

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة باجي مختار . عنابة.

UNIVERSITE BADJI MOKHTAR . ANNABA



**FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE**

MEMOIRE

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE MAGISTERE EN BIOLOGIE

OPTION: ECOPHYSIOLOGIE ANIMALE

THEME

Etude Ecophysiologique, Systématique et lutte intégrée contre les drosophiles, vecteurs de la pourriture grise dans les cultures.

Présenté par:

M^{me} Bensafi Gheraibia Hanène

Devant la commission d'examen:

Président: Mr. Khellili Kamel	Professeur	Université d'Annaba
Directeur de Recherche: Mr. Ouakid Med. Laid	Maître de conférences	Université d'Annaba
Examinatrice: M ^{elle} . Aribi Nadia	Professeur	Université d'Annaba
Examineur: Mr. Daas Tarek	Maître de conférences	Université d'Annaba

2009/2010

Dédicace

Je profite de cette occasion pour dédier ce mémoire à mes parents; ma mère Mabrouka et mon père Med Saleh qui ont fortement participé à ma réussite, donc j'essaierai de leur faire toujours honneur.

A mon cher époux Hassanine

A mon frère unique Mourad ainsi que sa femme Hassiba

A mes sœurs Hakima, Nassima, Nora, Wassila et Zina

A mes adorables nièces et neveux Azou, Choukri, Rym, Amina, Selma, Rayane, Yacine, Marya, Mina, Kheled, Bisma et la petite Ines.

A ma belle mère El Ghanja, mon beau père Brahim

A tout les membres de la famille Gheraibia petits et grands

Je la dédie à mes amies et mes collègues:

A ma sœur Yasmine

Un grand merci à Wafa

Fella, Rym, Sihem, Amel, Chahra, Ibtissem, Zouzou, Zahra.

Hanène

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier Pr KHELILI KAMEL qui a accepté de présider notre jury.

Je remercie Pr ARIBI NADIA et le Dr. DAAS TAREK qui m'ont honoré en examinant ce travail.

J'exprime mon profond remerciement à mon promoteur Mr. OUAKID MOHAMED LAÏD pour son engagement et d'avoir accepté de diriger ce travail, ses remarques combien importantes, ses conseils judicieux, ses orientations et sa disponibilité.

Mes remerciements à tous mes professeurs, les techniciens et le personnel du département de biologie pour leur contribution dans cette réussite.

Hanene

RESUME

Si le choix du matériel biologique nécessaire à ce travail s'est porté sur la drosophile, c'est qu'elle offre de nombreux avantages. En effet, il s'agit d'une espèce bien connue dans le laboratoire qui s'élève facilement et dont on peut obtenir rapidement un grand nombre d'adultes. Ces conditions facilitent les répétitions et la standardisation indispensables à des études comparatives.

Après l'identification de la mouche du vinaigre récupérée à Annaba, *Drosophila melanogaster* a fait l'objet d'une étude biologique permettant de caractériser la durée du développement des différents stades post embryonnaire et d'établir le potentiel reproducteur de la femelle drosophile. Nous avons aussi étudié le comportement sexuel de la souche de Annaba et établit les différentes séquences conduisant à l'accouplement.

Afin de lutter contre ces insectes, des essais insecticides à l'égard des larves L₃ de *D. melanogaster* ont été réalisés avec l'utilisation de trois biopesticides ; les Saponines, le Spinosad et l'Azadiractine. A l'issue de cette série de traitements insecticides, on a pu établir une bonne activité larvicide du Spinosad et l'Azadiractine sur la souche de *D. melanogaster* étudiées, indiquant ainsi des taux de mortalités allant jusqu'à 100 % pour les doses les plus élevée. Quant aux doses sub-létales, elles nous ont permis d'observer des parades sexuelles déficientes et cela indique l'effet inhibiteur du Spinosad et de l'Azadiractine sur le comportement sexuel de *D. melanogaster*.

SUMMARY

If the choice of the biologic material necessary to this work carried it self on the drosophila, it is that it offers many benefits. Indeed, it is about much known cash in the laboratory that rises easily and of which one can get a big number of adults quickly. These conditions facilitate the repetitions and the indispensable standardization to comparative studies.

After the identification of the vinegar fly recovered in Annaba, *Drosophila melanogaster* was the subject of a biologic survey permitting to characterize the length of the development of the different stages embryonic post and to establish the reproductive potential of the female drosophila.

In order to fight against these bugs, of the insecticide tests with regard to the L3 larvae of *D. melanogaster* has been achieved with the use of three bio-pesticides ; the Saponines, the Spinosad and the Azadiractine. At the end of this series of insecticide treatments, one could establish a good activity larvicide's of the Spinosad and the Azadiractine on the counterfoil of *D. melanogaster* studied, indicating rates of active mortalities thus until 100 % for the doses most elevated. As for the doses sub-letals, they allowed us to observe deficient sexual parades.

We also studied the sexual behaviour of the counterfoil of Annaba and established the different sequences. We also showed an inhibitory effect of the Spinosad and the Azadiractine of the sexual behaviour at *D. melanogaster*.

الملخص

إذا كان الاختيار للعنصر البيولوجي في هذا العمل قد إنصبَّ على ذبابة الخل فلأنها تتمتع بالعديد من المزايا. و الدليل على ذلك أنه يتعلق الأمر بنوع معروف جدا في المخبر و الذي ينشأ بسرعة (الحصول على طور بالغ في وقت قصير). و عليه هذه الظروف تسمح بالقيام بالعديد من الدراسات العلمية و مقارنتها.

بعد تحديد نوع الذبابة المحصّل عليها في -عنابة-، *Drosophila melanogaster* كانت محل دراسة بيولوجية تمكننا خلالها من تحديد مدّة تطورها بالإضافة إلى قدرة الإنجاب عند إناث هذه الفصيلة. كما تمكننا في هذه الدراسة من تحديد جميع مراحل السلوك الجنسي ل *D. melanogaster* -عنابة- المؤدية إلى الاقتران.

و للقضاء على هذه الحشرة قمنا بتجريب ثلاث أنواع من المبيدات البيولوجية ضد يرقات الطور الثالث لذبابة عنابة وهم : Saponines, Spinosad, Azadiractine .

النتائج أظهرت أنّ الجرعات الكبيرة ل Spinosad, Azadiractine لها فعالية تصل نسبتها إلى 100 %، أما الجرعات الصغيرة (الغير مميتة) لهذين المبيدين فإنها تثبط الإستعراض الجنسي لدى هذه الحشرة.

SOMMAIRE

1. Introduction	01
2. Matériel et Méthodes	06
2.1. Présentation du matériel biologique: <i>Drosophila melanogaster</i>	06
2.2. Elevage de masse	12
2.2.1. Constitution des stocks.....	12
2.2.2. Milieux d'élevage	14
2.3. Identification de la souche sauvage de drosophile d'Annaba.....	16
2.4 Etude du cycle de développement de <i>D. melanogaster</i> dans les conditions de laboratoire	17
2.5 Etude biométrique des différents stades de développement de <i>D.</i> <i>melanogaster</i>	17
2.6 Traitement insecticide.....	18
2.6.1 Présentation des insecticides utilisés.....	18
2.6.2 Préparation des doses utilisées et traitement	20
2.7. Etude du comportement sexuel chez <i>D. melanogaster</i>	21
2.7.1. Elevage des adultes isolés de <i>D. melanogaster</i>	21
2.7.2. Description des différentes séquences du comportement sexuel chez <i>D.</i> <i>melanogaster</i>	23
2.7.3. Etude comportementale de <i>D. melanogaster</i> traitée aux insecticides ...	24
2.8. Analyse statistique	25
3. Résultats	26
3.1. Etude systématique.....	26
3.1.1. Identification de la souche sauvage de drosophile prélevée à Annaba...	26
3.1.2. Etude des croisements entre différentes souches de drosophiles.....	26
3.2. Etude de cycle de développement de <i>D. melanogaster</i> dans les conditions semi-contrôlées de laboratoire.....	28
3.2.1 Durée de vie des différents stades de développement de <i>D. melanogaster</i>	28
3.2.2. Potentiel reproducteur des femelles de <i>D. melanogaster</i>	29
3.3. Biométrie des différents stades de développement de <i>D. melanogaster</i>	30
3.3.1. Mensuration des différents stades larvaires	30

3.4. Traitement insecticides.....	31
3.4.1. Effet du Saponine sur les larves du troisième stade de <i>D. melanogaster</i> .	31
3.4.2. Effet insecticide du Spinosad sur <i>D. melanogaster</i>	32
3.4.3. Effet direct de l'Azadiractine sur <i>D. melanogaster</i>	36
3.5. Comportement sexuel de <i>D. melanogaster</i>	38
3.5.1. Description des différentes séquences comportementales.....	38
3.5.2. Durée des différentes séquences comportementales de <i>D. melanogaster</i>	41
3.5.3. Effet du Spinosad sur le comportement sexuel de <i>D. melanogaster</i>	44
3.5.4. Effet de l'Azadiractine sur le comportement sexuel de <i>D. melanogaster</i>	47
4. Discussion.....	50
4.1. Etude systématique.....	50
4.2. Etude du cycle de développement de <i>D. melanogaster</i>	53
4.3. Le traitement	57
4.4. Comportement sexuel.....	61
5. Conclusion	66
Résumé	
Summary	
الملخص	
Références Bibliographiques	

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Différences morphologiques entre les mâles et les femelles de <i>D. melanogaster</i>	22
2	Durées et fréquences des différents stades de développement issus des croisements entre différentes souches	28
3	Durée de vie des différents stades de développement de <i>D. melanogaster</i>	29
4	Nombre d'individus issu des croisements de <i>D. melanogaster</i>	30
5	Analyse descriptive des mensurations des différents stades larvaires de <i>D. melanogaster</i>	31
6	Effet insecticide des saponines sur les larves L3 de <i>D. melanogaster</i>	32
7	Effet des saponines sur le nombre des pupes et des adultes de <i>D. melanogaster</i>	32
8	Mortalité observée après 5 et 7 jours des larves du 3 ^{ème} stade de <i>D. melanogaster</i> traitées par le Spinosad	33
8.1	Taux de mortalité corrigés (par la formule d'Abbot) des larves du 3 ^{ème} stade de <i>D. melanogaster</i> traitées par le Spinosad après 5 et 7 jours	33
8.2	Taux de mortalité corrigés ayant subi une transformation angulaire des larves du 3 ^{ème} stade de <i>D. melanogaster</i> traitées par le Spinosad après 5 et 7 jours	33
8.3	Les Paramètres toxicologiques du Spinosad à l'égard des larves du 3 ^{ème} stade de <i>D. melanogaster</i> après 5 et 7 jours	34
9	Mortalité observée après 4 et 6 jours des larves du 3 ^{ème} stade de <i>D. melanogaster</i> traitées par l'Azadiractine	37
9.1	Taux de mortalité corrigés (par la formule d'Abbot) des larves du 3 ^{ème} stade de <i>D. melanogaster</i> traitées par l'Azadiractine après 4 et 6 jours	37
9.2	Taux de mortalité corrigés ayant subi une transformation angulaire des larves du 3 ^{ème} stade de <i>D. melanogaster</i> traitées par l'Azadiractine après 4 et 6 jours	37
9.3	Les Paramètres toxicologiques de l'Azadiractine à l'égard des larves du 3 ^{ème} stade de <i>D. melanogaster</i> après 4 et 6 jours	37
10	Séquences et durées du comportement sexuel de <i>D. melanogaster</i> (Accouplements réussis)	42
11	Séquences et durées du comportement sexuel de <i>D. melanogaster</i> (Accouplements avortés)	44
12	Durées et différentes séquences comportementales de <i>D. melanogaster</i> traitée par le Spinosad (Dose : 2,5 mg/l, n=10 pour chaque croisement)	46
13	Durées et différentes séquences comportementales de <i>D. melanogaster</i> traitée par l'Azadiractine (Dose : 0,05 mg/l, n=10 pour chaque croisement)	49

