles aux insecticides que d'autres, tel est le cas de la cuticule qui sa composition varie au cours du développement, ce qui a été liée à des changements dans la sensibilité aux I.G.Rs.

Les inhibiteurs de la synthèse de la chitine, sont des molécules qui perturbent la croissance et le développement des insectes visés en affectant plusieurs paramètres du développement (Hassan, 2009). Dans une seconde partie de la thèse, l'effet du novaluron a été évalué sur le développement des larves L3 et L4 de *Culex pipiens*. Les résultats obtenus, révèlent une augmentation de la durée de développement larvaire suivie par une diminution significative de la longévité des adultes et de la taille en fonction des concentrations, ainsi que l'apparition de certains aspects morphologiques lors du traitement au novaluron. Cet inhibiteur de la synthèse de la chitine a prolongé significativement la durée de développement des larves de *Culex pipiens* après traitement à la CL₉₀. La même conclusion a été enregistrée durant son application à l'égard des *Culisetae longiareolata* (Bouaziz *et al.*, 2011). Des effets similaires sont indiqués chez plusieurs espèces, après traitement avec certains inhibiteurs de la synthèse de la chitine comme le chlorfluazuron (Mervat *et al.*, 2010; Behroozi *et al.*, 2011), l'hexaflumuron (Zhu *et al.*, 2011), le lufenuron (Salokhe *et al.*, 2010), le flucycloxyuron (Khan

Discussion

& Qamar, 2011), ainsi que le triflumuron (Belinato *et al.*, 2009; Arora *et al.*, 2012). D'autres molécules des I.G.Rs ont également présentés les mêmes effets à l'égard de certaines espèces de moustiques (El-Shazly & Refaie, 2002; Andrighetti *et al.*, 2008; Mbare *et al.*, 2013). L'augmentation de la durée de développement des larves peut être expliquée par l'effet du novaluron sur la sécrétion cuticulaire en retardant le cycle de mue. La diminution du poids des larves traitées, peut aussi prolongé la durée de développement (Bouaziz *et al.*, 2011). La longévité des adultes qui a été diminuée suite au traitement larvaire par le novaluron peut être liée à l'état physiologique et sanitaire de l'organisme (larves) suite au traitement. En effet, un désordre dans la digestion, comme la perturbation du métabolisme, la dégénération de la membrane péritrophique (Abdel-Aal *et al.*, 2012) peut être la cause de la mort de l'adulte et donc la diminution de la longévité (Soltani, 1984). Cette membrane est une enveloppe extracellulaire, au niveau del'intestin moyen, composée de façon prédominante de chitine et de glycoprotéines qui tapissent le tractus digestif de la plupart des invertébrés (Merzendorfer & Zimoch, 2003; Hegedus *et al.*, 2009). La polymérisation de la chitine (dernière étape de la synthèse de la chitine) est catalysée par la chitine synthétase (CHS) (Zhang *et al.*, 2012), il a été rapporté qu'une injection d'un antagoniste de cette enzyme augmente la perméabilité de la membrane péritrophique aux produits toxiques (Kato *et al.*, 2006; Zhang *et al.*, 2010a,b). L'accumulation ainsi des toxiques dans le corps de l'insecte peut conduire à la mort. La diminution significative de la taille observée lors du traitement des larves de *Culex pipiens* par le novaluron peut être expliqué par la perturbation quantitative des éléments métaboliques aux stades larvaires notamment les protéines, lipides et glucides qui sont considérés comme une source d'énergie et de croissance chez les insectes (Bouaziz *et al.*, 2011). En générale, les perturbations engendrées par le novaluron sur le développement sont toujours liées à son mode d'action sur la chitine (Devine *et al.*, 2005; Moussian *et al.*, 2005; Gangishetti *et al.*, 2009).

Chez les insectes, les dépenses énergétiques tout en volant ou nageant ou exerçant n'importe quelle fonction vitale exigent la synthèse et la mobilisation des métabolites (protéines, glucides et lipides). Ces métabolites jouent un rôle essentiel dans la physiologie des insectes. Les glucides représentent une source d'énergie importante et servent à l'élaboration des produits génitaux et des structures membranaires. Les lipides représentent 35% de la composition des ovocytes chez l'*Aedes aegypti* (Troy *et al.*, 1975) et 40% du poids sec des œufs (Kawooya & Law, 1988). Les protéines, à leur tour, jouent un rôle fondamental dans diverses réactions et peuvent assurer la catalyse biochimique, la régulation

Discussion

hormonale et s'intègrent dans la cellule en tant qu'éléments structuraux en même temps que les glucides et les lipides. Ces métabolites sont synthétisés dans le corps gras, (Keely, 1985 ; Van Hensden & Law, 1989) puis transportés vers les organes utilisateurs (Chino *et al.*, 1981; Dapporto *et al.*, 2008; Zhou & Miesfeld, 2009) via l'hémolymphe (Downer, 1985; Keely, 1985). Plusieurs facteurs endocrines et neuroendocrines, sont impliqués dans ce processus comme l'hormone juvénile (Bell & Barth, 1971; Wilhelm & Lüscher, 1974; Giorgi, 1979; Wilson, 1982), l'ecdysone et des neuropeptides (Gade, 2004). Les résultats du dosage des différents métabolites chez les larves L4 de *Culex pipiens*, révèlent une perturbation quantitative de la composition biochimique des séries traitées au cours du développement. En effet, le taux de glucides et lipides a été augmenté contrairement aux protéines qui ont été significativement diminuées. Des effets similaires ont été enregistrés lors du traitement avec le même produit à l'égard de *Culisetae longiareolata* (Bouaziz *et al.*, 2011). Des inhibiteurs de la synthèse de la chitine entraînent les mêmes observations chez certains ordres d'insectes tels que les lépidoptères par le diflubenzuron (DFB) (Soltani & Soltani-Mazouni, 1992). Les mêmes effets ont été enregistrés après traitement, par d'autres inhibiteurs de la synthèse de la chitines, sur certaines espèces de coléoptères (Soltani-Mazouni *et al.*, 1999; Ghoneim *et al.*, 2003) comme chez certains orthoptères (Bakr *et al.*, 2007; Ghoneim *et al.*, 2012; Hamadah *et al.*, 2012; Tanani *et al.*, 2012; Hamadah, 2014). Quelques composés des benzoylurées ont, Contrairement à nos résultats, diminués la quantité de certains métabolites (Ghoneim *et al.*, 2005; Mervat *et al.*, 2010; Assar *et al.*, 2010). Les perturbations quantitative observées dans ce travail, peuvent être liés à la capacité des I.G.Rs de modifier la synthèse ou le transport de certains métabolites et de perturber le fonctionnement de l'organisme (Leonardi *et al.*, 2001; Rodriguez-Ortega *et al.*, 2003). Bouaziz *et al.* (2011) suggèrent que les perturbations des éléments métaboliques engendrées par l'application du novaluron sur les larves L4 de *Culisetae longiareolata* peuvent être expliquées par la possibilité de considérer le novaluron comme un agent xénobiotique qui après avoir entrer à l'organisme engendre des modifications physiologique et morphologique suite à sa réaction avec les molécules ou les tissus cibles. La diminution des protéines dans la présente étude peuvent être liée à leur contribution à la formation des enzymes de détoxification suite à l'exposition des larves au produit toxique. Les protéines peuvent se lier aux composés étrangers entant qu'enzyme de détoxification (Merzendenrof *et al.*, 2012), et par conséquent la diminution de protéines peuvent refléter la diminution de l'activité de ces enzymes (Kyung & Kim, 1990). La diminution dans le poids des larves de *Culex pipiens* obtenus sous les conditions de laboratoire lors du dosage biochimique, peut être expliquée ainsi par les perturbations dans la

Discussion

quantité des différents métabolites étudiés. Dans une étude récente, l'activité de certaines enzymes de digestion, responsable du métabolisme, a été inhibée par les inhibiteurs de la synthèse de la chitine affectant ainsi l'absorption, la digestion et le transport des nutriments (Aly Khatter & Farid-Abuldahb, 2011).

Les ecdystéroïdes correspondent à une famille de stéroïdes polyhydroxylés, caractérisées par un noyau stérol portant une jonction *cis* des cycles A et B (Daviest *et al.*, 1980). Ils sont appelés les hormones de mue des arthropodes, des lépidoptères et d'autres invertébrés (Van Wormhoudt *et al.*, 1985). Le premier ecdystéroïde isolé est l'ecdysone (E) à partir des pupes de *Bombyx mori*, et sa structure stéroïde a été élucidée en 1965 par Huber & Hoppe. Cette hormone est la forme inactive des ecdystéroïdes produite par les glandes prothoraciques et libérée dans l'hémolymphe. Puis convertie en 20-hydroxyecdysone (20E) dans différents tissus périphériques (Huang *et al.*, 2008; Rewitez *et al.*, 2006) grâce à une enzyme, l'ecdysone-20-monooxygénase. Les ecdystéroïdes jouent un rôle majeur dans le maintien du développement, du métabolisme et des différents aspects de la reproduction des arthropodes, spécialement les insectes (De Loof, 2006; Manolakou *et al.*, 2006; Svechnikov & Soder, 2008; Nakagawa & Henrich, 2009). De ce fait, ces substances ont fait l'objet de plusieurs études pour confirmer leur intervention dans les différents aspects physiologiques des arthropodes (Soltani, 1986; Boudjelida *et al.*, 2005; Tine-Djebbar *et al.*, 2012). La source de sécrétion des molécules stéroïdiennes diffère d'un stade de développement à un autre, chez les stades immatures les glandes prothoracique est la source majeur des ecdystéroïdes après une libération de l'hormone prothoracicotropique (Rewitez *et al.*, 2009) en réponse à des facteurs neuraux, hormonaux ou environnementaux (Neubueser *et al.*, 2005). Après la dernière mue larvaire ou pendant le stade adulte, la glande dégénère chez beaucoup d'espèces (Glitho *et al.*, 1979; Aribi *et al.*, 1997) et la production est ensuite assurée par d'autres sources alternatives comme les ovaires et plus spécialement l'épithélium folliculaire (Tu *et al.*, 2002), les testicules (Loeb *et al.*, 1982, 1984), les oenocytes (Delbeque *et al.*, 1990; Spindler *et al.*, 1991) et l'épiderme (Soltani *et al.*, 1997). Dans plusieurs études, Il a été rapporté que la 20E (20 Hydroxy ecdysone) est l'hormone majeur chez le moustique *Culex pipiens* (Boudjelida *et al.*, 2005; Tine-djebbar *et al.*, 2012) ainsi que chez *Aedes aegypti* (Hagedorn *et al.*, 1975) et *Aedes atropalpus* (Masler *et al.*, 1980). La prédominance de la 20E a été également démontrée chez certaines espèces de lépidoptères telles que *Cydia pomonella* (Soltani, 1986) et *Thaumetopoea pityocampa* (Arabi & Soltani, 1992). Dans la présente étude, le contenu des ecdystéroïdes dosé dans le corps entiers des larves L4 de *Culex pipiens* des séries témoins ne