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
1	<i>D. melanogaster</i> entrain de pondre sur les fruits mûrs	6
2	Dimorphisme sexuel chez <i>D. melanogaster</i>	7
3	Œuf de <i>D. melanogaster</i>	8
4	Différents stades larvaires de <i>D. melanogaster</i> . (A) Larve de premier stade, (B) Larve de deuxième stade, (C) Larve de troisième stade	9
5	Stade pupale chez <i>D. melanogaster</i>	10
6	Emergence de l'adulte drosophile	10
7	Cycle de vie de <i>D. melanogaster</i>	11
8	Diagramme résumant le développement chez <i>D. melanogaster</i>	11
9	Elevage de masse de masse à partir de fruits mûrs	13
10	Différents milieux de culture préparés au laboratoire (A) Substrat artificiel (B) Substrat naturel	14
11	Flacon d'élevage	15
12	Mensuration de différentes larves de <i>D. melanogaster</i>	17
13	Formule chimique de la solanine, une saponine rencontrée chez les Solanaceae	18
14	Structure chimique du Spinosad	19
15	Structure chimique de l'Azadiractine	20
16	Schéma montrant le dimorphisme sexuel de la patte thoracique. On note la présence du peigne et des nombreuses soies gustatives chez le mâle (flèches)	22
17	Dispositif utilisé pendant les tests de comportement	23
18	Effet de Spinosad sur <i>D. melanogaster</i>	36
19	Effet de l'Azadiractine sur <i>D. melanogaster</i>	38
20	Orientation	39
21	Attouchement	40
22	Vibration allaire et léchage	40
23	Tentative d'accouplement	40
24	Accouplement	41
25	Fin de l'accouplement	41

1. INTRODUCTION

Les organismes vivants sont présents de l'atmosphère jusqu'à la limite inférieure du sol ; ils définissent ainsi la biosphère. Quant aux ressources énergétiques et les voies métaboliques elles sont très variées au sein du monde vivant. Ainsi, les propriétés du vivant ont pour conséquence le fait que, par mutations/sélections, la diversification des organismes est un processus ininterrompu. Si l'on tient compte des extinctions, les organismes vivants actuels ne correspondent qu'à une très faible proportion de l'ensemble des organismes ayant existé au cours de l'histoire du vivant (**Guillaume & Le Guyader, 2001**).

Les Arthropodes sont l'un des embranchements les plus importants du règne animal, avec plus d'un million d'espèces connues, dont les trois quarts sont des insectes (**Dumon & Faugere, 1995**). Ces derniers constituent plus de 50% de la diversité de la planète (**Wilson, 1988**) et près de 60% de celle du règne animal (**Pavan, 1986**). Leur immense variété, leur extraordinaire prolificité, ainsi que leur taille réduite ont permis aux insectes de coloniser la plupart des milieux continentaux (**Baudry, 1998**). Ainsi l'importance de cette classe ne s'exprime pas seulement par le nombre d'espèces, mais aussi par son extension dans le monde.

Les drosophiles, insectes diptères brachycères sont répandus partout (**Baudry, 1998**). On y dénombre 38 genres, le genre *Drosophila* est de très loin le plus important et le plus vaste de la famille des *Drosophilidae* avec 1677 espèces selon **Wheeler, 1986**. Une multitude d'espèces qui ont chacune des caractéristiques bien particulières, dont un grand nombre a été décrit dans le monde et chaque mission sur le terrain rapporte plusieurs dizaines d'espèces nouvelles. **Wheeler (1986)** a pu aussi établir les grands traits de l'histoire évolutive de ce genre et distingue plusieurs grandes radiations. En effet, le groupe d'espèces *Drosophila* est apparu précocement, dès la radiation du sous-genre *Sophophora*, riche de 156 espèces selon **Lemeunier et al., 1986**.

Drosophila melanogaster, l'espèce la mieux connue, l'une des mieux étudiées parmi tous les êtres vivants et la plus utilisée du genre *Drosophila*, a été décrite par **Johann Wilhelm Meigen** en 1830, et c'est surtout grâce aux recherches conduites au début du vingtième siècle dans le laboratoire de Thomas Hunt Morgan et dont le mérite lui revient ainsi qu'aux chercheurs qui s'y intéressés les premiers (**Gehring, 1999 ; Gilbert, 2004**). En effet, un siècle de recherche qu'a permis d'accumuler une somme d'informations sans aucun

équivalent parmi les organismes supérieurs, surtout dans les domaines de la génétique et de la biologie du développement (**Tracqui & Demongeot, 2003**).

La drosophile doit son nom commun de mouche du vinaigre à son attirance pour les solutions légèrement acides ou alcoolisées, c'est pourquoi on trouve les drosophiles fréquemment dans les brasseries et sur les étalages de fruits dont elles pompent le jus. C'est une espèce cosmopolite (**Baudry, 1998**), mais il est probable qu'elle ne l'a pas toujours été, les études biogéographiques et phylogénétiques conduisent à penser que l'espèce en Afrique tropicale est originaire de la zone Ouest, limitée à l'Est par le grand Rift africain, d'où elle aurait colonisé ensuite la zone Est (**Lachaise et al., 1988**), ainsi on la trouve dans tous les pays chauds et peut s'établir par migrations dans les pays tempérés, uniquement en été, cependant, il est possible qu'elle a été introduite en Europe et au Etats-Unis par le biais des importations de bananes (**I.N.A.P.G, 1997**).

On recense seulement huit espèces selon (**Lemeunier et al., 1986**) proches morphologiquement de *D. melanogaster* qui appartiennent au sous-groupe d'espèces *melanogaster*, dont les principaux travaux sont ceux de (**Bock & Wheeler, 1972 ; Bock, 1980 ; Lemeunier et al., 1986**), ces huit espèces ont été décrites en 172 ans de recherche (**Joly, 2006**).

Pour les drosophiles, la compétition intraspécifique influence peu la dynamique de la population ; en revanche, la compétition interspécifique par exemple au sein du genre *Drosophila* est peut être à l'origine de la spécialisation et de la répartition géographique actuelle des mouches de fruits (**I.N.A.P.G, 1997**). *D. melanogaster* présente une domesticité très forte, comparée à son espèce jumelle *Drosophila simulans* (**Sturtevant, 1920**) également cosmopolite mais plus sauvage.

A l'origine, toutes les drosophiles étaient saprophages ; mais plusieurs espèces ont évolué vers d'autres types de nourriture : feuilles, fleurs, fruits, champignons frais. Certaines espèces sont généralistes et peuvent modifier leur alimentation en fonction des ressources du milieu, d'autres sont spécialistes et le nombre de leurs hôtes est restreint (**I.N.A.P.G, 1997**).

Notre espèce montre une faible spécificité pour le choix des plantes dont elle utilise les fruits en décomposition comme une source alimentaire et un milieu de ponte où les larves se développent. Ainsi la drosophile se nourrit et se reproduit sur sa plante hôte, cependant sa préférence pour telle ou telle plante peut être génétique mais l'environnement peut aussi

influencer ce choix. Dans ce cadre, l'état physiologique de la mouche peut jouer un rôle déterminant dans son choix ou encore les substances chimiques libérées par la plante et les microorganismes présents à la surface de celle-ci mais aussi la présence d'autres espèces de drosophiles influence le choix de sa plante hôte (**I.N.A.P.G, 1997**).

La drosophile est l'organisme modèle le plus étudié dans le monde, matériel de base des travaux de 80 000 à 100 000 chercheurs (**Colombani et al., 2006**), elle est devenue un partenaire indispensable, un véritable « matériel expérimental » en effet ses atouts sont multiples et ses inconvénients quasi-inexistants : elle ne mord pas, ne pique pas et ne transmet pas de maladies; en revanche, ces petites mouches possèdent des capacités reproductives impressionnantes avec un cycle biologique rapide permettant de suivre un grand nombre de générations, dans un espace limité et dans un temps relativement court contribuant ainsi à un élevage facile, peu coûteux, peu encombrant et sans danger.

De plus, ses caractéristiques génétiques sans précédent, d'abord, un petit génome formé de 4 paires de chromosomes dont on estime la taille à 165 millions de paires de bases, pour environ 12 000 gènes, rendant son caryotype simple mais contenant toute la complexité d'un organisme supérieur de type vertébré (**I.N.A.P.G, 1997**). Aussi, la présence de chromosomes géants dans les cellules des glandes salivaires de la drosophile, ce sont les chromosomes polyténiques facilement observables au microscope et très utile pour la cartographie physique du génome (**Baudry, 1998 ; Gilbert, 2004**). De même, la modification de l'ADN à l'échelle d'une ou plusieurs bases, à partir de mutations spontanées ou provoquées qui sont aisément identifiables par les phénotypes correspondants (**Goudey-Perrière & Perrière, 1974 ; Darribère, 2002**). Ces mutations sont créées grâce aux techniques de transgénése, rendant possible des études génétiques extrêmement précises en utilisant une panoplie d'outils développés par la biologie moléculaire (**Joly, 2006**).

La drosophile, bien qu'étant un petit insecte, est un animal à part entière qui permet aussi d'appréhender des questions scientifiques à bien d'autres niveaux biologiques : le comportement, la reproduction, le développement, les relations avec les autres espèces ou bien encore l'adaptation à l'environnement. Bien sûr, l'analyse des processus génétiques et moléculaires à la faveur. Car un grand nombre de gènes responsables de cancer ou de maladies orphelines est commun aux drosophiles et à l'Homme. Bien que l'on ne connaisse pas encore la fonction de la moitié des gènes de *D. melanogaster*, son étude est primordiale

pour la compréhension de la machinerie cellulaire et de la régulation des gènes qui peuvent avoir des retombées importantes en terme de santé publique.

Mais la drosophile est aussi un modèle idéal pour étudier les relations entre sexes et comprendre la mise en place des stratégies de reproduction. En effet, tous les extrêmes sont présents dans cette famille d'espèces, des mâles qui ne produisent que de tous petits spermatozoïdes, comme chez les mammifères, si on les compare aux 58 000 microns d'une espèce de drosophile *D. bifurca* qui vit en Amérique centrale, et qui, d'ailleurs détient le record de longueur de spermatozoïde dans l'ensemble du règne animal (**Joly et al., 2003**). On y rencontre aussi des espèces dont la femelle est soit polyandrie soit monoandrie, cette diversité de situations permet d'analyser le rôle et la signification des accouplements multiples sur le succès reproducteur des mâles, des femelles et celui de leurs descendants. Ils caractérisent ce que l'on appelle les mécanismes de compétition spermatique et de la sélection par la femelle de certains spermatozoïdes (**Joly, 2006**).

Pour finir, la popularité de *D. melanogaster* tient aussi de l'existence de huit autres espèces étroitement apparentées pour lesquelles les connaissances sur leur répartition géographique et sur leur écologie sont sans égal dans le règne animal. Cette situation permet de grandes avancées pour comprendre l'évolution, et notamment comment des espèces relativement proches peuvent se différencier (**I.N.A.P.G, 1997**).

Le grand pouvoir reproducteur de la drosophile en fait un animal de laboratoire idéal, mais cette caractéristique est moins appréciée lorsque l'espèce se multiplie allègrement dans les habitations. Car, en dehors des laboratoires les drosophiles se présentent comme des insectes agaçants et importuns, mais elles ne causent pas vraiment de dommage il s'agit davantage d'une question de salubrité, puisqu'elles peuvent constituer une source de contamination des aliments. Donc, il faut éliminer l'accès aux sources de nourriture et par conséquent les sites potentiels de reproduction. Toutes ces approches combinées (moléculaires, génétiques, physiologiques, comportementales, évolutives...) participent à une meilleure compréhension du vivant dans son ensemble.

La présente étude s'articule sur trois parties principales néanmoins complémentaires, dont la première presque exclusivement systématique, a pour but d'identifier la souche sauvage de drosophile capturée à Annaba, un dénombrement de leurs descendances a été établi.

La seconde partie porte sur l'écophysiologie de cette mouche, d'abord ces insectes ont suivi des régimes alimentaires différents avec deux types de nourritures, naturelle et artificielle, préparées au laboratoire. Dans les conditions de laboratoire, nous avons déterminé le cycle de développement, la durée de chaque stade et le nombre des mouches émergées. Ainsi nous avons pu établir une étude comparative entre les descendances, résultant de plusieurs croisements effectués. En outre, les différents stades larvaires de *D. melanogaster* ont fait l'objet d'une étude biométrique.

La troisième partie est consacrée à une étude toxicologique, réalisée sur *D. melanogaster*, en utilisant des insecticides biologiques; les Saponines, le Spinosad et l'Azadiractine.

Le comportement sexuel de cet insecte et l'analyse des différentes séquences qui le comportent a été étudié. Ainsi que d'autres essais comportementaux mais en utilisant des insectes traités par le Spinosad et l'Azadiractine à des doses sub-létales.

2. MATERIEL & METHODES

2.1. Présentation du matériel biologique : *Drosophila melanogaster*

La drosophile s'est imposée au fil des dernières années comme un excellent modèle d'étude; c'est un organisme facile à élever, robuste, tolérant, peu encombrant; sur lequel un grand nombre de questions scientifiques peuvent être abordées.

On rencontre cette petite mouche sur les fruits mûrs ou sur d'autres matières humides ou en fermentation car les œufs, les larves et les pupes des drosophiles se développent dans ces milieux (**Fig. 1**). C'est un insecte hygrophile qui vit dans les lieux humides et lucicole aime la lumière (**Baudry, 1998 ; Joly, 2006**) ; de plus c'est un animal prolifique, une femelle peut pondre de 200 à 300 œufs (**Goudey-Perrière & Perrière, 1974**). En tant qu'holométabole, son développement est indirect, ce qui signifie qu'elle subit une métamorphose complète au cours du stade nymphal, de telle manière que l'œuf éclot en une larve qui a une structure assez différente de l'adulte (**Slack, 2004 ; Gilbert, 1996**).



Figure. 1 : *D. melanogaster* entrain de pondre sur les fruits mûrs (Gr : x 13,33)

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

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

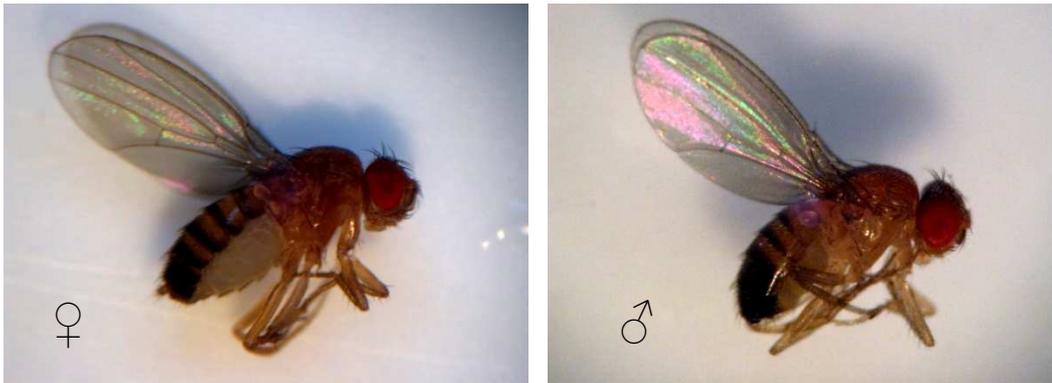


Figure. 2 : Dimorphisme sexuel chez *D. melanogaster* (♂ : Gr: x 12,8 ; ♀ : Gr: x 13,33)

Comme tous les insectes, la drosophile possède trois paires de pattes. Comme tous les diptères, elle n'a qu'une seule paire d'ailes fonctionnelles, les antérieures ; alors que les postérieures sont atrophiées sous la forme d'un balancier minuscule. Son vol est assuré par deux larges ailes ovales bien développées qui peuvent battre jusqu'à 250 fois par seconde. Les mouches volent par des séquences directes de mouvement alternant avec de rapides rotations appelées saccades ; Au cours de ces rotations, une mouche peut effectuer une rotation de 90 degrés en moins de 50 millisecondes (**Baudry, 1998 ; Heusser & Dupuy, 2004 ; Joly, 2006 ; DDEP, 2008**).

La drosophile adulte nommée aussi imago suit le plan général des insectes, elle présente un corps en trois parties bien distinctes ; une tête de forme générale globuleuse, qui porte des yeux composés rouge vif, contiennent 800 unités de vision ou ommatidia, ce qui en fait d'eux les plus développés parmi les insectes. Chaque ommatidium contient 8 cellules photoréceptrices (R1-8), des cellules de support, des cellules de pigment et une cornée, on trouve aussi sur sa tête, des organes sensoriels, des pièces buccales de type lécheur et une paire d'antennes courtes dont l'extrémité est plumeuse.

Dans la région post céphalique, il y a formation d'un thorax bien distinct de forme quadrangulaire, divisé en trois segments sur lesquels s'articulent les organes locomoteurs, les

trois paires de pattes articulées et deux paires d'ailes ovales. Le thorax est suivi d'un abdomen plutôt court et rayé de bandes sombres, contenant les organes respiratoires, reproducteurs et excrétoires. Des amas de soies tactiles, dispersés sur tout le corps, sont autant d'organes sensoriels comme cellules olfactives qui sont situées sur les antennes. Alors que, les organes auditifs qui sont disposés sur le corps (poils sensoriels), sur les pattes ou sur l'abdomen (organe tympanique) et d'autres soies, les organes gustatifs sont situés sur les palpes (**Baudry, 1998 ; Lecointre & Le Guyader, 2001**).

Le cycle de vie de *D. melanogaster* comprend l'embryogénèse, trois stades larvaires, un stade pupal qui se termine par l'émergence d'une mouche qui est capable de voler et de se reproduire (**Bouharmont et al., 2007**). Après l'accouplement, la femelle pond sur le milieu, en général des fruits, des centaines d'œufs allongés et blanchâtres d'environ 0,5 millimètre de long, de la forme d'un ballon de rugby (**Joly, 2006**). Ces œufs présentent de minuscules poils d'un côté, le micropyle qui apparaît comme une petite excroissance sur la coque rigide qui entoure l'œuf (**Fig. 3**), et par lequel entreront les spermatozoïdes (**Gehring, 1999 ; Wolpert, 2004**).

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



Figure. 3 : Œuf de *D. melanogaster* (Gr : x 56)

La larve libérée est capable de se nourrir de la pupe du fruit en creusant des galeries ou de levures qui croissent sur divers matériaux sucrés ou fermentés à l'aide de son appareil buccal. Alors que, les adultes s'alimentent plutôt des fruits mûrs ou avariés, des végétaux, des

champignons en décomposition ainsi que des liquides fermentés. Les larves présentent un aspect et une écologie fort différente de celles des adultes (Lecointre & Le Guyader, 2001 ; DDEP, 2008). Cette larve présente une segmentation thoracique et abdominale ; les disques imaginaux, ensembles de cellules ayant conservé des caractères embryonnaires, à l'origine des structures adultes (Fig. 4). Lors de la métamorphose, leur développement donne naissance aux antennes, aux yeux, aux ailes, aux balanciers, aux pattes, aux pièces génitales alors que les autres appareils sont profondément modifiés (Heusser & Dupuy, 2004). Ces disques assurent le passage de la larve à l'adulte, ainsi la morphologie larvaire est très différente de celle de l'adulte.

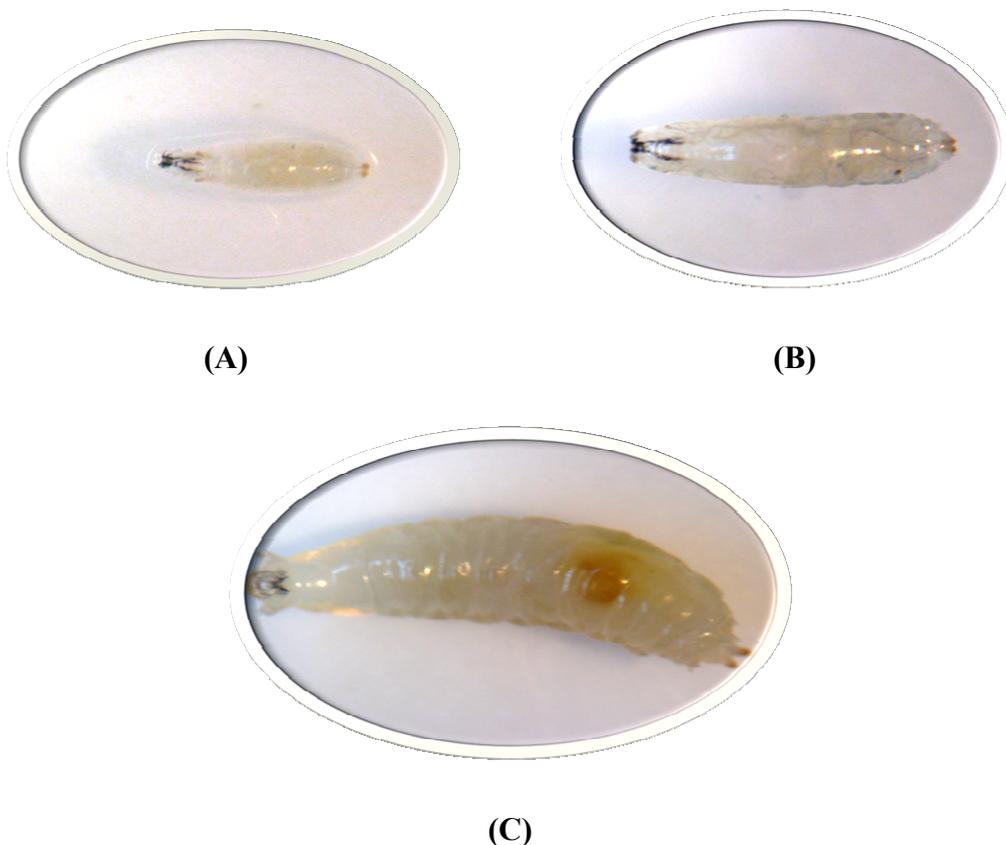


Figure. 4: Différents stades larvaires de *D. melanogaster*. (A) Larve de premier stade (Gr : x 18), (B) Larve de deuxième stade (Gr : x 16,8), (C) Larve de troisième stade (Gr : x 16)

Le développement passe par une succession de stades larvaires séparés d'une série de mues, en effet, les larves de troisièmes stade rampent jusqu'à une portion sèche des aliments pour se transformer en pupes (Fig. 5). C'est le stade intermédiaire entre le stade larvaire et celui d'adulte, caractéristique des insectes à métamorphose complète ; ainsi nommées en raison de l'épaississement considérable de l'enveloppe, ou puparium, formée par la dernière

mue larvaire durcie. Alors que la puppe est enfermée dans un cocon, elle ne se nourrit pas et est généralement quiescente, c'est à l'intérieur de ce cocon qu'aura lieu la métamorphose qui va donner le jour à un insecte adulte ailé (Baudry, 1998).