Discussion

se diffère pas significativement de celui des séries traitées par les deux concentrations létales CL_{50} et CL_{90} , comme il ne possède pas la même structure de ces hormones donc il n'occupe pas les mêmes récepteurs que les ecdystéroïdes. L'analyse quantitative des ecdystéroïdes au cours du stade larvaire L4 chez les séries témoins et traitées révèle la présence de deux pics hormonal majeurs à l'âge de 2 jours ainsi qu'à l'âge de 4 jours. Les pics hormonaux sont associés à des événements importants dans le développement, notamment la mue (apolyse et synthèse de la nouvelle cuticule) et la métamorphose (Gäde *et al.*, 1997; Aribi *et al.*, 1997; Tine-Djebbar *et al.*, 2011). Le pic à 2 jours coïncide avec la synthèse de la nouvelle cuticule, tandis que le 2^{ème} pic (à 4 jours) est équivalent à l'apolyse (Rehimi & Soltani, 1999). Ces pics ont été également retrouvés chez la même espèce, *Culex pipiens*, par les travaux de Boudjelida *et al.* (2005) et Tine-Djebbar *et al.* (2012). Un I.G.Rs appartenant à la classe des inhibiteurs de la synthèse de la chitine notamment le KK-42, a diminué la quantité des ecdystéroïdes ovarienne chez une espèce de coléoptères (Soltani *et al.*, 2000; Amrani *et al.*, 2004; Berghiche *et al.*, 2008). L'halofénozide, un analogue de l'hormone de mue a provoqué une augmentation quantitative de ces hormones chez *Tenebrio molitor* (Soltani *et al.*, 2002) et *Culex pipiens* (Boudjelida *et al.*, 2005). Tandis qu'une action inhibitrice du pyriproxifène sur les taux d'ecdystéroïdes a été rapportée chez quelques espèces de Coléoptères tels que *Tribolium freemani* (Hirachima *et al.*, 1995).

Chez les insectes, la cuticule est la couche externe secrétée par l'épiderme des arthropodes. Elle est formée de trois couches, l'épicuticule, l'exocuticule et l'endocuticule. La croissance des insectes holométaboles est caractérisée par des mues successives qui se manifestent par le rejet de l'ancienne cuticule et la formation d'une nouvelle. Selon les travaux de Rehimin & Soltani (1999), qui ont permis de déterminer le cycle de la sécrétion de la cuticule et les changements de son épaisseur au cours du développement de moustique *Culex pipiens*, ce cycle démarre par l'apolyse; décollement de l'ancienne cuticule. Cette étape se fait au 4^{ème} jour environ. L'étape suivante, est la digestion des couches profondes de l'ancienne cuticule par les enzymes protéolytiques et chitinolytiques du liquide de mue est effectuée. Après la synthèse de l'épicuticule et des assises pré-exuviales, l'ancienne cuticule est rejetée. L'effet du novaluron sur la structure de la cuticule des larves L4 entraîne une perturbation dans l'épaisseur des différentes couches. En effet, une diminution très significative a été enregistrée dans l'épaisseur de la nouvelle cuticule des L4 de *Culex pipiens*. Cette cuticule commence à se distinguer de l'endocuticule au moment de l'apolyse notamment au 4^{ème} jour et atteint son épaisseur maximale au 6^{ème} jour. Tandis que l'épaisseur

Discussion

de l'ancienne cuticule commence à diminuer à l'âge de 6 jours à cause de la digestion des couches profondes. L'alsystin, un inhibiteur de la synthèse de la chitine, entraîne aussi une diminution dans l'épaisseur de la cuticule chez la même espèce (Rehimi & Soltani, 1999). D'autres inhibiteurs de la synthèse de la chitine diminuent aussi l'épaisseur de la cuticule de plusieurs espèces tels est le cas de diflubenzuron ainsi que le triflumuron sur *Tenebrio molitor* (Soltani *et al.*, 1984, 1996). Dans une étude histologique le novaluron affecte le dépôt de la chitine et par conséquent la structure cuticulaire du moustique *Aedes aegypti* notamment l'endocuticule (Farnesi *et al.*, 2012). D'autres recherches confirment l'interférence des inhibiteurs de la synthèse de la chitine avec la mue notamment Hassan & Charnley (1987) qui ont trouvé dans l'endocuticule de *Musca domestica* en grande quantité les protéines, et suggèrent que c'est par ce que la production de la chitine a été complètement inhibé par les inhibiteurs de la synthèse de la chitine. Le traitement par le Flufenxuron sur *Spodoptera littoralis* a provoqué une destruction de la membrane péritrophique et vacuolisation de l'intestin moyen (Abdel-Aal *et al.*, 2012). De même pour le Chlorfluazuron, un autre inhibiteur de la synthèse de la chitine, sur la même espèce de lépidoptères (Perveen & Myata, 2000). Dans les recherches de Hassan (2009) et Adel (2012) la formation de l'endocuticule de certaines espèces de lépidoptères, a été bloquée et la nouvelle cuticule ne contient que l'épicuticule et l'exocuticule, qui n'étaient même pas attaché à l'épiderme. La cuticule de beaucoup d'insecte a été affectée par l'action des inhibiteurs de la synthèse de la chitine (Bakr *et al.*, 1997; Sokolova *et al.*, 2003; Al-Mokhlef *et al.*, 2012). Dans les travaux de Dean *et al.* (1999) plusieurs parties du corps de l'insecte ont été affecté par l'action des inhibiteurs de la synthèse de la chitine comme l'intestin moyen, la membrane péritrophique, la trachée, et les glandes cuticulaires. Les analogues de l'hormone de mue interfèrent aussi avec la sécrétion cuticulaire et à induire la sécrétion d'une nouvelle cuticule par les cellules épidermiques et augmentent son épaisseur (Soltani *et al.*, 2002, Boudjelida *et al.*, 2005).

Chez les moustiques, Seules les femelles sont hématophages. Après la fécondation, elles partent à la recherche d'un hôte pour la prise du sang afin d'assurer la maturation de leurs œufs. Ce comportement hématophage durant la reproduction permet la transmission de nombreuses maladies au cours de l'alimentation. De ce fait, la recherche d'un moyen de lutte pour limiter les effets liés à ce phénomène est très importante. Dans cette nouvelle partie, l'effet du novaluron a été testé sur des paramètres du potentiel reproducteur de moustique *Culex pipiens*. Les adultes émergents des larves traitées au novaluron avec la CL₅₀ et CL₉₀, présentent une diminution dans les différents paramètres étudiés par rapport aux témoins. Le

Discussion

nombre des œufs des séries traitées a été réduit comparativement au nombre des œufs issus des adultes témoins. En outre, la fécondité a été significativement diminuée, de même que le pourcentage d'éclosion chez les séries exposées au novaluron. Cependant une réduction moins importante a été enregistrée après traitement des œufs avec la CL₅₀ et CL₉₀. Des effets similaires ont été démontrés par l'application du novaluron sur *Bemisia argentifolii* (Colyde *et al.*, 2004), *Leptinotarsa decemlineata* (Alyokhin *et al.*, 2008, 2009), contre *Tribolium castaneum* (Trostyanetsky & Kostyukovsky, 2008) et *Cydia pomonella* (Gökçe *et al.*, 2009; Kim *et al.*, 2011). Il a été rapporté que les adultes issues d'un traitement avec les inhibiteurs de la synthèse de la chitine produisent la plupart du temps un nombre d'œufs moins importants que chez les séries non traitées (Saxena & Mathur, 1981; Elek, 1998; Parween *et al.*, 2001; Cutler *et al.*, 2005; Belinato *et al.*, 2009; Sagheer *et al.*, 2011). Autres inhibiteurs de la synthèse de la chitine, ont provoqué des diminutions importantes dans le pourcentage d'éclosion des œufs de certaines espèces de moustique (Rojas & Morales-Ramos, 2004; Mervat *et al.*, 2010; Salem *et al.*, 2012; Suman *et al.*, 2013). Plusieurs molécules des benzoylurées ont provoqués les mêmes observations chez quelques espèces de lépidoptère comme *Pectinophora gossypiella* (Rashad *et al.*, 2006), *Spodopetra littoralis* (Abdel-Aal, 2006) et chez *Spodoptera litura* (Shahout *et al.*, 2011). L'hexaflumuron, un inhibiteur de la synthèse de la chitine, entraîne aussi les mêmes effets (Abo El-Mahasen *et al.*, 2010). Le diflubenzuron et le flufenoxuron présentent les mêmes résultats sur une espèce de coléoptère *Tribolium Castaneum* (Salokhe *et al.*, 2003; Sagheer *et al.*, 2011; Merzendorrf *et al.*, 2012). De même, pour le flucycloxuron sur *Dysdercus koenigii* (khan & Qamar, 2011). Il a été rapporté que les inhibiteurs de la synthèse de la chitine affectent la reproduction via la perturbation du développement ovarien et le processus de la vitellogénèse. En effet, la perturbation dans la quantité des métabolites des moustiques enregistrée influence sur plusieurs aspects de la reproduction. La diminution de la taille des larves peut aussi affecter l'ovogénèse des femelles d'une part et le nombre d'œufs pondus d'autre part. Dans une étude histologique sur les ovaires des femelles émergées de traitement des L4 d'*Anophele gambiae*, un inhibiteur de la synthèse de la chitine a affecté le développement des ovarioles et a diminué le nombre des follicules ovariennes (Fournet *et al.*, 1993). La réduction de la fécondité peut à la suite être expliquée par la réduction des nombres des follicules matures. La diminution du pourcentage d'éclosion suite au traitement, peut être liée à la perturbation des propriétés mécaniques de la cuticule ce qui empêche les larves de traverser la coquille des œufs. Dans d'autres études, il a été montré que le diflubenzuron perturbe le développement ovarien des femelles émergées après traitement des nymphes de *Schistocerca gregaria* (Tail

Discussion

et al., 2008) et de *Dysdercus koenigii* (Khan & Qamar, 2012). Une autre molécule des inhibiteurs de la synthèse de la chitine, le chlorfluazuron, affecte l'embryogénèse, diminue la quantité, des constituants des œufs de *Spodoptera litura* (Perveen, 2010, 2011a), et affecte la gamétogénèse de la même espèce (Perveen, 2011b,c).

La conclusion de l'ensemble des résultats obtenus, mettent en évidence l'effet toxique du novaluron à l'égard du moustique *Culex pipiens*. En effet la toxicité de cet inhibiteur de la synthèse de la chitine se manifeste contre cette espèce par des perturbations au niveau du développement larvaire ainsi qu'au niveau de la reproduction des adultes. Les effets de cette molécule sont peut être liés d'une part à son mode d'action sur la chitine comme cible principale, et d'autre part sur la perturbation quantitative des différents éléments métaboliques étudiés (glucides, lipide et protéine). Suite à ses résultats efficaces des régulateurs de croissances des insectes a l'égard des moustiques il serait intéressant d'encourager l'utilisation des ses nouvelles molécules, sans effets secondaires sur les organismes non visées, a la place des insecticides conventionnels qui sont nocifs pour l'environnement en générale et l'humain en particulier.