(A) Puppe vue dorsale (Gr : x 15,33)



(B) Puppe vue ventrale (Gr : x 16,66)

Figure. 5 : Stade pupal chez *D. melanogaster*



(Gr : x 22,8)



(Gr : x 18,4)

Figure. 6 : Emergence de l'adulte drosophile.

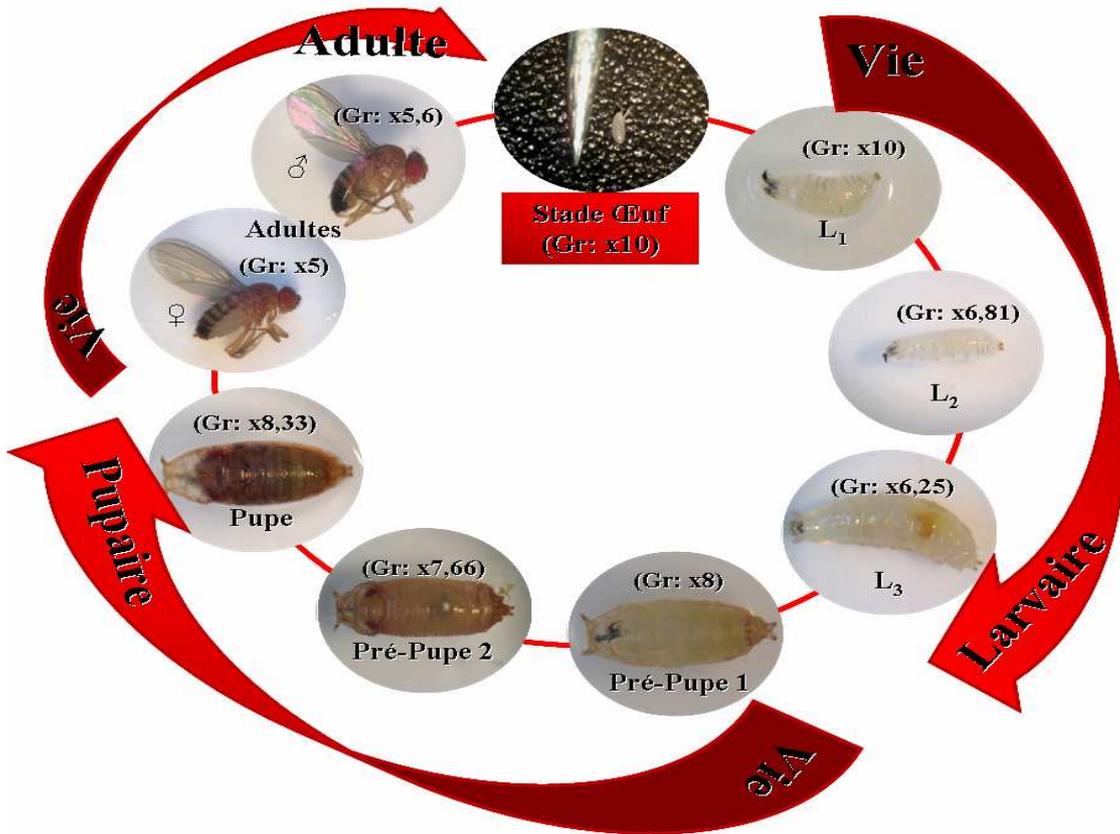


Figure. 7 : Cycle de vie de *D. melanogaster*

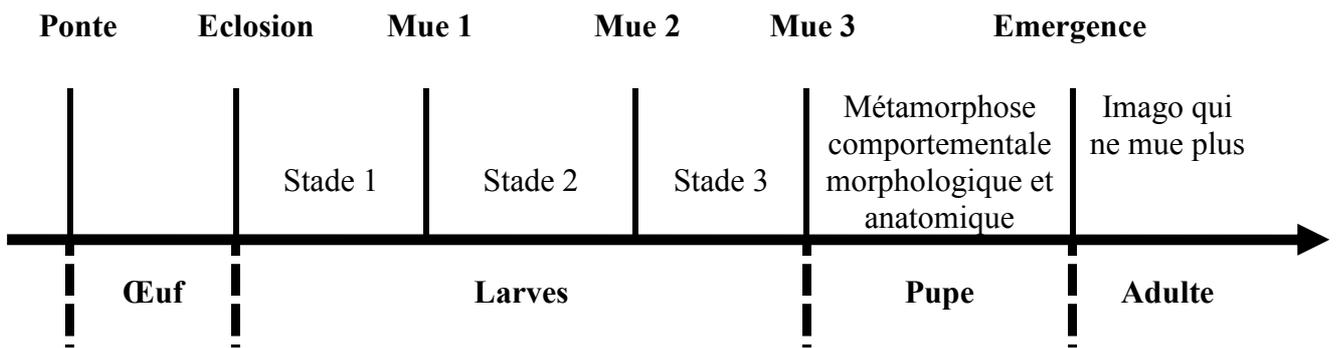


Figure. 8: Diagramme résumant le développement chez *D. melanogaster* (Maissiat *et al.*, 2005).

Position systématique de *Drosophila melanogaster*

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Sous- embranchement	<i>Hexapoda</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Sous-classe	<i>Pterygota</i>
Infraclasse	<i>Neoptera</i>
Ordre	<i>Diptera</i>
Sous- ordre	<i>Brachycera</i>
Infra- ordre	<i>Muscomorpha</i>
Famille	<i>Drosophilidae</i>
Sous- famille	<i>Drosophilinae</i>
Genre	<i>Drosophila</i>
Espèce	<i>Drosophila melanogaster</i> Meigen, 1830

2.2. Élevage de masse

La drosophile est à l'heure actuelle l'organisme complexe le plus étudié. Ceci est en partie lié au fait que cette mouche a longtemps été le seul organisme transformable au laboratoire, mais aussi aux facilités d'élevage liées à son cycle biologique. Pour la bonne conduite de notre élevage de drosophiles et dans les conditions semi contrôlées de laboratoire, nous avons établi le protocole expérimental suivant.

2.2.1. Constitution des stocks

La première étape essentielle pour entreprendre un élevage de drosophiles est la constitution de stocks. Pour l'élevage de masse initiale, des fruits mûrs (principalement des pommes) ont été coupés en petits morceaux et mis dans des boîtes en plastiques pour accélérer la fermentation (**Fig. 9**). Dès que les fruits se décomposent, on remarque de petits asticots qui se déplacent sur le milieu, ils représentent des larves du premier stade. Ces derniers sont aussitôt déplacés sur d'autres milieux préparés au laboratoire.



Figure. 9 : Elevage de masse de masse à partir de fruits mûrs

Après quelques jours, de ces larves émergerons des mouches de type sauvage représentant la souche d'Annaba, celle-ci sera utilisée dans la quasi totalité des expériences, et est la plus représentative possible de la "Drosophile normale". On a utilisé également la souche de drosophile sauvage capturée à Dijon – France, nommée souche de Dijon 2000 ; ainsi que le type Canton-S qui est utilisé comme référence dans l'identification de *Drosophila melanogaster*.

L'élevage des Drosophiles nécessite des conditions favorables du milieu et repose sur un contrôle quotidien des facteurs environnementaux. Le suivi du développement et les divers expériences réalisées sur les drosophiles ont été menées dans une pièce chauffée. D'autres paramètres très importants pour la survie des mouches tout au long de l'élevage, le premier réside dans la structure de la "chambre de vol" et le second dans le nombre d'individus par tube. Aussi la conduite de la reproduction est primordiale en élevage de drosophiles car elle conditionne pour une grande partie sa réussite.

De plus, la conduite, le maintien et le bon fonctionnement de l'élevage sont basées sur différentes manipulations qu'il faut effectuer régulièrement afin d'obtenir le matériel nécessaire aux différentes expériences réalisées. En effet, toutes les deux semaines, un renouvellement de stock est indispensable et un repiquage est établi tout les 7 à 8 jours.

2.2.2. Milieux d'élevage

Le milieu d'élevage assure la nutrition des insectes et constitue un support sur lequel sont pondus les œufs et où se développent les larves. Il existe plusieurs formes de substrats dont la composition est liée au type d'expériences qui seront conduites. On a utilisé deux types de milieux, le premier est naturel et le second est artificiel (**Fig. 10**).



(A)



(B)

Figure. 10 : Différents milieux de culture préparés au laboratoire

(A) Substrat artificiel (B) Substrat naturel

Le substrat naturel est une recette préparée à froid composée principalement de fruits. Pour une quantité de trois récipients, on écrase une banane et une pomme, on mixe le tout et on ajoute trois cuillères à café de vinaigre de vin et un yaourt nature, ensuite on rend le milieu homogène en ajoutant progressivement des flocons de purée pour obtenir à la fin, un mélange sous la forme d'une pâte qui s'étale au fond d'un récipient, qu'on peut conserver si besoin au réfrigérateur pour une durée d'un mois.

Le substrat artificiel est un milieu gélosé à base de farine de maïs et de levure de bière. Pour un litre de milieu de culture, on délaye dans une casserole 80 à 100 g de semoule de maïs avec un peu d'eau, on ajoute 80 g de levure et 16 g de l'agar-agar en agitant sans arrêt pour ne pas accrocher au fond de la casserole. On complète à 1 litre d'eau distillée puis le mélange est porté à ébullition pendant 1 à 2 minutes et on cesse de chauffer. On laisse refroidir quelques minutes en rajoutant 50 ml de l'antifongique (une solution d'acide benzoïque dans de l'éthanol à 70 %). Ce milieu est gardé au réfrigérateur pendant environ un

ou deux mois. La nature du substrat utilisé, été choisie selon les différents usages, on tenant compte du type et la durée de l'expérience.

La mise en œuvre du milieu d'élevage est réalisé en répartissant à chaud le substrat dans des récipients prévus pour l'élevage, des erlenmeyers de 250 ml ou n'importe quel autre flacon mais il est important qu'il soit rétrécissant progressivement de la base au sommet, cette forme est adaptée à la nécessité de collecter les différents individus de drosophiles plus facilement (**Fig. 11**).



Figure. 11 : Flacon d'élevage

Ce flacon comprend au fond, un milieu nutritif avec une hauteur de 2 cm, plus si les récipients sont étroits, mais il faut attendre le refroidissement total du substrat avant d'introduire les drosophiles à fin d'éviter leur engluement, car il est important que le milieu soit solide, sans cependant être trop compact pour permettre aux larves de se nourrir sans qu'elles s'engluent.

Au centre, un morceau de papier rugueux de type papier filtre est utilisé comme support, en lui donnant une forme de cornet de façon à ce qu'il n'obstrue pas l'accès au milieu nutritif. Le flacon est fermé par un bouchon qui doit laisser passer l'air, formé d'un morceau de coton cardé ou hygrophile enveloppé dans de la gaze.

2.3. Identification de la souche sauvage de drosophile d'Annaba :

Nous nous sommes intéressés dans le présent travail à la systématique de la souche sauvage de drosophile récoltée sur notre élevage de masse, celle-ci représente l'espèce inconnue d'Annaba. Dans le but de l'identifier, on recherche entre autre une éventuelle interfécondité en réalisant une série de croisement entre la souche sauvage de drosophile d'Annaba (inconnue), et deux souches de *D. melanogaster*, la souche récupérée à Dijon et la lignée Canton-S maintenue au laboratoire de Dijon, qui nous servira de référence.

On croise ces drosophiles d'origine différente selon 4 types de croisement, à savoir :

CR 1: Mâle Annaba X Femelle Dijon. **CR 3:** Mâle Annaba X Femelle Canton-S.

CR 2: Femelle Annaba X Mâle Dijon. **CR 4:** Femelle Annaba X Mâle Canton-S.

On a étudié 6 couples de drosophiles pour chaque type de croisement, en procédant comme pour un élevage classique, toutes les 2 heures les individus émergents sont prélevés et triés dans des boîtes de Pétri à l'aide d'un pinceau après anesthésie à l'éther afin d'isoler les mouches vierges et choisir les mâles d'une souche et les femelles d'une autre souche en les séparant individuellement dans des petits tubes jusqu'au moment des tests.

Ensuite, ces insectes sont introduits dans des récipients prévus pour l'élevage (d'une hauteur de 5 cm et d'un diamètre de 2,5 cm) contenant un milieu nutritif artificiel. Dans chaque tube, on met un mâle et une femelle de souches différentes, en indiquant sur chacun d'eux la date et le type du croisement réalisé. Au bout de 7 jours, on ôte les parents. Ainsi, on peut prélever et dénombrer quotidiennement les descendants qui émergent et les placer dans d'autres tubes d'élevage pour ne pas avoir d'erreurs de comptage. Quant au maintien de l'élevage, il est assuré par une hydratation de quelques gouttes d'eau distillées et un repiquage après 7 jours du début de l'expérience.

Outre que l'identification de notre espèce, cette étude a permis d'enregistrer la durée de développement de chaque stade et de quantifier l'abondance des pupes ainsi que celle des adultes de chaque croisement effectuer.

2.4. Etude du cycle de développement de *D. melanogaster* dans les conditions de laboratoire :

Afin de définir la durée du développement des différents stades et de mesurer le potentiel reproducteur de chaque femelle, on a utilisé des mouches vierges récupérées de l'élevage de masse d'Annaba.

Après anesthésie, six couples sont répartis dans des tubes d'élevage en plastique à fond rond de 5 cm de hauteur et de 2,5 cm de diamètre obturé par une éponge poreuse et contenant 10 ml de milieu de culture (recette artificielle décrite précédemment) assurant la nourriture des larves et des adultes.

Les drosophiles sont élevées dans les conditions semi contrôlées de laboratoire avec une température d'environ 25° C. Pour le bon déroulement du développement, un repiquage et une hydratation par quelques gouttes d'eau distillée du milieu de culture sont effectués quotidiennement.

2.5. Etude biométrique des différents stades de développement de *D. melanogaster* :

Les différents stades du développement (L1, L2 et L3) de la drosophile ont fait l'objet d'une étude de mensuration à l'exception des œufs, en raison de leur minuscule taille (inférieur à 1mm de longueur).

Pour cela, un échantillon de 300 larves de différents stades, a été prélevé des différents milieux de cultures avec un pinceau souple et mesuré sur papier millimétrée placé sous une boîte de Pétri (**Fig. 12**).

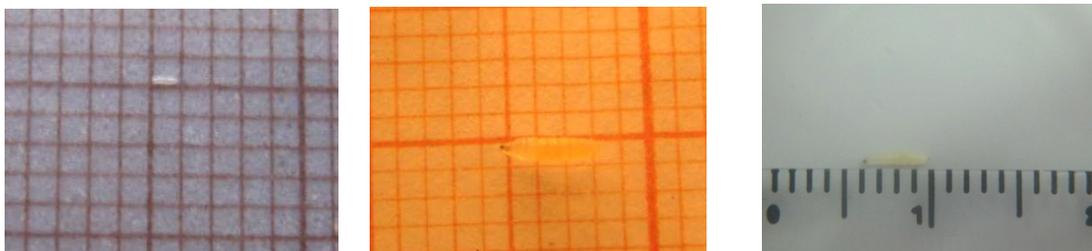


Figure. 12 : Mensuration de différentes larves de *D. melanogaster*

2.6. Traitement insecticide :

Afin de mesurer l'efficacité de quelques insecticides sur les drosophiles, nous avons procédé à des essais insecticides à l'égard des larves de troisième stade (L₃) de *D. melanogaster*.

Ces larves ont été exposées à trois biopesticides les Saponines, le Spinosad et l'Azadiractine.

2.6.1. Présentation des insecticides utilisés :

- **Les Saponines**

Les saponines sont des substances végétales de composition chimique analogue à celle des glucosides. Elles ont, comme le savon, la propriété de former dans l'eau une écume.

On les trouve dans de nombreux végétaux (salsepareille, saponaire, quinoa, etc.) sous forme d'hétérosides (*saponosides*) elles servent probablement comme substances défensives, en particulier contre les agressions fongiques.

Un glycoside de saponine ou simplement saponine est issu de la combinaison chimique d'un sucre et d'un stéroïde, d'un stéroïde alcaloïde (il s'agit d'un stéroïde comportant une fonction azotée) ou d'un triterpène. C'est pourquoi on parle aussi de saponine stéroïde, de saponine alcaloïde stéroïde et de saponine triterpène. En raison de la multiplicité des structures possibles de glucide et de la grande variabilité structurale des alcyones, ce groupe de corps présente une grande variété structurale et par là une grande variabilité dans ses caractères biologiques (**Fig. 13**).

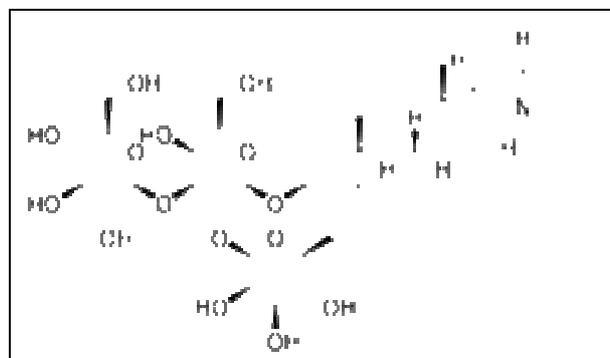


Figure. 13 : Formule chimique de la solanine, une saponine rencontrée chez les Solanaceae.

- **Le Spinosad**

C'est un insecticide d'origine biologique composé d'un mélange de deux métabolites du (Spinosynes A et D) synthétisés par la bactérie *Saccharopolyspora spinosa*, du groupe des Actinomycète du sol.

Son nom chimique est (EZ)-1-(6-chloro-3-pyridylméthyl)-N-nitroimidazolidinylidèneamine (**Fig.14**), son poids moléculaire est de 731.45g/mol, et sa densité est de 0.512 g/ml à 20°C ; d'une apparence Solide et d'une couleur gris pâle à blanc, ce produit résulte de la fermentation de l'actinomycète découverte durant les années 1980 (**Mertz et Yao ; 1990**).

Il expose l'insecte à un haut degré de toxicité sélective et son spectre d'activité inclut des espèces de plusieurs ordres: Coleoptera, Diptera, Hymenoptera, Isoptera, Lepidoptera et Thysanoptera. Le mode d'action du Spinosad est unique car il agit en dépolarisant les neurones de l'insecte affectant à la fois les récepteurs GABA et nicotiques (**Salgado, 1998**) et ceci par contact ou ingestion induisant la paralysie puis la mort de l'insecte.

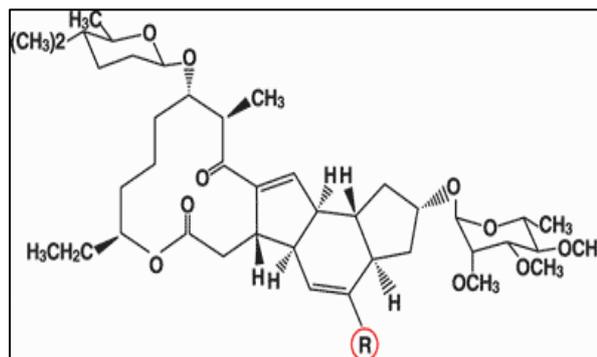


Figure. 14: Structure chimique du Spinosad

- **L'Azadiractine**

Insecticide d'origine biologique extrait du « Neem » (*Azadirachta indica*) qui est un arbre à croissance rapide, originaire d'Asie du Sud-Est. Il est utilisé depuis des milliers d'années, notamment en Inde, pour ses extraordinaires propriétés insecticides.

Toutes ses parties peuvent être utilisées pour la protection des cultures, mais ce sont les graines qui contiennent la plus grande teneur en substances actives (Azadiractine A et B, la salannine, le mélianthriol et la nimbine) (**Fig. 15**). L'Azadiractine est la principale matière active et sa teneur dans les graines est comprise entre 2 et 9 mg/g.

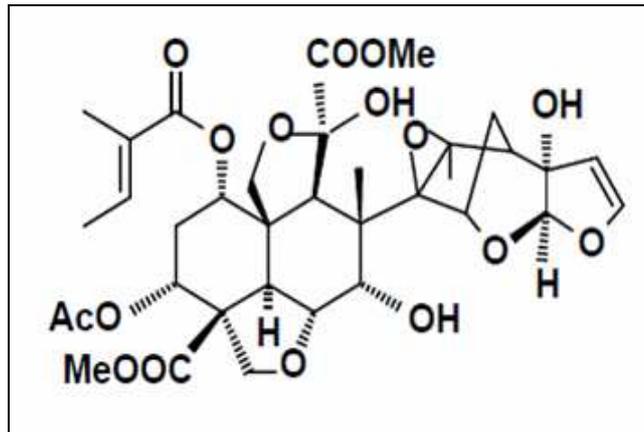


Figure. 15: Structure chimique de l'Azadiractine

Ses principes actifs agissent en produisant des troubles dans l'alimentation de l'insecte et intervenant sur son cycle hormonal, provoquant des malformations dans le processus de mue, en empêchant son développement normal et sa croissance.

2.6.2. Préparation des doses utilisées et traitement :

A partir d'un produit commercial de Spinosad dosant 24%, d'Azadiractine dosant 1 % et de Saponine commerciale et après des essais préliminaires, nous avons déterminé des doses à administrer aux larves de stade L_3 de *D. melanogaster* de la souche d'Annaba. Chaque dose est appliquée à 3 répétitions, avec une préparation témoin.

Le traitement est réalisé par l'incorporation des insecticides (10 ml) dans les préparations contenant 40 g de milieu de culture (nourriture artificielle) où immergent 20 larves. Les tubes d'élevage utilisés sont en plastique à fond rond de 5 cm de hauteur et de 2,5 cm de diamètre obturé par une éponge poreuse.

On a utilisé une seule dose de Saponine 1 g/l, les doses utilisées pour le Spinosad sont de (10 mg/l ; 5 mg/l ; 2,5 mg/l), et celles utilisées pour l'Azadiractine sont de (0,2 mg/l, 0,1 mg/l, 0,05 mg/l).

Quotidiennement le nombre d'adulte émergés et les différentes malformations obtenues sont enregistrés.

2.7. Etude du comportement sexuel chez *D. melanogaster* :

De nombreuses investigations portent sur l'analyse du comportement, et en particulier celui mis en œuvre lors de la parade sexuelle des drosophiles. Cependant, avant de réaliser un croisement de drosophiles il est nécessaire de suivre un protocole bien précis basé sur la séparation et l'élevage des différents individus destinés à l'accouplement.

2.7.1. Elevage des adultes isolés de *D. melanogaster* :

Pour les besoins de notre étude, périodiquement, les adultes nouvellement émergés sont collectés dans les différents élevages de masse et regroupés dans un élevage spécial destiné à l'étude du comportement sexuel. Dans cette manipulation, il est nécessaire de les sexer et les séparer individuellement, après une brève anesthésie, en mâles et femelles pour un contrôle total des croisements.

Pour l'anesthésie, on utilise une petite boule de coton trempée dans de l'éther diéthylique, l'égoutter puis l'introduire dans le récipient contenant les drosophiles à l'aide d'un entonnoir pendant 1 à 2 minutes. Ensuite, les mouches sont placées dans une boîte de Pétri, et sans tarder, les observées sous une loupe binoculaire afin de les trier à l'aide d'un petit pinceau en mâles et femelles.