REFERENCES

Références

V. REFERENCES:

- Abbott W.S. 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18**: 265- 267.
- Abdel- Aal A.E. 2006. Effect of chlorofluazuron, nuclear polyhydrosis virus (SLNP) and *Bacillus thuringiensis* on some biological and enzyme activity of cotton leaf worm *Spodopetra Littoralis* (Boisd). *Bull. Ent. Soc. Egypt. Econ. Ser.*, **32**: 171-158.
- Abdel-Aal A.E., Thabit A., El Salamaouny S., El-SheikhM.A.K. and Elnagar. S. 2012. Effect of insect growth regulators combined with nucleopolyhedrovirus on certain biological and histological aspects of *Spodopera littoralis*. *Egypt. Acad. J. biolog. Sci.*, **3 (1)**: 37-42.
- 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.
- Abo El-Mahasen M.M., Assar A.A., Khalil M.E. and Mahmoud S.H. 2010. Biological effects of some insect growth regulators on the house fly, *musca domestica* (diptera: muscidae). *Egypt. Acad. J. biolog. Sci.*, **3 (2)**: 95-105.
- Aïssaoui L. and Boudjelida H. 2014. Larvicidal activity and influence of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac G), on longevity and fecundity of mosquito species. *Euro. J. Exp. Bio.*, **4 (1)**: 104-109.
- Al-Mokhlef A.A., Mariy F.M., Emama A.K. and Ali G.M. 2012. Effect of teflubenzuron on ultrastructure and components of the integument in *Schistocerca gregaria* (Forsk.) 5th instar nymphs. *Ann.Agric. Sci.*, **57 (1)**: 1-6.
- Alves J.B., Gomes R., Rodrigues J., Silva A.P., Pinto A.J. and Sousa C.A. 2010. Mosquito fauna on the Cape Verde Islands (West Africa): an update on species distribution and a new finding. *Vect. Ecol.*, **35**: 307-312.
- Aly Khatter N.A. and Farid-Abuldahb F. 2011. combined effect of three insect growth regulators on the digestive enzymatic profiles of *callosobruchus maculatus* (coleoptera: bruchidae). *J. Egypt. Soc. Parasitol.*, **41 (3)**: 757 – 766.
- Alyokhin A. and Choban R. 2010. Maturity-dependent mortality of Colorado potato beetle eggs treated with novaluron. *Am. J. Pot. Res.*, **87**:557-560.
- Alyokhin A., Guillemette R., and Choban R. 2009. Stimulatory and suppressive effects of novaluron on the Colorado potato beetle reproduction. *J. Econ. Entomol.*, **102**: 2078-2083.
- Alyokhin A., Sewell G. and Choban R. 2008. Reduced viability of colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, eggs exposed to novaluron. *Pest Manag. Sci.*, **64**: 94-99.

Références

- Amira K., Boudjelida H. and Farine J.P. 2013. Effect of an insect growth regulator (halofenozide) on the cuticular hydrocarbons of *Culex pipiens* larvae. *Afr. Entomol.*, **21** (2): 343–348.
- Amrani L., Zerguine K., Farine J. P., Smagghe G. and 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.
- Andrean J., Gilbert L. and Regine F. 1981. Dictionnaire de Biochimie alimentaire et de nutrition Technique et Documentation P, 21 Paris Cedex 08.
- Andrighetti M.T.M., Cerone F., Rigueti M., Galvani K.C. and Macoris M.L.G. 2008. Effect of pyriproxyfen in *Aedes aegypti* populations with different levels of susceptibility to the organophosphate temephos. *Dengue Bull.*, **32**: 186-198.
- Apiwat T., Usavadee T., Payu B., Jakkrawarn C., Padet S., Preecha A. and Mulla S. 2007. Field evaluation of Novaluron, a chitin synthesis inhibitor larvicide, against mosquito larvae in polluted water in urban areas of Bangkok, Thailand. *Insect Sci.*, **38** (3): 434-440.
- Arakane Y., Specht C.A., Kramer K.J., Muthukrishnan S. and Beeman R.W. 2008. Chitin synthases are required for survival, fecundity and egg hatch in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Insect Bioch. Mol. Biol.*, **38**: 959-962.
- Aribi N., Pitoizet N., Quennede A. and Delbecque J.P. 1997. Ecdysteroid titres in a tenebrionidae beetle *Zophobas atratus* effects of grouping and isolation, *J. Insect Physiol.*, **43**: 815–821.
- Aribi N., Smagghe G., Lakbar S., Soltani-Mazouni N. and Soltani N. 2006. Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, on development of the mealworm, *Tenebrio molitor*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **84**: 55–62.
- Aribi N. and Soltani N. 1992. Nature et taux de l'hormone de mue chez *Thaumetopoea pityocampa* (Lepidoptera): corrélations avec le cycle cuticulaire. *Ann. Rech. For. Alg.*, **1**: 46-60.
- Arora M.S., Salokhe S.G. and Mukherjee S.N. 2012. Effect of sub-letahl concentration of lefenuron on growth development and reproductive performance of *Tribolium Castaneum* (Herbest) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Inter. J. Appl. Biol; Pharm.Technol.*, **3** (1): 76-84.
- Arrendondo-Jiménez J.I. and Valdez-Delgado K.M. 2006. Effect of Novaluron (Rimon 10 EC) on the mosquitoes *Anopheles albimanus*, *Anopheles pseudopunctipennis*, *Aedes aegypti*, *Aedes albopictus* and *Culex quinquefasciatus* from Chiapas, Mexico. *J. Medic. Vet. Entomol.*, **20**: 377-387.

Références

- Arthur F.H. and Fontenot E.A. Residual activity of methoprene and novaluron as surface treatments to manage the flour beetles, *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum*. *J. Insect Sc.*, **12 (95)**: 1-11.
- Assar A.A., Abo El-Mahasen M.M., Khalil M.E. and 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.
- Bakr R.F., Abdel Fattah H.M. and Mohamed E.K. 2007. Effect of chitin synthesis inhibitor, lufenuron on the development, haemolymph and antennal sensilla of *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). *African J. Biol. Sc.*, **3 (2)**: 35-43.
- Bakr R.F., Ghoneim K.S., Al-Dali A.G., Tanani M.A and Bream A.S. 2008. Efficiency of the chitin synthesis inhibitor lufenuron (cga-184699) on growth, development and morphogenesis of *Schistocerca gregaria* (orthoptera: acrididae). *Egypt. Acad. J. biolog. Sci.*, **1 (1)**: 41- 57.
- Bakr R.F.A., Isa M.S. Gabry and Guneidy A.M. 1997. Histopathological changes in *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) induced by juvenile hormone mimics. *J. Egypt. Ger. Soc. Zool.*, **22 (E)**: 27-45.
- Batra C.P., Mittal P.K., Adak T. and Ansari M.A. 2005. Efficacy of IGR compound Starycide 480 SC (Triflumuron) against mosquito larvae in clear and polluted water. *J. Vect. Born. Dis.*, **42**: 109-116.
- Bayoumi E., Balana-Fouce R., Sobeiha K. and Hussein M.K. 1998. The biological activity of some chitin synthesis inhibitors against the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae). *Bol. San.Veg. Plagas*, **24**: 499 -506.
- Becker N., Petric D., Zgomba M., Boase C., Madon M., Dahl C. and Kaiser A. 2010. Mosquitoes and their control. *Springer*, Heidelberg, Dordrecht, New York. 577p.
- Behroozi Moghadam E., Izadi H., Samih M.A., Moharramipour S. and Mahdian K. 2011. Effect of insect growth regulators, temperature and overwintering on larvae of pistachio white leaf borer, *Ocneria terebintina* Stgr. (Lepidoptera: Lymantriidae). *Intern. J. Agric. Biol.*, **13**: 375-380.
- Belinato T.A., Martins A.J., Lima J.B.P., De Lima-Camara T.N., Peixoto A.A. and Valle D. 2009. Effect of the chitin synthesis inhibitor triflumuron on the development, viability and reproduction of *Aedes aegypti*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, Rio de Janeiro., **104 (1)**: 43-47.
- Belinato T.A., Martins A.J. and Valle D. 2012. Fitness evaluation of two Brazilian *Aedes aegypti* field populations with distinct levels of resistance to the organophosphate temephos. *Mem. Inst.*, Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, **107 (7)**: 916-922.
- Bell W.J. and Barth R.H. 1971. Initiation of yolk deposition by juvenile hormone. *Nature-New Biol.*, **230**: 220-225.

Références

- Bendali F., Djebbar F. and Soltani N. 2001. Efficacité comparée de quelques especes de poissons à l' égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, **57 (4)**: 255-265.
- Bendali-Saoudi F. 2006. Etude bioécologique, Systématique et Biochimique des Culicidae (Diptera- Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte biologique anticulicidienne. Thèse de Doctorat d'Etat en science Naturelle. Universiré Badji Mokhtar Annaba, Algérie.
- Bendali-Saoudi F., Oudainia W., Benmalek L., Tahar A. and Soltani N. 2013. Morphometry of *Culex pipiens pipiens* Linneus , 1758 (Dipterae;Culicidae) principal vector of West Nile Virus, harvested from 2 zones, humid, semiarid (East of Algeria). *Ann. Biol. Res.*, **4 (10)**: 79-86.
- Berghiche H., Houamria M., Van de Velde S., Soltani N. and 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.
- Berghiche H., Smagghe G. and Soltani N. 2003. *In vitro* effects of RH-0345 and KK-42 on ecdysteroid levels and cuticle synthesis by pupal integument of mealworms. *Comm. Appl. Biol. Sci.*, Ghent University, **68 (1)**: 43-48.
- Bonde J.P., Toft G., Rylander L., Rignell-Hydbom A., Giwercman A., Spano M., Manicardi G. C., Bizzaro D., Ludwicki J.K., Zvyezday V., Bonefeld-Jorgensen E.C., Pedersen H.S., Jonsson B.A. and Thulstrup A.M. 2008. Fertility and markers of male reproductive function in Inuit and European populations spanning large contrasts in blood levels of persistent organochlorines. *Environ. Health Perspect*, **116**: 269-277.
- Bouabida H., Djebbar F. and Soltani N. 2012. Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Faun. Entomol.*, **65**: 99-103.
- Bouaziz A., Boudjelida H. and Soltani N. 2011. Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Ann. Biol. Res.*, **2 (3)**: 134-143.
- Boudemagh N., Bendali-Saoudi F. and Soltani N. 2013. Inventory of Culicidae (Diptera: Nematocera) in the region of Collo (North-East Algeria). *Ann. Biol. Res.*, **4 (2)**: 94-99.
- Boudjelida H., Aïssaoui L., Bouaziz A., Smagghe G. and Soltani N. 2008. Laboratory evaluation of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac WDG) against mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Commun Agric Appl. Biol. Sci.*, **73 (3)**: 603-9.
- Boudjelida H., Bouaziz A., Smagghe G. and 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.