On s'appuyant sur le phénotype on note les différences entre les deux sexes, qui résident essentiellement dans les structures génitales, même s'il existe quelques variations dans la disposition des soies (**Wolpert, 2004**). Nous avons aussi utilisé d'autres critères de distinctions entre les mâles et les femelles de drosophile cités par **Goudey- Perrière & Perrière, 1974** et mentionnées dans le tableau suivant :

Tableau.1: Différences morphologiques entre les mâles et les femelles de *D. melanogaster* :

	Femelles	Mâles
Taille	Grosses	Moins gros
Abdomen	Pointu	Rond
Tergites abdominaux	Dernière bande large	Deux dernières bandes larges
Organes sexuels	Plaque vaginale non colorée	Pénis coloré rouge brun foncé
Signes particuliers	Pas de peignes	Présence de "peignes sexuels" (rangée de poils sombres et drus sur le tarse de la 1ère paire de pattes)

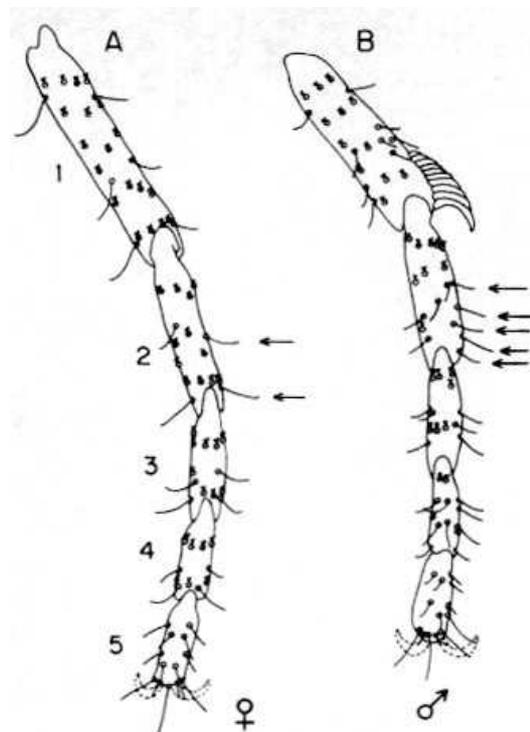


Figure. 16: Schéma montrant le dimorphisme sexuel de la patte thoracique. On note la présence du peigne et des nombreuses soies gustatives chez le mâle (flèches). (D'après Possidente & Murphey, 1989)

2.7.2. Description des différentes séquences du comportement sexuel chez *D. melanogaster* :

La drosophile se présente comme un organisme parfaitement approprié à l'étude du comportement sexuel. Afin de déterminer les différentes séquences comportementales conduisant à un accouplement réussi, nous avons réalisé des tests éthologiques sur un échantillon de 20 couples de drosophiles isolées à l'émergence.

Ces tests se déroulent dans une salle de test à la température et l'hygrométrie ambiante, fermée couvrant un maximum de bruit venant de l'extérieur, obscure, la seule source lumineuse est une lumière rouge. Les couples testés sont placés dans des boîtes en plastiques (boîtes de Pétri) mesurant 4 cm de diamètre, munies d'un couvercle assurant la fermeture hermétique. Sachant que cette manipulation est stressante pour les insectes, on introduit en premier la femelle seule à l'extrémité de la boîte pendant quelques minutes, ensuite le mâle dans l'autre extrémité.



Figure. 17 : Dispositif utilisé pendant les tests de comportement

Après un temps d'acclimatation de 10 minutes, les principaux comportements pré-copulatoires sont enregistrés ; on note lequel des deux partenaires se dirige vers l'autre et on enregistre le temps du premier contact ainsi que le nombre d'attouchement. On a également noté le nombre et le temps de parade qui correspond au temps entre le premier contact de parade jusqu'au moment de l'accouplement. Le nombre de chant et de léchage accompli par le mâle pour aboutir à la copulation sont aussi enregistrés. Les temps de différentes tentatives d'accouplements aboutissants ou non à l'accouplement sont notés ainsi que le nombre et la durée des parades réussis ou avortés.

A partir de ces observations, on a pu déterminer et décrire les différentes étapes de la parade sexuelle à savoir l'orientation, l'attouchement, le chant, le léchage et la tentative d'accouplement.

2.7.3. Etude comportementale de *D. melanogaster* traitée aux insecticides :

Après avoir déterminé les doses sub-létales des insecticides utilisés précédemment, nous avons établi des tests de comportement afin de mesurer l'effet de ces molécules sur la parade sexuelle des mouches.

Pour cette étude le traitement a été réalisé comme précédemment mais avec l'utilisation d'une seule dose pour le Spinosad ainsi que l'Azadiractine qui sont respectivement 2,5 mg/l et 0,05 mg/l.

Après l'émergence les adultes survivants sont isolés jusqu'au moment des tests de comportement qui se sont déroulés dans les mêmes conditions décrites précédemment.

Les tests de comportement sont effectués suivant trois types de croisement pour le Spinosad ;

CRS 1 : Mâle Traité X Femelle Traitée.

CRS 2 : Mâle Traité X Femelle Saine.

CRS 3 : Mâle Sain X Femelle Traitée.

et deux types de croisement pour l'Azadiractine, qui sont :

CRA 1 : Mâle Traité X Femelle Saine.

CRA 2 : Mâle Sain X Femelle Traitée.

L'observation se fait pendant une heure maximum dès l'introduction des mouches dans les boîtes prévues pour ces tests. Durant ce temps, les principaux comportements stéréotypés de parade des mâles sont analysés : la poursuite, le contact des mouches avec la première paire de pattes, l'extension et la vibration alaire, le léchage des genitalia et la tentative d'accouplement.

2.8. Analyse statistique

Pour l'analyse statistique du traitement des drosophiles par le Spinosad et l'Azadiractine, le taux de mortalité est corrigé par la formule d'**Abbott (1925)** qui permet de connaître la toxicité réelle de l'insecticide. Les différents taux subissent une transformation angulaire d'après les tables établies par Bliss (**Fischer & Yates, 1975**). Les données ainsi normalisées font l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à un seul critère de classification, Le calcul de la plus petite différence significative (*p.p.d.s*) permet le classement des différentes concentrations utilisées.

Afin de caractériser le pouvoir insecticide des molécules utilisées, nous avons déterminé, la dose létale 50 % (DL 50) ou sa dose d'inhibition de 50 % (DI 50). Les taux de mortalité et les taux d'inhibition de l'exuviation corrigés obtenus sont transformés en probits et permettent d'établir une droite de régression en fonction des logarithmes décimaux des doses utilisées. Le test χ^2 permet un bon ajustement de la droite. A l'aide de la courbe, on détermine toutes les doses remarquables, selon les procédés mathématiques de **Finney (1971)**. La méthode de **Swaroop (1966)** permet le calcul de l'intervalle de confiance de la DL50 et de la DI 50.

Formule d'Abbott $X-Y/X \times 100$

X= Nombre de vivants dans le lot témoin

Y= Nombre de vivants dans le lot traité

3. RESULTATS :

3.1. Etude systématique :

3.1.1. Identification de la souche sauvage de drosophile prélevée à Annaba :

Les 4 types de croisements effectués sont réussis, ils nous ont permis non seulement d'identifier la souche sauvage de drosophile récoltée sur nos substrats mais aussi de montrer l'existence d'une interfécondité entre la souche d'Annaba, de Dijon et celle de Canton- S, selon les différentes configurations.

De plus, le suivi des générations F₁ issues de ces croisements révèle qu'ils sont interféconds entre eux.

3.1.2. Etude des croisements entre différentes souches de drosophiles :

Dans les conditions contrôlées de température et d'humidité au niveau de laboratoire, la durée de chaque stade a été déterminée par l'observation directe de l'exuvie.

Les résultats obtenus nous ont permis de constater selon le CR 1 que le développement de *D. melanogaster* dure en moyenne 12 jours. Parmi les quatre croisements effectués, on note une durée moyenne enregistrée dans le CR 3 de 11, 16 jours représentant la plus courte durée de développement; par ailleurs, les croisements CR 2 et CR 4 affichent 13,17 jours qui présentent la durée moyenne la plus longue en dépit de la différence de souches utilisées dans ces deux croisements.

Le développement larvaire dans les croisements effectués ne dépasse pas les 4 jours, On croisant un mâle Annaba et une femelle Dijon (CR 1) ou l'inverse une femelle Annaba et un mâle Dijon (CR 2), on obtient le développement moyen le moins long avec $3,17 \pm 0,41$ jours et cela quelque soit la disposition du croisement. Cependant, le développement larvaire le plus long dépasse les trois jours et un demi et est enregistré dans le CR 4 (femelle Annaba et mâle Canton-S). Toutefois, l'analyse statistique de ces moyennes montre qu'il n'y a pas de différence significative avec $F=1,39$ et $p=0,285$ (**Tab. 2**).

Sur les différents croisements effectués, on remarque que la durée moyenne du développement des pupes enregistrée en jours dans les croisements CR 1, CR 3 et CR4 (sont

respectivement $3,5 \pm 0,55$; $3,33 \pm 0,52$; $3,67 \pm 0,52$), sont très proches bien que les mouches proviennent de souches différentes; en effet l'analyse statistique de ces moyennes montre qu'il n'y a pas de différence significative, malgré l'existence d'une durée moyenne observée dans le CR 2 dépassant les quatre jours ($F= 2,06$ et $p= 0,148$) (**Tab. 2**).

Pour les adultes également, les résultats nous ont permis de mettre en évidence une homologie notable sur la durée moyenne des croisements effectués CR 1 = $5,33 \pm 1,37$ jours, CR 2 = $5,83 \pm 1,72$ jours et CR 4 = $5,67 \pm 0,82$ jours, tandis qu'un seul croisement le CR 3 (mâle Annaba et femelle Canton-S) affiche une durée moyenne la moins longue avec $4,5 \pm 0,55$ jours. Cela n'affecte en rien les résultats de l'analyse statistique de ces moyennes car elle indique qu'il n'y a pas de différence significative ($F= 1,53$ et $p= 0,247$) (**Tab. 2**).

En outre, les différents croisements effectués ont permis d'obtenir un bon rendement concernant le nombre de pupes puisqu'on enregistre plus de 100 pupes pour le CR 1. Alors que les croisements CR 2, CR 3 et CR 4 affichent simultanément des nombres moyens de pupes de $95,83 \pm 18,72$; $83,5 \pm 9,91$; $88,33 \pm 4,41$, mais il reste que les moyennes des 4 croisements sont plutôt proches (**Tab. 2**).

Parallèlement, on constate que le nombre moyen d'adulte émergé est relativement faible car celui enregistré dans le CR 1 et est considéré comme le plus élevé avec $95 \pm 21,34$. De plus, les autres croisements affichent des résultats ne dépassant pas les 80 adultes, ainsi, la moyenne des mouches émergées la plus faible avec $66,83 \pm 12,89$ adultes est issue du CR 3 (**Tab. 2**).

Comme le montre le tableau 2, on n'a pas autant de mâles que de femelles car le nombre de ces dernières domine, mais ceci est constaté sur les différents croisements effectués entre souches.

Selon les résultats obtenus, on remarque que le nombre d'individus mâles appartenant à la première génération ne dépasse pas les 34 mouches dans les 4 types de croisements réalisés. Cependant, on enregistre dans le CR 2 (femelle Annaba et mâle Dijon) le maximum d'adultes mâles émergés avec $33,33 \pm 13,22$ à la différence des croisements effectués entre les souches d'Annaba et de Canton-S, où on obtient des moyennes faibles de mâles émergés (CR 3 : $26,17 \pm 11,82$ et CR 4 : $28,33 \pm 4,18$). L'analyse statistique de ces moyennes montre qu'il n'y a pas de différence significative ($F= 0,75$ et $p= 0,538$) (**Tab. 2**).