Références

- Boudjelida H., Bouaziz A., Thomas S., Smaghe G. and Soltani N. 2005. Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pest. Bioch. and Physiol.*, **83**: 115- 123.
- Bouzeraa H. and Soltani-Mazouni N. 2012. Effets du méthoxyfénozide et du tébufénozide sur le développement et quelques paramètres de la reproduction d'*Ephestia kuehniella* après traitement des mâles et des femelles. *Bull. Soc. Zool. Fr.*, **137 (1-4)**: 153-163.
- Bradford M.M. 1976. A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding. *Analytic. Biochem.*, **72**: 248 -254.
- Cachareul A. 1997. Les moustiques: cycle de developpement, aspects anatomo-physiologiques et regulation du cycle ovarien. *Th. Med.Vet.*, Nantes. **24**: 131p.
- Campbell G.L., Marfin A.A., Lanciotti R.S. and Gubler J.D. 2002. West Nile virus. *Lancet Infect. Dis.*, **2**: 519-529.
- Calzolari M., Bonilauri P., Bellini R., Albieri A. and Defilippo F. 2010. Evidence of simultaneous circulation of West Nile and Usutu viruses in mosquitoes sampled in Emilia-Romagna region (Italy) in 2009. *PLoS One*, **5**: e14324.
- Cetin H., Erler F. and Yanikoglu A. 2006. Larvicidal activity of novaluron, a chitin synthesis inhibitor, against the house fly, *Musca domestica*. *J. Insect Sci.*, **6**: 1- 4.
- Chandra G., Bhattacharjee I., Chatterjee S.N. and Ghosh A. 2008. Mosquito control by larvivorous fish. *Indian J. Med. Res.*, **127**: 13–27.
- Chandra A. and Tiwari S.K. 2013. Insecticidal effect of methoprene on the pre-adult stages of almond moth, *Ephestia cautella* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Biol. Earth. Sci.*, **3 (2)**: B269-B274.
- Chapman A.D. 2009. Numbers of Living Species in Australia and the World. *Australian Biological Resources Study*. pp 1-84.
- Chen C.D., Seleena B., Chiang Y.F. and Lee H.L. 2008. Field evaluation of the bioefficacy of diflubenzuron (Dimilin) against container-breeding *Aedes* sp. mosquitoes. *Trop. Biomed.*, **25**: 80-86.
- Chino H., Katas H., Dawner R.C. and Hard Takahashi K. 1981. Diacylglycerol, carrying lipoprotein of haemolymph of the American cockroach: purification, characterization and function. *J. Lipid Res.*, **22**: 7-15.
- Chouahda S., Sifi K. and Soltani N. 2005. Toxicité du cadmium et de l'halofénozide chez les alvins d'un poisson culiciphage *Gambusia affinis*: croissance et activités enzymatiques. *Bulletin I.N.S.T.M.*, **10**; 137-140.
- Clements A.N. 1992. The Biology of Mosquitoes. Development, Nutrition and Reproduction. *Chapman & Hall*, New York, USA. **(1)**: p 509.

Références

- Clement A.N. 1999. The Biology of Mosquitoes: Sensory Reception and Behaviour. *CAB International Publishing*, p 576.
- Clements A.N. 2000. The biology of mosquitoes: development, nutrition and reproduction. *CAB International Publishing*, Eastbourne.
- Colborn T. 2006. A case for revisiting the safety of pesticides: a closer look at neurodevelopment. *Environ. Health. Perspect.*, **114**: 10-17.
- Cloyd R.A., Keith S.R. and Galle C.L. 2004. Effect of the insect growth regulator novaluron (Pedestal) on silverleaf whitefly reproduction. *Hort. Technol.*, **14**: 551-554.
- Costa L.G., Giordano G., Guizzetti M. and Vitalone A. 2008. Neurotoxicity of pesticides: a brief review. *Front. Biosci.*, **13**: 1240-1249.
- Cutler G.C., Scott-Dupree C.D., Tolman J.H. and Harris C.R. 2005. Acute and sublethal toxicity of novaluron, a novel chitin synthesis inhibitor, to *Leptinotarsa decemlineata* (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pest Manage. Sci.*, **61**: 1060–1068.
- Cutler G.C., Scott-Dupree C.D., Tolman J.H. and Harris C.R. 2007. Field efficacy of novaluron for control of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) on potato. *Crop Protectio*, **26**: 760–767.
- Dapporto L., Lambardi D. and 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.
- Dash A.P., Raghavendra K. and Pillai M.K.K. 2006. Combating Resistance to Insecticides in Malaria Control- Gains Made in India. *Bayer Environ. Sci. J.*, **18**: 30–37.
- Davies T.G., Lockley W.J.S., Boid R., Rees H.H. and Goodwin T.W. 1980. Mechanism of formation of the A/B cis ring junction of ecdysteroids in *Polypodium vulgare*. *Biochem. J.*, **190** (3): 537-544.
- Dean S.R., Meola R.W., Meola S.M., Sittertz-Bhatkar H. and Schenker R. 1999. Mode of action of lufenuron in adult *Ctenocephalides felis* (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Med. Entomol.*, **36**: 486-492.
- Delbecq J.P., Weidner K. and Hoffmann K.L. 1990. Alternative sites of ecdysteroid Production in insect. *Invert. Reprod. Develop.*, **18**: 29-42.
- De Loof A. 2006. Ecdysteroids: the overlooked sex steroids of insects? Males: the black box. *Insect Sci.*, **13**: 325–338.
- Den Hond E. and Schoeters G. 2006. Endocrine disrupters and human puberty. *Int. J. Androl.*, **29**: 264-290.

Références

- De Reggi M.L., Pitoizet N., Gharib B. and Delbecque J.P. 1992. New enzyme immunoassay for ecdysteroids using peroxidase enzyme and polyclonal or monoclonal antibodies. Xth Ecdysone Workshop, Liverpool 6–7th April. Abstract p. 9
- Devenport M. and Jacobs-Lorena M. 2005. The peritrophic matrix of hematophagous insects. In: Marquardt W. (Ed). *Biology of Disease Vectors, second ed, Elsevier Academic Press*, New York, pp 297-310.
- Devine W.P., Lubarsky B., Shaw K., Luschnig S., Messina L. and Krasnow M.A. 2005. Requirement for chitin biosynthesis in epithelial tube morphogenesis. *PNAS.*, **102**: 17014-17019.
- Dhadialla T.S., Carlson G.R., & De D.P. 1998. New bib0360 insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annu. Rev. Entomol.*, **43**: 545–569.
- Dhadialla T.S., Retnakaran A. and Smagghe G. 2005. Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert L.I., Kostas I. and Gill S. (Eds.), *Comprehensive Insect Mol. Sci.*, Pergamon Press, New York, **6**: 55–116.
- Dharmagada V.S.S., Naik S.N., Mittal P.K. and Vasudevan P. 2005. Larvicidal activity of Tagetes patula essential oil against three mosquito species. *Bioresour. Technol.*, **96**: 1235-1240.
- Downer R.G.H. 1985. Lipid metabolism. In: Kerkut GA, Gilbert L (Eds.), *Comprehensive insect biochemistry, physiology and pharmacology*. Pergamon Press, Oxford, **10**: 77-113.
- Dua V.K., Pandey A.C., Alam M.E. and Dash A.P. 2006. Larvicidal activity of *Hibiscus abelmoschus* Linn. (Malvaceae) against mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.*, **22**: 155–157.
- Duchateau G. and Florquin M. 1959. Sur la trehalosemie des insectes et sa signification. *Arch. Insect Physiol. Biochem.*, **67**: 306-314.
- Elek J.A. 1998. Treatment of adult Coleoptera with a chitin synthesis inhibitor affects mortality and development time of their progeny. *Entomol. Exp. Appl.*, **88**: 31-39.
- El-Shazly M.M. and Refaie B.M. 2002. Larvicidal effect of the juvenile hormone mimic pyriproxyfen on *Culex pipiens*. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.*, **18**:321-328.
- Euzeby J. 2008. Grand dictionnaire illustre de parasitologie medicale et veterinaire. Paris: Editions Tec & Doc. p 818.
- Farnesi L.C., Brito J.M., Linss J.G., Pelajo-Machado M., Valle D. and Rezende G.L. 2012. Physiological and Morphological Aspects of *Aedes aegypti* Developing Larvae: Effects of the Chitin Synthesis Inhibitor Novaluron. *PLoS ONE*, **7** (1): e30363.

Références

- Fischer R.A. and Yates. 1957. Statistical tables for biological agricultural and medical research .5^{ème} edition, Oliver and Boyd. London. pp 64-66.
- Finney D.J. 1971. Probit analysis (3^{ème} edn) Cambridge University Press, London: p 38.
- Fontoura N.G., Bellinato D.F., Valle D. and Lima J.B.P. 2012. The efficacy of a chitin synthesis inhibitor against field populations of organophosphate-resistant *Aedes aegypti* in Brazil *Mem. Inst., Oswaldo Cruz*, **107 (3)**:
- Fournet F., Sannier C. and Monteny N. 1993. Effects of the insect growth regulators OMS-2017 and diflubenzuron on the reproductive potential of *Aedes aegypti*. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **9**: 426-430.
- Friend D.S. and Faquhar H.E. 1967. Functions of coated vesicles during protein absorption in the rat vas deferens. *J. Cell. Biol.*, **35**: 359 – 376.
- Gäde G., Hoffman N.H. and Spring J.H. 1997. Hormonal regulation in insects: Facts, Gaps, and Future directions, *J. Physiol. Rev.*, **77 (4)**: 263-1032.
- Gäde G. 2004. Regulation of intermediary metabolism and water balance of insects by neuropeptides. *Ann. Rev. Entomol.*, **49**: 93–119.
- Gangishetti U., Breitenbach S., Zander M., Saheb S.K., Müller U., Schwarz H. and Moussian B. 2009. Effects of benzoylphenylurea on chitin synthesis and orientation in the cuticle of the *Drosophila* larva. *Eur. J. Cell Biol.*, **88**: 167-180.
- George S. and Vincent S. 2005. Comparative efficacy of *Annona squamosa* Linn and *Pongamia glabra* Vent. to *Azadirachta indica* A. Juss against mosquitoes. *J. Vector Borne Dis.*, **42**: 159-163.
- Ghoneim K.S., Al-Dali A.G. and 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., Amer M.S., Bream A.S., Al-Dali A.G. and Hamadah Kh.Sh. 2005. Quantitative protein responsiveness of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to certain IGRs and plant extracts. *Egypt. J. Biomed. Sci.*, **17**: 218-230.
- Ghoneim K.S., Hamadah Kh.Sh. and 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.
- Ghosh S.K., Tiwari S.N., Sathyanarayan T.S., Sampath T.R.R., Sharma V.P., Nanda N., Joshi, H., Adak T. and Subbarao S.K. 2005. Larvivorous fish in wells target the malaria vector