D'autre part, l'émergence des femelles est comprise entre $42,33 \pm 8,14$ noté dans le CR 3 et $63,33 \pm 17,72$ constaté dans le CR 1, ces moyennes sont en effet élevées en comparaison avec le nombre de mâle. On remarque également dans le croisement CR 1 (mâle Annaba et femelle Dijon) que le nombre moyen des femelles représente le double de celui enregistré chez les mâles. L'analyse statistique de ces moyennes indique qu'il existe une différence significative ($F= 3,66$ et $p= 0,036$) (Tab. 2).

Tableau.2: Durées et fréquences des différents stades de développement issus des croisements entre différentes souches. (m ± s : moyenne ± écart type)

Croisement Paramètres		m ± s				Test-F	Valeur P
		CR 1	CR 2	CR 3	CR 4		
Durée de vie	Larvaire	3,17±0,41	3,17±0,41	3,33±0,52	3,83±0,98	1,39	0,285
	Pupale	3,5±0,55	4,17±0,75	3,33±0,52	3,67±0,52	2,06	0,148
	Adulte	5,33±1,37	5,83±1,72	4,5±0,55	5,67±0,82	1,53	0,247
Fréquence	Pupe	107,17±21,09	95,83±18,72	83,5±9,91	88,33±4,41	2,51	0,098
	Adulte	95±21,34	77,33±23,35	66,83±12,89	74,5±9,79	2,66	0,086
	Mâle	31,67±7,94	33,33±13,22	26,17±11,82	28,33±4,18	0,75	0,538
	femelle	63,33±17,72	44±13,96	42,33±8,14	46,17±8,06	3,66	0,036

CR 1: Mâle Annaba X Femelle Dijon.

CR 3: Mâle Annaba X Femelle Canton-S.

CR 2: Femelle Annaba X Mâle Dijon.

CR 4: Femelle Annaba X Mâle Canton-S.

3.2. Etude de cycle de développement de *D. melanogaster* dans les conditions semi-contrôlées de laboratoire :

Les résultats obtenus sur les 6 couples étudiés, nous ont permis non seulement de déterminer la durée du cycle de développement de *D. melanogaster* mais aussi d'évaluer le potentiel reproducteur de chaque femelle étudiée.

3.2.1 Durée de vie des différents stades de développement de *D. melanogaster* :

Le paramètre étudié dans cette partie correspond à la durée moyenne de jours pendant laquelle le stade larvaire avec ses trois phases (L1, L2 et L3) et le stade pupal se développent. Dans les conditions expérimentales et dans une salle à 25°C, on a établi que le développement larvaire, pupal et adulte de *D. melanogaster* est en moyenne 14,67 jours (Tab. 3).

Après l'éclosion des œufs déposés par les femelles dans les milieux de culture, on observe 3 stades larvaires (L1, L2 et L3) qui mettent en moyenne $4,5 \pm 0,43$ jours pour se développer avec un minimum de 3 jours et un maximum de 6 jours (**Tab. 3**).

Le troisième stade larvaire se termine par une phase d'errance durant laquelle la larve cesse de se nourrir et se déplace activement, elle va ensuite s'immobiliser et former le puparium, marquant ainsi le début de la phase pré-pupal auquel succède le stade pupal qui dure en moyenne $4 \pm 0,37$ jours avec un minimum de 3 jours et un maximum de 5 jours (**Tab. 3**).

Le stade pupal se termine par l'émergence de drosophiles adultes "Imagos" qui mettent en moyenne $6,17 \pm 0,54$ jours (**Tab. 3**).

Tableau.3: Durée de vie des différents stades de développement de *D. melanogaster*

(n= 6)

Paramètres		Moy	Ecart-type	Variance	Coef. Var	Min	Max	Etendue
Durée du stade	Larvaire	4,5	0,43	1,1	23,31	3	6	3
	Pupale	4	0,37	0,8	22,36	3	5	2
	Adulte	6,17	0,54	1,77	21,55	4	8	4

3.2.2. Potentiel reproducteur des femelles de *D. melanogaster* :

D'après les résultats obtenus sur les 6 femelles drosophiles d'Annaba étudiées, on note le nombre moyen de pupes issu de la dernière mue larvaire de $100,5 \pm 12,21$ avec un minimum de 74 pupes et un maximum de 153 pupes (**Tab. 4**). En comparaison avec les différents croisements effectués entre souches (CR 1, CR 2, CR 3 et CR 4), on remarque une similarité avec le nombre de pupes obtenu dans CR 1, ainsi qu'une légère différence avec les autres croisements.

Sur l'ensemble des pupes étudiées, le maximum de drosophiles adultes émergées est de 89 mouches ce qui mène à constater qu'il y a une grande mortalité lors de la mue imaginale. Le nombre moyen d'individus émergés est de $67,5 \pm 6,53$ (**Tab. 4**), cette moyenne est à l'image de celle obtenue lors du croisement entre mâle Annaba et femelle Canton-S (CR 3) représentant le nombre le plus faible d'adultes.

Le nombre de femelles émergées est en moyenne $39,17 \pm 4$; ainsi ce nombre est plus élevé en comparaison au nombre moyen des adultes mâles enregistrés qui est de $28,33 \pm 2,88$ avec un minimum de 16 mâles (**Tab. 4**). De même que pour les résultats obtenus sur les croisements entre souches, car on remarque également un nombre de femelles toujours plus élevé que celui des mâles.

Tableau.4: Nombre d'individus issus des croisements de *D. melanogaster* (n= 6)

Paramètres		Moy	Err. Std	Variance	Coef. Var	Min	Max	Etendue
Nombre	Pupes	100,5	12,21	894,7	29,76	74	153	79
	Adultes	67,5	6,53	255,5	23,68	44	89	45
	Mâles	28,33	2,88	49,87	24,92	16	35	19
	Femelles	39,17	4	95,77	24,99	28	54	26

[**Moy** : Moyenne ; **Err. Std**: Erreur Standard ; **Coef. Var** : Coefficient de Variation ; **Min** : Minimum ; **Max** : Maximum].

3.3. Biométrie des différents stades de développement de *D. melanogaster* :

3.3.1. Mensuration des différents stades larvaires :

Les petits asticots de L1 collectés dans l'élevage de masse présentent une taille moyenne de $1,33 \pm 0,03$ mm avec un minimum de 1 mm, un maximum de 1,9 mm, une variance de 0,08 et un coefficient de variation de 21,32 (**Tab. 5**).

On remarque selon les résultats obtenus que la taille des larves évolue au second stade larvaire, elle est d'une moyenne de $2,28 \pm 0,03$ mm avec un minimum de 2 mm, un maximum de 2,8 mm, une variance de 0,07 et un coefficient de variation de 11,62 (**Tab. 5**).

De même, pour le troisième stade larvaire, on note une augmentation de la taille qui peut atteindre une moyenne $3,72 \pm 0,06$ mm, avec un minimum de 3 mm, un maximum de 5 mm, une variance de 0,35 et un coefficient de variation de 16,03 (**Tab. 5**).

Ainsi, les résultats obtenus montrent que la taille des différentes larves de *D. melanogaster* augmente en fonction du développement larvaire. On constate également une homogénéité intra-individus dans chaque échantillon mesuré avec une faible variance (L1, L2 et L3).

Tableau.5: Analyse descriptive des mensurations des différents stades larvaires de *D. melanogaster* (Taille des larves : mm, n=100).

Paramètres	Moy	Ecart-type	Variance	Coef Var	Min	Max	Etendue	F	P	
Taille	L ₁	1,33	0,03	0,08	21,32	1	1,9	0,9	843,64	0,0001
	L ₂	2,28	0,03	0,07	11,62	2	2,8	0,8		
	L ₃	3,72	0,06	0,35	16,03	3	5	2		

La taille des 3 stades larvaire évolue en fonction du temps pour tripler entre le premier stade et le troisième stade, l'analyse statistique montre qu'il y a des différences significatives entre les 3 moyennes obtenues (F= 843,64 ; $p= 0,0001$). Le classement statistique de ces moyennes, nous a permis de déterminer trois groupes de larves selon leur taille, à savoir :

Le premier groupe comporte les larves de premier stade.

Le second regroupe celles de deuxième stade.

Et le dernier groupe comporte celles de troisième stade.

3.4. Traitement insecticides :

3.4.1. Effet des Saponine sur les larves du troisième stade de *D. melanogaster* :

A l'issu du traitement par les Saponines utilisé à la dose de 1g/l sur les larves du troisième stade L3 de *D. melanogaster*, on n'observe aucune activité larvicide car le nombre de pupes issues des larves traitées dépasse les 15 pupes (**Tab. 6**) en effet, il n'y a pas de différence dans le nombre de pupes issues de la dernière mue larvaire entre le témoin et les trois répétitions traitées au Saponine (**Tab. 7**). En revanche, le nombre d'individus émergés est faible en comparaison avec ceux du témoin, on enregistre 6 à 11 adultes seulement, ce qui indique l'existence d'un effet insecticide sur le nombre des pupes, ainsi la moyenne affichée sur le nombre des adultes témoins est de $4,5 \pm 1,26$ alors que le nombre moyen des adultes émergés exposés à la Saponine varie entre $1,5 \pm 0,87$ et $2,75 \pm 0,95$ (**Tab. 7**).

Selon les résultats obtenus, on remarque également que les Saponines ne représentent aucun effet sur la durée du développement des différents stades de vie de *D. melanogaster*. (**Tab. 6**).

Tableau.6: Effet insecticide des saponines sur les larves L3 de *D. melanogaster* (Dose 1g/l, n = 20)

Temps (Jours) / Répétitions	J0-J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8	J9
Témoin	0	4P	17P	19P	4Ad+16P	8Ad+12P	16 Ad	18 Ad
R₁	0	0	10P	12P	15P	1Ad +17P	5 Ad	6 Ad
R₂	0	4P	12P	16P	4Ad+12P	7Ad+13P	11 Ad	11 Ad
R₃	0	10P	13P	18P	5Ad+13p	7Ad+13P	7Ad	7Ad

[L : Larves, P : Pupes, Ad : Adultes]

Tableau.7: Effet des saponines sur le nombre des pupes et des adultes de *D. melanogaster* (Dose : 1g/l, n = 20)

Paramètres		Moy	Err. Std	Variance	Min	Max	Etendue
Nombre des pupes	Témoin	4,75	2,87	32,92	0	13	13
	R1	3,75	2,17	18,92	0	10	10
	R2	4	1,63	10,67	0	8	8
	R3	4,5	2,10	17,67	0	10	10
Nombre des adultes	Témoin	4,5	1,26	6,33	2	8	6
	R1	1,5	0,87	3	0	4	4
	R2	2,75	0,95	3,58	0	4	4
	R3	1,75	1,18	5,58	0	5	5

[Moy : Moyenne ; Err. Std: Erreur Standard ; Min : Minimum ; Max : Maximum].

3.4.2. Effet insecticide du Spinosad sur *D. melanogaster* :

Les essais ont été réalisés au laboratoire, selon un protocole standard permettant d'évaluer l'efficacité insecticide du Spinosad sur les larves du 3^{ème} stade de *D. melanogaster*. La mortalité a été déterminée de 5 à 7 jours après l'application, en effet, les observations directes des adultes émergés sont enregistrées dans le tableau.8.