Références

- sibling species of the *Anopheles culicifacies* complex in villages in Karnataka, India. *Trans.. Soc. Trop. Med. Hyg.*, **99**: 101–105.
- Giorgi F. 1979. In vitro induced pinocytotic activity by a juvenile hormone analogue in oocytes of *Drosophila melanogaster*. *Cell Tissue Res.*, **203**: 241–247.
- Glitho I., Delbeque J.P. and Delachambre J. 1979. Prothoracic gland involution related to molting hormone levels during the metamorphosis of *Tenebrio molitor* (L.). *Insect physiol.*, **25**: 187-191.
- Gökçe A., Kim S.H., Wise J.C., Whalon M.E. 2009. Reduced egg viability in codling moth *Cydia pomonella* (L.) (Lepidoptera: Tortricidae) following adult exposure to novaluron. *Pest Manag. Sci.*, **65**: 229- 234.
- Goldsworthy A.C., Mordue W. and Guthkelch J. 1972. Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18**: 306-314.
- Gorman K., Hewitt F., Denholm I. and Devine G.J. 2002. New developments in insecticide resistance in the glass house whitefly (*Trialeurodes vaporariorum*) and the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) in the UK. *Pest Manag. Sci.*, **58**: 123–130.
- Gould E.A. and Solomon T. 2008. Pathogenic flaviviruses. *Lancet*, **371**: 500-509.
- Gourmelon A. and Ahtiainen J. 2007. Developing test guidelines on invertebrate development and reproduction for the assessment of chemicals, including potential endocrine active substances-The OECD perspective. *Ecotoxicol.*, **16**:161-167.
- Grafton-Cardwell E.E., Godfrey L.D., Chaney W.E., and Bentley W.J. 2005. Various novel insecticides are less toxic to humans, more specific to key pests. *Calif. Agric.*, **59**:29-34.
- Grandjean P. and Landrigan P.J. 2006. Developmental neurotoxicity of industrial chemicals. *Lancet*, **368**: 2167-2178.
- Gupta M. and Gupta A.K. 2013. Experimental analysis of chitin synthesis inhibitors against the larvae of *Euprotis icilia* stoll: longevity and weight loss. *J. Exp. Zool. India*, **16 (2)**: 583-590.
- Halstead S.B. 2007. Dengue. *Lancet*. **370 (9599)**:1644-1652.
- Hamadah Kh.Sh., Ghoneim K.S. and 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. Res.*, **6 (9)**: 121-128.
- Hamadah Kh.Sh. 2014. Metabolic activity of the chitin synthesis inhibitor, Flufenoxuron, on the desert locust *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). *J. Entomol. Zool. Studies*, **2 (1)**: 87-95.

Références

- Harbach R.E. 2007. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa*, **168**: 591-688.
- Hassan A.E.M. and Charnley A.K. 1987. The effect of Dimilin on the ultrastructure of the integument of *Manduca sexta*. *J. Insect Physiol.*, **33**: 669-676.
- Hassan H.A. 2009. Efficiency of some new insecticides on physiological, histological and molecular level of cotton leafworm. *Egypt. Acad. J. biolog. Sci.*, **2 (2)**: 197-209.
- Hegedus D., Erlandson M., Gillott C. and Toprak U. 2009. New insights into peritrophic matrix synthesis, architecture, and function. *Annu. Rev. Entomol.*, **54**: 285-302.
- Himmi O., Dakki M., Bouchera T. and EL Agbani M.A. 1995. Les Culicidae du Maroc : Clés d'identification, avec données biologiques et écologiques. *Travaux de l'Institut Scientifique. Série Zoologie Rabat*, **44**: 50-56.
- Hirashima R., Takeya E., Tanigushi M. and Eto M. 1995. Metamorphosis, activity of juvenile hormone esterase and alteration of ecdysteroid titers: effects of larval density and various stresses on the red flour beetle *Tribolium freemani* Hinton (Coleoptera: Tenebrionidae). *J. Insect Physiol.*, **41**: 383-388.
- Huang X., Warren J.T. and Gilbert L.I. 2008. New players in the regulation of ecdysone biosynthesis. *J. Genet. Genomics*, **35**: 1-10.
- Hubàlek Z. 2008. Mosquito-borne viruses in Europe. *Parasitol. Res.*, **103 (1)**: 29-43.
- Huber R. and Hoppe W. 1965. Zur Chemie des Ecdysons. VII. Die Kristall- und Molekülstruktur Analyse des Insektenverpuppungshormons Ecdyson mit der automatisierten Faltmolekülmethode. *Chemische Berichten*, **98**: 2403-2404.
- Ijumba J.N., Mtana R.R. and Suya T.B. 2010. Bio-Efficacy of Novaluron, a Chitin-Synthesis Inhibitor against Larval Stages of *Culex Quinquefasciatus* and *Anopheles Gambiae Sensu Lato*. *Europ. J. Sci. Res.*, **47 (3)**: 484-494.
- 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. pp365-376.
- Jambulingam P., Sadanandane C., Nithiyanthan N., Subramanian S. and Zaim M. 2009. Efficacy of novalurn against *Culex quiiquefasciatus* in small- and medium- scale trials, India. *J. Amer. Mosq. Cont. Assoc.*, **25 (3)**: 315-322.
- Jones K.E., Patel N.G., Levy M.A., Storeygard A., Balk D., Gittleman J.L. and Daszak P. 2008. Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, **451**: 990-993.

Références

- Kammaing K.L., Kuhar T.P. and Wimer A. 2012. Effects of the Insect Growth Regulators Novaluron and Diflubenzuron on the Brown Marmorated Stink Bug. *Plant Health Progress*. Online. *Plant Health Progress*. doi:10.1094/PHP-2012-1212-01-RS.
- Karnovski M.J. 1965. A formaldehyde – glutaraldehyde fixative of high osmolarity for use in electron microscopy. *J. Cell. Biol.*, **27**:137 A.
- Kato N., Mueller C.R., Fuchs J.F., Wessely V., Lan Q. and Christensen B.M. 2006. Regulatory mechanisms of chitin biosynthesis and roles of chitin in peritrophic matrix formation in the midgut of adult *Aedes aegypti*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **36**: 1-9.
- Kawooya J.K. and Law J.H. 1988. Uptake of the major hemolymph lipoprotein and its transformation in the insect egg. *J. Biol. Chem.*, **263**: 8740–8747.
- Keeley L.L. 1985. Physiology and biochemistry of fat body. In: Kerkut GA, Gilbert L (Eds.), *Comprehensive Insect Biochemistry, Physiology and Pharmacology*. Pergamon Press, Oxford, **3**: 211-248.
- Khalil M.S., Assar A.A., Abo El-Mahasen M.M. and 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.
- Khan I. and Qamar A. 2012. Andalin, an Insect Growth Regulator, as Reproductive Inhibitor for the Red Cotton Stainer, *Dysdercus koenigii* (F.) (Hemiptera: Pyrrhocoridae). *Acad. J. biolog. Sci.*, **5** (2): 113-121.
- Khan I. and Qamar A. 2011. Biological activity of andalin (flucycloxuron), a novel chitin synthesis inhibitor, on Red Cotton Stainer *Dysdercus koenigii* (Fabricius). *Biology and Medicine*, **3** (2): 324-335.
- Khebbab M.E.H., Gaouaoui R. and Bendjeddou F. 2008. Tebufenozide effects on the reproductive potentials of the mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. *African J. Biotech.*, **7** (8): 1166-1170.
- Kim K.S., Chung B.J. and Kim H.K. 2000. DBI-3204: A new benzoylphenyl urea insecticide with particular activity against whitefly. Proceedings of the British Crop Protection Council Conference, *Pests and Diseases*, (1): 41-46.
- Kim, S.H.S, Wise J.C., Gökçe A. and Whalon M.E. 2011. Novaluron Causes Reduced Egg Hatch After Treating Adult Codling Moths, *Cydia pomonella*: Support for Transovarial Transfer. *J. Insect Sci.*, **11** (126): 1-19.
- Kilby B.A. 1963. The biochemistry of the insect. *Fact. Adv. Insect Physiol.*, **1**: 112-174.

Références

- Kostyukovsky M., Chen B., Atsm S. and Shaaya E. 2000. Biological activity of two juvenoids and two ecdysteroids against three stored product insects. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, **30**: 891-897.
- Kramer L.D., Styer L.M. and Ebel G.D. 2008. A global perspective on the epidemiology of West Nile virus. *Annu. Rev. Entomol.*, **53**: 61-81.
- Krida G., Diancourt L., Bouattour A., Rhim A., Chermiti B. and Failloux A.B. 2011. Assessment of the risk of introduction to Tunisia of the Rift Valley fever virus by the mosquito *Culex pipiens*. *Bull. Soc. Pathol. Exot.*, **104 (4)**: 250-259.
- Kuwano E., Takeya R. and Eto M. 1983. Terpenoid imidazoles: New anti-juvenile hormones. *Agric. Biolo. Chem.*, **47**: 921-923.
- Kuwano E., Takeya R. and Eto M. 1985. Synthesis and antijuvenile hormone activity of 1-Substituted-5-(E) – 2,6 – dimethyl – 1,5 – heptadienyl) imidazoles. *Agri. Biol. Chem.*, **49**: 483-486.
- La Ruche G., Souares Y., Armengaud A., Peloux-Petiot F., Delaunay P. and Despres P. 2010. First two autochthonous dengue virus infections in metropolitan France. *Euro Surveillance*, p 15.
- Le Guenno B., Bougermouh A., Azzam T. and Bouakaz R. 1996. West Nile: a deadly virus? *Lancet*, **348**: p 1315.
- Leonardi M.G., Marciani P., Montorfono P.G., Cappellozza S., Giordana B. and Monticalli G. 2001. Effects of fenoxycarb on leucine uptake and lipid composition of midgut brush border membrane in the silkworm, *Bombyxo moryi* (Lepidoptera: Bombycidae). *Pest. Biochem. Physiol.*, **70 (1)**: 42-51.
- Lima E.P., Paiva S.M.H., De Araujo A.P., Da Silva.E.V.G., Da Silva U.M., De Oliveira L.N., Santana A.E.G., Barbosa C.N., De Paiva Neto C.C., Goulart M., Wilding C.S. Ayes C.F.J. and De Melo S.M.A., 2011. Isecticide resistannce in *Aedes aegypti* populations from Ceara, Brazil. *Parasites and Vectors*, **4**: 25-33.
- Linduska J.J., Ross M., Abbott B., Steele S. and Eastman R. 2001. Colorado potato beetle control on potatoes. *Arthropod Management Tests* 26. Report n°. E51.
- Linduska J.J., Ross M., Abbott B., Steele S., Ross R. and Eastman R. 2002. Colorado potato beetle control on potatoes. *Arthropod Management Tests* 27. Report n°. E69.
- Linné C. 1785. Systema naturae per regna fria naturae. Edition 10. *Holmia*. **(1)**: 82.
- Locke M. 2001. The Wigglesworth Lecture: insects for studying fundamental problems in biology. *J. Insect. Physiol.*, **4**: 495-507.

Références

- Loeb M., Woods C.W., Brandit E.P. and Borkovec A.B. 1982. Larval testes of tobacco budworm: A new source of insect ecdysteroids. *Sci.*, **218**: 896- 898.
- Lohmeyer K.H. and Pound J.M. 2012. Laboratory Evaluation of Novaluron as a Development Site Treatment for Controlling Larval Horn Flies, House Flies, and Stable Flies (Diptera: Muscidae). *J. Med. Entomol.*, **49** (3): 647-651.
- Mannelli A., Martello M., Tomassone L., Calzolari M. and Casalone C. 2012. Inventory of available data and data sources and proposal for data collection on vector-borne zoonoses in animals. *EFSA External Scientific Report*, EN-234.
- Marquardt W.C. 2005. Biology of disease vectors, second edition. *Clin. Infect. Dis.*, **41** (11): 1692-1693.
- Martins A.J., Belinato T.A., Lima J.B.P. and Valle D. 2008. Chitin synthesis inhibitor effect on *Aedes aegypti* populations susceptible and resistant to organophosphate temephos. *Pest Manag. Sci.*, **64**: 676-680.
- Masler E.P., Fuchs M.S., Sage B. and O'Connor J.D. 1980. Endocrine regulation of ovarian development in autogenous mosquito, *Aedes atropalpus*. *Gen. Comp. Endocrin.*, **41**: 250-259.
- Mavoungou J.F., Simo G., De Stordeur E. and Duvallet G. 2008. Ecologie des stomoxes (Diptera : Muscidae) au Gabon II. Origine de repas de sang et conséquences épidémiologiques. *Parasite*, **15**: 611-615.
- Mbare O., Lindsay S.W. and Fillinger U. 2013. Dose–response tests and semi-field evaluation of lethal and sub-lethal effects of slow release pyriproxyfen granules (Sumilarv[®]0.5G) for the control of the malaria vectors *Anopheles gambiae* sensu lato. *Malaria Journal*, **12**: 94-103.
- Mervat A., kandil A.F., Ahmed and Hemat Z.M. 2010. Toxicological and biochemical studies of lufenuron, chlorfluazuron and chromafenozide against *Pectinophora gossypiella* (Saunders). *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.*, **4** (1): 37- 47.
- Merzendorfer H., Kim H.S., Chaudhari S.S., Kumari M., Specht C.A., Butcher S., Brown S.J., M.J., Beeman R.W., Kramer K.J. and Muthukrishnan S. 2012. Genomic and proteomic studies on the effects of the insect growth regulator diflubenzuron in the model beetle species *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **42**: 264-276.
- Merzendorfer H. and Zimoch L. 2003. Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *J. Exp. Biol.*, **206**: 4393-4412.
- Messai N., Berchi S., Boulknafd F. and Louadi K. 2010. Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera: Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). *Entomologie faunistique*, **63** (3): 203-206.

Références

- Morens D.M., Folkers G.K., and Fauci A.S. 2004. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature*, **430**: 242-249.
- Moussian B., Schwarz H., Bartoszewski S. and Nüsslein-Volhard C. 2005. Involvement of chitin in exoskeleton morphogenesis in *Drosophila melanogaster*. *J. Morphol.*, 264: 117-130.
- Moutailler S., Krida G., Schaffner F., Vazeille M. and Failloux A.B. 2008. Potential vectors of Rift Valley fever virus in the Mediterranean Region. *Vector Borne Zoonot Dis.*, **8**: 749-753.
- Mulla M.S., Thavara U., Tawatsin A., Chomposri J., Zaim M. and Su T. 2003. Laboratory and field evaluation of novaluron a new acylurea insect growth regulator against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Vector. Ecol.*, **28**: 241-254.
- Mullen G. and Durden L. 2002. Medical and veterinary entomology. *Academic Press*, Amsterdam, p 591.
- Nachmansohn D. 1966. Role of acetylcholine in neuromuscular transmission. *Ann. of the N Y. Acad. of Sci.*, **135** (1): 136–149.
- Nakagawa Y. and Henrich V.C. 2009. Arthropod nuclear receptors and their role in molting. *J. FEBS.*, **276** (21):6128–6157.
- Nwankwo E.N., Okonkwo N.J., Ozumba N.A. and Okafor E.G. 2011. Comparative Studies on the Larvicidal Action of Novaluron (Mosquiron 100EC) and Moringa Oliefera (LAM) Seed Oil against *Aedes Aegypti* (Diptera: Culicidae) Larvae. *International Multi-Disciplinary Journal, Ethiopia*. **5** (1): 424-437.
- Neubueser D., Warren J.T., Gilbert L.I. and Cohen S.M. 2005. Molting defective is required for ecdysone biosynthesis. *Devp. Biol.*, **280** (2): 362-372.
- Norman K.N.T. 2000. The persistence of methyl bromide residues in rice, dried fruits, seeds and nuts following laboratory fumigation. *Pest. manag. Sci.*, **56**: 154-158.
- Oberlander H. and Silhacek D.L. 2000. Insect growth regulators. In: Subramanyam, B., Hagstrum, D.W. (Eds.), Alternatives to Pesticides in Stored-Product IPM. *Kluwer Academic Publishers*, Massachusetts, pp147–163.
- Osta M.A., Rizk Z.J., Labbé P., Weill M. and Knio K. 2012. Insecticide resistance to organophosphates in *Culex pipiens* complex from Lebanon. *Parasit Vectors*, **3** (5):132.
- Paoletti M.G. and Pimentel D. 2000. Environmental risks of pesticides versus genetic engineering for agricultural pest control. *J. Agr. Environ. Ethic.*, **12** (3): 279-303.
- Parween S., Faruki S.I. and Begum M. 2001. Impairment of reproduction in the red flour beetle, *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) due to larval feeding on triflumuron treated diet. *J. Appl. Entomol.*, **125**: 413-416.

Références

- Perveen F. and Miyata T. 2000. Effects of sublethal dose of Chlorfluazuron on ovarian development and oogenesis in the common cutworm, *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann. Entomol. Soc. Amer.*, **93** (5): 1131-1137.
- Perveen F. 2010 Effects of Sublethal Doses of Chlorfluazuron on Embryogenesis in *Spodoptera litura*. *J. Agric. Sci. Technol.*, **4**: 115-126.
- Perveen F. 2011. Effects of sublethal doses of chlorfluazuron on the biochemical constituents of the eggs of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *The Canadian Entomologist*, **143** (2): 178-184.
- Perveen F. 2011. Effects of Chlorfluazuron Sublethal Doses on Spermatogenesis of Adult Common Cutworm, *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Agri. Sci. Technol.*, **5**: 933-941.
- Perveen F. 2011. Effects of sublethal doses of chlorfluazuron on the ovarian biochemical constituents of *Spodoptera litura*. *J. Agri. Sci. Technol.*, **10** (62):13598-13604.
- Porcheron P., Morinière M., Grassi J. and Pradelles P. 1989. Development of a competitive enzyme immunoassay for ecdysteroids using acetylcholine esterase as label. *Insect Biochem.*, **19**:117-122.
- Pramanik M.K. and Aditya G. 2009. Immatures of *Lutzia fuscana* (Wiedemann, 1820) (Diptera: Culicidae) in ricefields: implications for biological control of vector mosquitoes. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, **2**: 29-34.
- Rashad A.M., Hewady M.A.A. and Kandil M.A.A. 2006. Effect of neemazal, spinosad and dimilin on some biological and physiological activities of pink bollworm *Pectinophora gossypiella* (Saund.) *Ann. Agri. Sci. Mosh.*, **44** (1):304-319.
- Rehimi N. and Soltani N. 1999. Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis inhibitor agonist *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). Effects on development and cuticle secretion. *J. Appl. Ent.*, **123**: 437-441.
- Rehimi N. and Soltani N. 2002. Laboratory Evaluation of Andalin, an Insect Growth Regulator Interfering with Cuticle Deposition, against Mosquito Larvae. *Revue Scientifique et Technique*. **18**: 106-108.
- Regniere J. 2009. Predicting insect continental distributions from species physiology. *Physiol. Entomol.*, **17**: 14-19.
- Reusken C., De Vries A., Ceelen E., Beeuwkes J. and Scholte E.J. 2011. A study of the circulation of West Nile virus, Sindbis virus, Batai virus and Usutu virus in mosquitoes in a potential high-risk area for arbovirus circulation in the Netherlands De Oostvaardersplassen. *Eur. Mosquito Bull.*, **29**: 66-81.

Références

- Rewitz K.F., Rybczynski R., Warren J.T. and Gilbert L.I. 2006. The Halloween genes code for cytochrome P450 enzymes mediating synthesis of the insect moulting hormone. *Biochem Soc Trans.*, **34**: 1256–1260.
- Rewitz K.F., Yamanaka N., Gilbert L.I. and O'Connor M.B. 2009. The insect neuropeptide PTTH activates receptor tyrosine kinase torso to initiate metamorphosis. *Sci.*, **326**: 1403–1405.
- Riddiford L.M. 1993. Hormones and Drosophila development. In: Bate M, Martinez-Arias M, editors. The development of Drosophila melanogaster. *Cold Spring Harbor: Laboratory Press*, pp 899–940.
- Ripert C. 2007. Epidemiologie des maladies parasitaires, tome 4, affections provoquées ou transmises par les arthropodes. Cachan: *EM inter*. p 581.
- Rodriguez-Ortega M.J., Grosvik B.E., Rodriguezariza A., Goksoyr A. and Lopez-Barea J. 2003. Changes in protein expression profiles in bivalve molluscs (*Chamaeleagallina*) exposed to four model environmental pollutants. *Proteomics*, **3**: 1535–1543.
- Sagheer M., Yasir M., Khan B.S. and Mansoor-ul-Hasan. 2011. Ovicidal and reproduction inhibition activity of flufenoxuron, an acylurea insect growth regulator, against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Pak. Entomol.*, **33 (2)**: 131-136.
- Salem D., Helmy N., Radwan W., Bakr R., Gueindy N. and Mohammed Sh. 2012. Effect of a selected rice bran extract and a chitin synthesis inhibitor on viability of eggs of the house fly *Musca domestica* Lin-naeus. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.*, **5 (2)**: 1-12.
- Salokhe S.G., Deshpandeb S.G., Mukherjib S.N., Pakhale K. and Maniyarc A.B. 2013. IGR, Lufenuron, alters chitin and total soluble protein content of *Aedes aegypti* larvae during development. *Int. J. Curr. Sci.*, **7 (E)**: 134-138.
- Salokhe S.G., Mukherjee S.N., Deshpande S.G. and Matthad J.R. 2010. Effect of sub lethal concentrations of insect growth regulator, Lufenuron on larval growth and development of *Aedes aegypti*. *Current Sci.*, **99 (9)**: 1256- 59.
- Salokhe S.G., Pal J.K. and Mukherjee S.N. 2003. Effect of sublethal concentrations of flufenoxuron on growth, development and reproductive performance of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) *Invert. Reprod. Develop.*, **43**:141-150.
- Sathantriphop S., Paeporn P. and Supaphathom K. 2006. Detection of insecticides resistance status in *Culex quinquefasciatus* and *Aedes aegypti* to four major groups of insecticides. *Trop. Biomed.*, **23 (1)**: 97–101.
- Savage H.M. and Miller B. 1995. House Mosquitoes of the U.S.A. *Culex pipiens* Complex. *Wing Beats*, **(6)**: 8-9.

Références

- Saxena S.C. and Mathur G. 1981. Suppression of adult emergence on treating eggs of *Tribolium castaneum* (Herbs") by new synthesized all-substituted benzoylphenyl urea compounds. *Current Sci.*, **50 (7)**: 336.
- Scharf M. E. Kaakeh W. and Bennett G.W. 1997. Changes in an insecticide-resistant field population of German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) after exposure to an insecticide mixture. *Econ. Entomol.*, **90**: 38-48.
- Schmidt-Chanasit J.,M Haditsch M., Schöneberg I., Günther S., Stark K. and Frank C. 2010. Dengue virus infection in a traveller returning from Croatia to Germany. *Euro. Surveillance*, p 15.
- Schoeters G. and Hoogenboom R. 2006. Contamination of free-range chicken eggs with dioxins and dioxin-like polychlorinated biphenyls. *Mol. Nutr. Food Res.*, **50**: 908-914.
- Sewell G.H. and Alyokhin A. 2003. Control of Colorado potato beetle on potato. *Arthropod Management Tests* 28. Report n°. E63, 1.
- Shahout H.A., Xu X., Qiao J. and 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.
- Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyneck C., New Hall. and 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.
- Sial A.A. and Brunner J.F. 2010. Lethal and Sublethal Effects of an Insect Growth Regulator, Pyriproxyfen, on *Obliquebanded Leafroller* (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Econ.Entomol.*, **103 (2)**: 340-347.
- Singh N. and Johnson D.T. 2013. Baseline Responses of *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) to Insect Growth Regulators. *J. Agric.Urb. Entomol.*, **29 (1)**: 35-54.
- Smagghe G., Nakagawa Y., Carton B., Kamel M.A., Fujita T. and Tirry L. 1999. Comparative ecdysteroid action of ring-substituted dibenzoylhydrazines in *Spodoptera exigua*. *Arch. insect Biochem. Physiol.*, **41**: 42-53.
- Smith S.L. 1985. Regulation of ecdysteroid titer: *Synthesis*, 295-341. In Kerkut G.A. and Gilbert L.I. (eds.). *Comprehensive Insect Physiology. Biochemistry and Pharmacology* 7. Pergamon Press, Oxford.
- Snedeker S.M. 2001. Pesticides and breast cancer risk: a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ. Health Perspect.*, **109 (1 1)**: 35-47.

Références

- Sokolova Y.Y., Dolgikh V.V., Morzhina E.V., Nasonova E.S. Issi I.V., Terry R.S., Ironside J.E., Smith J.E. and Vossbrinck C.R. 2003. Establishment of the new genus *Paranosema* based on the ultrastructure and molecular phylogeny of the type species *Paranosema grylli*. *Invert. Pathol.*, **84 (3)**: 159-172.
- Soltani-Mazouni N., Khebbab M.E.H. and Soltani N. 1999. Production d'ecdystéroïdes ovariens durant la maturation des oocytes chez *Tenebrio molitor*. *Ann. Soc. Entomol.*, France, **35**: 82-86.
- Soltani-Mazouni N. and Hami M. 2010. Effets de deux agonistes des ecdystéroïdes sur la reproduction chez *Ephestia kuehniella* (Insectes, Lépidoptères) : dosage des acides nucléiques et des protéines ovariens. *Travaux de l'Institut Scientifique, Série Zoologie, Rabat*, **47 (I)**: 153-156.
- Soltani-Mazouni N., Taibi F., Berghiche H., Smagghe G. and Soltani N. 2001- RH-0345 restored partly the effects induced by KK-42 on reproductive events in mealworms *Med . Fac Landbouww. Univ. Gent*, **66 (2a)**: 437-443.
- Soltani-Mazouni N., Hami M. and Gramdi H. 2012. Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephestia Kuehniella* Zeller. *Inverteb. Reprod. Develop.*, **56 (2)**: 157-163.
- Soltani N. 1984. Effects of ingested diflubenzuron on the longevity and peritrophic membrane of adult mealworms (*Tenebrio molitor* L.). *Pestic. Sci.*, **15**: 221-225.
- . Soltani N., Berghiche H. and Smagghe G. 2000 - Action of some moulting hormone agonists on integumental explants of mealworms: ecdysteroid production, cuticle deposition and protein analysis. *Med Fac. Landbouww. Univ. Gent*, **65 (2a)**: 431-439.
- Soltani N., Chouahda S. and 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 N., Chebira S., Delbecque J. and Delachambre J. 1993. Biological activity of Flucycloxuron, a novel benzoylphenylurea derivate, on *Tenebrio molitor*: comparison with Diflubenzuron and Tiflumuron. *Experientia*, **49 (12)**: 1088-1901.
- Soltani N., Aribi N., Berghiche H., Lakbar S. and Smagghe G. 2002. Activity of RH-0345 on ecdysteroid production and cuticle secretion in *Tenebrio molitor* pupae *in vivo* and *in vitro*. *Pest. Biochem. Physiol.*, **72**: 83-90.
- Soltani N., Besson M.T. and Delachambre J. 1984. Effects of diflubenzuron on pupal adult development of *Tenebrio molitor*: growth and development, cuticle secretion, epidermal cell density and DNA synthesis. *Pest. Biochem. Physiol.*, **21**: 256-264.

Références

- Soltani N., Larham B. and Boudejliida H. 2010. Lutte chimique contre les moustiques : Evaluation d'un insecticide sélectif a l'égard des larves de *Culex pipiens*. Actes de la CIFE VI, Travaux de l'Institut Scientifique, Série Zoologie, Rabat. **47**: 177-182.
- Soltani N. 1986. Dosage qualitatif et quantitatif des ecdystéroïdes chez les chrysalides mâles femelles de *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae). *Ann. Inst. Nat. Agron., Alger*, **10** (1): 45-58.
- Soltani N., Pitoizet N., Soltani-Mazouni N., Delachambre J. and Delbeque J.P. 1997. Activity of an anti ecdysteroid compound (KK42) on ovarian development and ecdysteroid secretion in Mealworm. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent*, **62** (2): 531-537.
- Soltani N. and Soltani-Mazouni N. 1992. Diflubenzuron and oogenesis in the codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *pestic. Sci.*, **34**: 257-261.
- Spindler K.P. and Spindler B.M. 1991. Ecdysteroid production and metabolism by an epithelial cell line from *Chironomus tentanus*. *Naturwissenschaften*, **78** (2): 78-79.
- Su T., Mulla M.S. and Zaim M. 2003. Laboratory and field evaluations of novaluron, a new insect growth regulator (IGR), against *Culex* mosquitoes. *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, **19**: 408-418.
- Suaya J.A., Shepard D.S., Siqueira J.B., Martelli C.T., Lum L.C., Tan L.H., Kongsin S., Jiamton S., Garrido F., Montoya R., Armien B., Huy R., Castillo L., Caram M., Sah B.K., Sughayyar R., Tyo K.R. and Halstead S.B. 2009. Cost of dengue cases in eight countries in the Americas and Asia: a prospective study. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **80** (5): 846-55.
- Suman D.S., Wang Y., Bilgrami A.L. and Gaugler R. 2013. Ovicidal activity of three insect growth regulators against *Aedes* and *Culex* mosquitoes. *Acta. Tropica*, **128**: 103– 109.
- Svechnikov K. and Soder O. 2008. Ontogeny of gonadal sex steroids. *Best Pract. Res. Clin. Endocrinol. Metabol.*, **22**: 95–106.
- Swaroop S., Gilroy A.B. and Uemura K. 1965. Statistical methods in malaria eradication. Geneva: World Health Organisation.
- Tabti N. and Abdellaoui-Hassaïne K. 2013. Comparative study of the effect of *Bacillus thuringiensis* on larval populations of *Culex pipiens* L. (Diptera-Culicidae) of the City of Tlemcen (Algeria). *Open J. Ecol.*, **3** (3): 265-271.
- Taibi F., Smaghe G., Armani L. and Soltani-Mazouni N. 2003. Effect of ecdyson agonist, RH-0345, on reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*. *Comp. Biochem. Physiol.*, **135**: 257-267.
- Tail G., Porcheron P., Doumandji-Mitiche A. and Blais C. 2008. Diflubenzuron effects on reproduction and hemolymph ecdysteroid levels in female locusts *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775) (Orthoptera, Acrididae). *J. Orthoptera Res.*, **17** (1): 89-95.

Références

- Takken W. and Knols B.G.J. 2007. Emerging Pests and Vector-borne Diseases in Europe. *Wag. Acad. Publ.* p 500.
- Tanani M.A., Ghoneim K.S. and Hamadah Kh.Sh. 2012. Comparative effects of certain IGRs on the carbohydrates of hemolymph and fat body of *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). *Florida Entomologist*, **95 (4)**: 928-935.
- Tine-Djebbar F. and Soltani N. 2008. Activité biologique d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue sur *Culiseta longiareolata*: analyses morphométrique, biochimique et énergétique. *Synthèse*, **18**: 23-34.
- Tine-Djebba F., Larhem A.B. and Soltani N. 2012. Enzyme immunoassay measurements of the molting hormone in different post-embryonic stages of two mosquito species, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Afr. J. Biotech.*, **10 (67)**: 15195-15199.
- Tine-Djebbar F., Rehim N. and Soltani N. 2011. Enzyme immunoassay measurements of ecdysteroids in the last larval stage of *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae): Hormonal profile and correlation with cuticle secretion. *Afr. J. Biotech.*, **11 (20)**: 4693-4698.
- Tolle M. 2009. Mosquito-borne diseases. *Curr. Probl. Pediatr. Adolesc. Health Care*, **39**: 97-140.
- Toral Y. and Caro M. 2005. Evaluation *in vitro* de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. Th: *Med.Vet.* Toulouse. p 53.
- Trostanetsky A., Kostyukovsky M. 2008. Transovarial activity of the chitin synthesis inhibitor on egg hatch and subsequent development of larvae of *Tribolium castaneum*. *Phytoparasitica*. **36 (1)**: 38-41.
- Troy S., Anderson W.A. and Spielman A. 1975. Lipid content of maturing ovaries of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Comp. Biochem. Physiol.*, **50 (B)**: 457-461.
- Tu M.P., Yin C.M and Tatar M. 2002. Impaired ovarian ecdysone synthesis of *Drosophila melanogaster* insulin receptor mutants. *Aging. Cell.*, **1**: 158-160.
- Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M. and Jennings F.W. 1996. Veterinary parasitology. 2nd edition. Oxford: *Blackwell science*. p 307.
- Van Hensden H.C. and Law J.H. 1989. An insect transport particule promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *J. Biochem.*, **246**: 17287-17292.
- Van Wormhoudt A., Porcheron P. and Le Roux A. 1985. Ecdystéroïdes et synthèses protéiques dans l'hépatopancréas de *Palaemon serratus* (Crustacea Decapoda) au cours du cycle d'intermue. *Bulletin de la Société zoologique de France*, **110 (2)**: 191-204.
- Vasilakis N. and Weaver S.C. 2008. The history and evolution of human dengue. *Adv. Virus. Res.*, **72**: 1-76.

Références

- Wilhelm R. and Luscher M. 1974. On the relative importance of juvenile hormone and vitellogenin for oocyte growth in the cockroach *Nauphoeta cinerea*. *J. Insect Physiol.*, **20**: 1887-1894.
- Wilson T.G. 1982. A correlation between juvenile hormone deficiency and vitellogenic oocyte degeneration in *Drosophila melanogaster*. *Wilhelm Roux's Archives Entwicklungsmechanik der Organismen*, **191**: 257-263
- Wilson J.D., Morris A.J., Arroyo B.E., Clark S.C. and Bradbury R.B. 1999. A review of the abundance and diversity of invertebrate and plant foods of granivorous birds in northern Europe in relation to agricultural change. *Agricul. Ecosyst. Environ.*, **75**:13-30.
- WHO. 2009. World Malaria Report. Geneva; 2009.
- Yang M.L., Zhang J.Z., Zhu K.Y., Xuan T., Liu X.J., Guo Y.P. and Ma E.B. 2009. mechanisms of organophosphate resistance in a field population of oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (meyen). *Arch. Insect Bioch. Physiol.*, **71** (1): 3–15.
- Zaidi N. and Soltani N. 2011. Environmental risks of two chitin synthesis inhibitors on *Gambusia affinis*: chronic effects on growth and recovery of biological responses. *Biol. Control*, **59** (2): 106-113
- Zhang J.Z., Liu X.J., Zhang J.Q., Li D.Q., Sun Y., Guo Y.P., Ma E.B. and Zhu K.Y. 2010. Silencing of two alternative splicing-derived mRNA variants of chitin synthase 1 gene by RNAi is lethal to the oriental migratory locust. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **40**: 824-833.
- Zhang X., Zhang J.Z. and Zhu K.Y. 2010. Chitosan/double-stranded RNA nanoparticle mediated RNA interference to silence chitin synthase genes through larval feeding in the African malaria mosquito (*Anopheles gambiae*). *Insect Mol. Biol.*, **19**: 683-693.
- Zhang X., Zhang J.Z., Park Y. and Zhu K.Y. 2012. Identification and characterization of two chitin synthase genes in African malaria mosquito, *Anopheles gambiae*. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, **42**: 674-682.
- Zhou G. and Miesfeld R.L. 2009. Energy metabolism during diapause in *Culex pipiens* mosquitoes. *J. Insect Physiol.*, **55**: 40-46.
- Zhu Q., He Y., Yao J., Liu Y., Tao L. and Huang Q. 2012. I Effects of sublethal concentrations of the chitin synthesis inhibitor, hexaflumuron, on the development and hemolymph physiology of the cutworm, *Spodoptera litura*. *J. Insect Sci.*, **12**: 27.

RESUMES

Résumé:

Les moustiques sont des agents nuisants et des vecteurs de nombreuses maladies humaines et animales. La lutte contre ces insectes hématophages dépend de l'utilisation d'insecticides chimiques ciblant les adultes ou les larves. Cependant, des phénomènes de pollution et de résistance à différentes classes d'insecticides chimiques, menacent aujourd'hui l'environnement en général et l'homme en particulier. Dans ce contexte, il est nécessaire de proposer de nouvelles alternatives non polluantes et spécifiques comme les régulateurs de croissance ou Insect Growth Regulators (I.G.Rs). Dans la présente étude, l'effet du novaluron; un régulateur de croissance des insectes appartenant à la classe des inhibiteurs de la synthèse de la chitine et à la famille des benzoylphénylurées; a été testé sur plusieurs aspects chez une espèce de moustique à intérêt médical notamment le *Culex pipiens*. Les Essais toxicologiques ont été réalisés avec différentes concentrations du produit testé, comprise entre 0,1 et 0,9 ($\mu\text{g/l}$), sur des larves de 3^{ème} et 4^{ème} stade, afin d'évaluer les deux concentrations létales CL_{50} et CL_{90} . Qui a leurs tour font l'objet d'une étude sur le développement, la composition biochimique, le profil hormonal, la structure cuticulaire et le potentiel de la reproduction de l'espèce de moustique choisie dans ce travail.

Les résultats obtenus dans cette étude révèlent un effet toxique du novaluron induisant des taux de mortalité très importante chez les séries traitées comparativement aux témoins du même âge. Une perturbation du développement de *Culex pipiens* a été constatée chez les séries exposées aux deux concentrations létales CL_{50} et CL_{90} , se traduisant par une prolongation de la durée de développement suivie d'une diminution dans la longueur (taille) avec l'apparition de certains aspects morphologiques observés au cours du traitement. Le dosage biochimique des glucides, lipides et protéines montre une perturbation quantitative de ces métabolites chez les larves traitées (CL_{50} et CL_{90}) par rapport aux larves non traitées. Le profil hormonal des ecdystéroïdes des larves exposées au novaluron ne se diffère pas significativement de celui des témoins. L'étude histologique de la cuticule des larves L4 de *Culex pipiens* à différents âges révèle une diminution de l'épaisseur de la nouvelle cuticule chez les séries traitées par rapport aux séries témoins. L'effet de cette molécule sur le potentiel de la reproduction des adultes a affecté les différents paramètres étudiés après traitement des larves qu'après traitement des œufs.

Abstract:

Mosquitoes are vectors of many human and animal diseases. The control of these insects depends mainly on the use of chemical insecticides targeting adults or larvae. However, phenomena of pollution and resistance to different classes of chemical insecticides are threatening the environment in general and humans in particular. In this context, it is necessary to find alternative substances specific and non-polluting such as insect growth regulators or I.G.Rs. In this study, the effect of novaluron, an insect growth regulators belonging to the class of chitin synthesis inhibitors and benzoylphenylureas family, was tested on several different aspects of mosquito species with medical interest, *Culex pipiens*. Toxicological essays were conducted with different concentrations between 0.1 and 0.9 ($\mu\text{g/l}$) against the 3rd and 4th larval stage of *Culex pipiens* and to estimate the two lethal concentrations LC_{50} and LC_{90} . In other series of experiment the effect of novaluron was tested on the development, metabolites, and hormonal profile, cuticular structure and reproductive potential of the mosquito species.

The obtained results showed a toxic effect of novaluron by inducing an important mortality in the treated series compared to controls of the same instar larvae. Disruption of larval development was observed in the series exposed to the two lethal concentrations LC_{50} and LC_{90} , resulting in the increase of development duration of tested larvae with reduction in adult longevity, followed by a decrease in the length (size) and the appearance of a certain morphological aspect observed during in death larvae. The biochemical assay of carbohydrates, lipids and proteins showed a quantitative disturbance of these metabolites according to age, and concentrations. The hormonal profile of ecdystéroïds of treated larvae with novaluron does not significantly differ from the controls. Histological study of fourth instar larvae cuticle, at different ages, reveals a decrease in the thickness of the cuticle in treated series comparative to the untreated ones. The effect of this molecule on reproductive potential has affected all the studied parameters after treatment of larvae more than after treatment of eggs.

الملخص:

البعوض من الحشرات المضايقة بلدغاته المتكررة و الناقله للعديد من الأمراض البشرية والحيوانية. للقضاء على هذه الحشرات الماصة للدماء نعتمد على استخدام مبيدات الحشرات الكيميائية التي تستهدف البالغين أو اليرقات. و لكن مع ظهور التلوث وظاهرة المقاومة من قبل بعض الحشرات لبعض الفئات المختلفة من المبيدات الحشرية الكيميائية التي تهدد البيئة بشكل عام والبشر على وجه الخصوص، من الضروري إيجاد بدائل لها تأثير خاص وغير ملوث للبيئة مثل منظمات نمو الحشرات (I.G.Rs). في هذه الدراسة تأثير novaluron، منظم نمو الحشرات ينتمي إلى فئة مثبطات الكيتين و عائلة benzoylphenylurée، تم اختباره على عدة جوانب مختلفة على نوع من البعوض ذو اهمية طبية، *Culex pipiens*. لقد أجريت تجارب السمية مع تركيزات مختلفة محصورة بين 0,1 و 0,9 (ميكروغرام/ لتر) للمنتج المراد اختباره على يرقات الطور 3 و 4 لتقييم التركيزين القاتلين CL_{50} و CL_{90} والذين بدورهما سيكونان موضوع دراسة عن التطور و التكوين البيوكيميائي، دراسة هرمونية، دراسة نسيجية و دراسة التكاثر.

أظهرت النتائج تأثير سام من novaluron بنسبة مهمة جدا من وفيات في المجموعة المعالجة مقارنة بمجموعة الشاهد من نفس الفئة العمرية. ولوحظ تعطل نمو اليرقات في المجموعة التي تعرضت للتركيزين القاتلين CL_{50} و CL_{90} مما أدى إلى تمديد في فترة نمو اليرقات مع انخفاض في مدة البالغين يليها انخفاض في الطول مع ظهور بعض الأنواع المورفولوجية غير طبيعية أثناء المعالجة. الدراسة البيوكيميائية للكربوهيدرات والدهون والبروتينات تظهر اضطراب كمي لهذه المركبات في المجموعة المعالجة مقارنة بمجموعة الشاهد. لا يختلف الوضع الهرموني ل *ecdystéroïdes* لليرقات المعاملة ب novaluron عن ما وجد عند الشاهد. الدراسة النسيجية لجلد يرقات الطور الرابع المعاملة في أعمار مختلفة يكشف عن انخفاض في سمك الجلد الجديد لليرقات المعاملة. بالنسبة لتكاثر البعوض فقد تأثر كثيرا بفعل novaluron بعد علاج اليرقات أكثر من بعد علاج البيوض.

ANNEXES

Productions Scientifiques :

- **Publications internationales:**

1- **Djeghader Nour Elhouda**, Boudjelida Hamid, Bouaziz Ali and Soltani Noureddine. 2013. Biological effects of a benzoylphenylurea derivative (Novaluron) on larvae of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Advances in Applied Science Research*, **4 (4)**:449-456.

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

- **Communications internationales:**

1- **DJEGHADER N. E. H.**, BOUDJELIDA H. & AMIRA K. Toxicité d'un inhibiteur de la synthèse de la chitine, novaluron, à l'égard des moustiques *Culex pipiens*. Les 3èmes journées scientifiques de l'ATT Toxicologie-Environnement-Santé, du 03 au 05 Février 2012 à Tabarka, Tunisie

2-**DJEGHADER N. E. H.**, BOUDJELIDA Hamid & AMIRA K. Action d'un régulateur de croissance des insectes contre les Culicidae. Le 23ème Forum des Sciences Biologiques et de Biotechnologie du 21 au 24 Mars 2012, à Yasmine Hammamet, Tunisie.

3-AMIRA K., BOUDJELIDA H. & **DJEGHADER N. E. H.** Les régulateurs de croissance des insectes et les moustiques: essai de lutte. Le 23ème Forum des Sciences Biologiques et de Biotechnologie, du 21 au 24 Mars 2012 à Yasmine Hammamet, Tunisie.

4- **DJEGHADER N. E. H.**, 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 moustique *Culex pipiens*. Quatrièmes Journées scientifiques sur la Valorisation des Bioressources, du 04 au 05 Mai 2013, à l'hôtel Tour Khalef, Sousse, Tunisie.

5-AMIRA K., BOUDJELIDA H. & **DJEGHADER N. E. H.** Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires de moustique *Culex pipiens*. Quatrièmes Journées scientifiques sur la Valorisation des Bioressources, du 04 au 05 Mai 2013, à l'hôtel Tour Khalef, Sousse, Tunisie.

6- **DJEGHADER N. E. H.**, BOUDJELIDA H. & AMIRA K. Contribution à l'étude du Novaluron, un inhibiteur de la synthèse de la chitine, sur la reproduction du moustique *Culex pipiens*. Le 1er colloque international sur la préservation de l'environnement des régions semi-arides, du 20 au 21 Octobre 2013 à Tébessa, Algérie.

7-AMIRA K., BOUDJELIDA H. & **DJEGHADER N. E. H.** Toxicité de l'halofénoside (RH-0345) sur les larves de *Culex pipiens*. Le 1er colloque international sur la préservation de l'environnement des régions semi-arides, du 20 au 21 Octobre 2013 à Tébessa, Algérie