Les résultats des essais insecticides montrent que 5 jours après le début du traitement, les pourcentages mortalité enregistrés ne sont pas différents significativement ($F= 3,09$, $p= 0,15$) (**Tab.8.2**). Le classement des doses utilisées permet de définir un seul groupe de moyenne qui réuni les trois utilisées. Le calcul des différents paramètres toxicologiques a permis de montrer que la mortalité est fortement corrélée au doses utilisées ($Y = 1,75 X + 4,70$; $R^2 = 0,98$), la DL50 est égale à 1,48 mg/l, la DL90= 7,94 mg/l (**Tab.8.3**).

Après 7 jours du traitement, la mortalité augmente, et les taux atteignent 100 % de mortalité, les pourcentages mortalité enregistrés sont significativement différents ($F= 12,4$,

$p= 0,019$) (Tab.8.2). Le classement des doses utilisées permet de définir deux groupes distincts : un groupe comprenant la dose la plus faible 2,5 mg/l et un autre groupe qui réunit la dose de 5 mg/l et 10 mg/l. Le calcul des différents paramètres toxicologiques a permis de montrer que la mortalité est corrélée aux doses utilisées ($Y= 5,99 X + 2,56$; $R^2= 0,97$), la DL50 est égale à 2,51 mg/l, la DL90 = 4,17 mg/l (Tab.8.3).

Tableau.8: Mortalité observée après 5 et 7 jours des larves du 3^{ème} stade de *D. melanogaster* traitées par le Spinosad

Temps d'observation	Répétitions	Doses utilisées		
		2,5 mg/l	5 mg/l	10 mg/l
Après 5 jours	Témoin	7	8	10
	R1	16	19	20
	R2	13	19	20
	R3	18	15	18
Après 7 jours	Témoin	1	4	1
	R1	11	16	20
	R2	13	20	20
	R3	9	20	20

Tableau.8.1: Taux de mortalité corrigés (par la formule d'Abbot) des larves du 3^{ème} stade de *D. melanogaster* traitées par le Spinosad après 5 et 7 jours

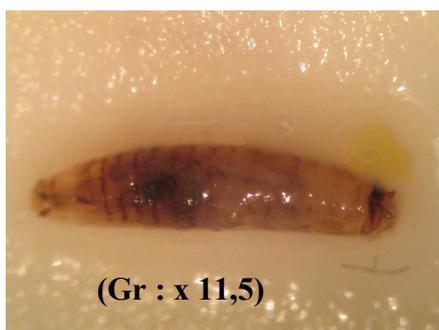
	Répétitions	D1= 2,5mg/l	D2=5 mg/L	D3=10 mg/l
Après 5 jours	R1 corrigé	69,23	91,66	100
	R2 corrigé	46,15	91,66	100
	R3 corrigé	84,61	58,33	80
Après 7 jours	R1 corrigé	52,63	75	100
	R2 corrigé	63,16	100	100
	R3 corrigé	42,1	100	100

Tableau.8.2: Taux de mortalité corrigés ayant subi une transformation angulaire des larves du 3^{ème} stade de *D. melanogaster* traitées par le Spinosad après 5 et 7 jours

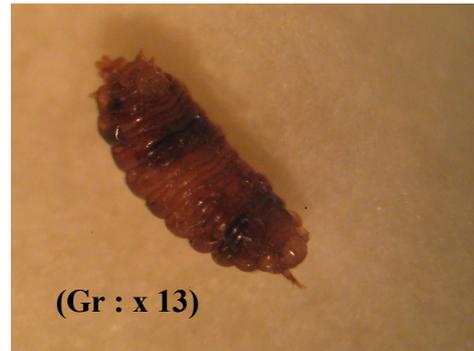
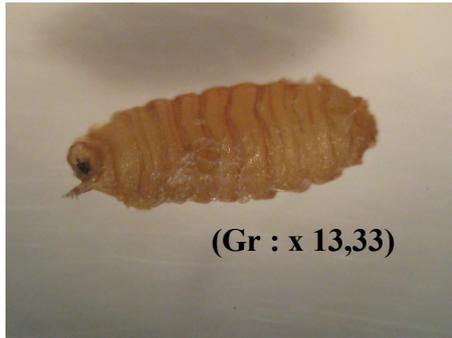
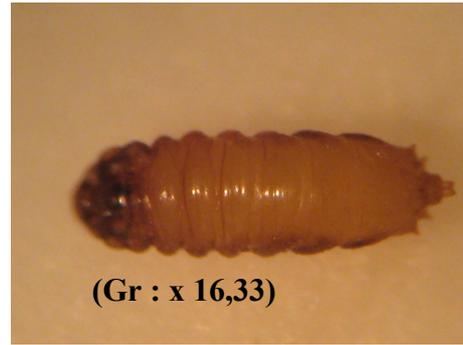
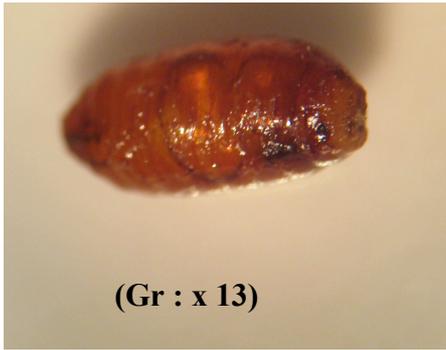
	Répétitions	D1= 2,5mg/l	D2=5 mg/l	D3=10 mg/l	Valeur-F	Valeur-P
Après 5 jours	R1 corrigé	56,17	72,54	100	3,09	0,15
	R2 corrigé	42,71	72,54	100		
	R3 corrigé	66,42	49,6	63,43		
Après 7 jours	R1 corrigé	46,15	60	100	12,4	0,019
	R2 corrigé	52,54	100	100		
	R3 corrigé	40,4	100	100		

Tableau.8.3: Les Paramètres toxicologiques du Spinosad à l'égard des larves du 3^{ème} stade de *D. melanogaster* après 5 et 7 jours

Période	Droite de régression	DL 50	DL 90
5 jours	$Y = 1,75 X + 4,70$	1,48 mg/l	7,94 mg/l
	$R^2 = 0,98$		
7 jours	$Y = 5,99 X + 2,56$	2,51 mg/l	4,17 mg/l
	$R^2 = 0,97$		

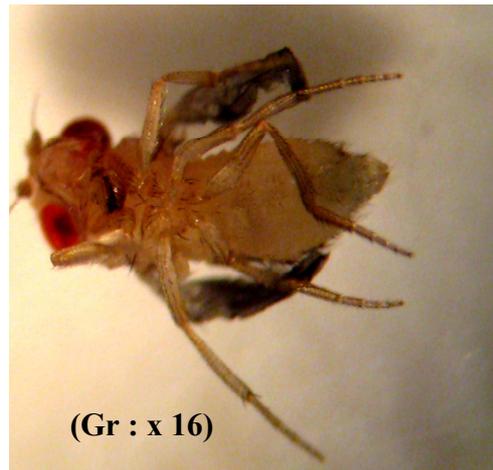
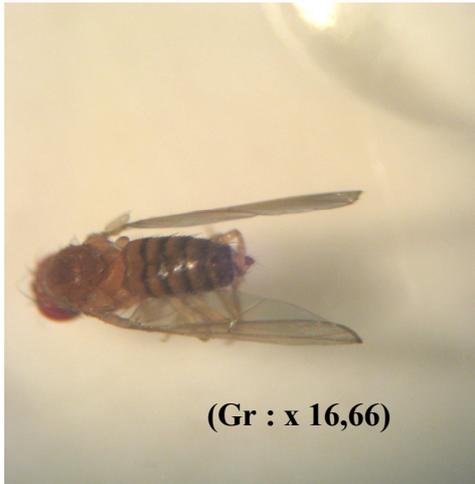


(A) Sur les larves de 3^e stade



(B) Sur les pupes





(C) Sur les adultes

Figure.18: Effet du Spinosad sur *D. melanogaster*

3.4.3. Effet de l'Azadiractine sur *D. melanogaster* :

Les drosophiles issues des larves du troisième stade traitées avec l'Azadiractine ont été déterminées de 4 à 6 jours après l'application. Les observations directes des drosophiles émergées sont enregistrées dans le tableau 9.

Les résultats des essais insecticides montrent que, 4 jours après le début du traitement, les pourcentages mortalité enregistrés ne sont pas différents significativement ($F= 4,46$, $p= 0,095$) (**Tab.9.2**). Le classement des doses utilisées permet de définir un seul groupe de moyenne qui réuni les trois utilisées (0,05 mg/l, 0,1 mg/l et 0,2 mg/l). Le calcul des différents paramètres toxicologiques a permis de montrer que la mortalité est corrélée au doses utilisées ($Y = 8,57 + 2,55 X$; $R^2 = 0,81$), la DL 50 est égale à 0,039 mg/l, la DL90=0,128 mg/l \approx 0,13 mg/l (**Tab.9.3**).

Après 6 jours du traitement, la mortalité augmente, et les taux atteignent 100 % de mortalité, les pourcentages mortalité enregistrés sont significativement différents ($F= 12,39$, $p= 0,019$) (**Tab.9.2**). Le classement des doses utilisées d'Azadiractine à permet aussi de définir deux groupes distincts le premier comprend la dose la plus faible 0,05 mg/l et le deuxième réuni la dose de 0,1 mg/l et 0,2 mg/l. Le calcul des différents paramètres toxicologiques a permis de montrer que la mortalité est corrélée au doses utilisées ($Y= 9,35 + 3,13 X$; $R^2=0,89$), la DL 50 est égale à 0,04 mg/l, la DL90 = 0,1 mg/l (**Tab.9.3**).

Tableau.9: Mortalité observée après 4 et 6 jours des larves du 3^{ème} stade de *D. melanogaster* traitées par l'Azadiractine

Temps d'observation	Répétitions	Doses utilisées		
		25 mg/l	50 mg/l	100 mg/l
Après 4 jours	Témoin	11	11	14
	R1	14	20	19
	R2	17	18	20
	R3	16	20	20
Après 6 jours	Témoin	4	6	7
	R1	11	19	19
	R2	15	19	20
	R3	11	20	20

Tableau.9.1: Taux de mortalité corrigés (par la formule d'Abbot) des larves du 3^{ème} stade de *D. melanogaster* traitées par l'Azadiractine après 4 et 6 jours

	Répétitions	D1= 25mg/l	D2=50 mg/L	D3=100 mg/l
Après 4 jours	R1 corrigé	33,33	100	83,33
	R2 corrigé	66,66	77,77	100
	R3 corrigé	55,55	100	100
Après 6 jours	R1 corrigé	43,75	92,85	92,31
	R2 corrigé	68,75	92,85	100
	R3 corrigé	43,75	100	100

Tableau.9.2: Taux de mortalité corrigés ayant subi une transformation angulaire des larves du 3^{ème} stade de *D. melanogaster* traitées par l'Azadiractine après 4 et 6 jours

	Répétitions	D1= 25mg/l	D2=50 mg/l	D3=100 mg/l	Valeur-F	Valeur-P
Après 4 jours	R1 corrigé	35,06	100	65,65	3,09	0,15
	R2 corrigé	54,33	61,34	100		
	R3 corrigé	47,87	100	100		
Après 6 jours	R1 corrigé	40,98	73,57	73,57	12,4	0,019
	R2 corrigé	55,55	73,57	100		
	R3 corrigé	40,98	100	100		

Tableau.9.3: Les Paramètres toxicologiques de l'Azadiractine à l'égard des larves du 3^{ème} stade de *D. melanogaster* après 4 et 6 jours

Période	Droite de régression	DL 50	DL 90
4 jours	$Y = 8,57 + 2,55 X$	0,039 mg/l	0,13 mg/l
	$R^2 = 0,81$		
6 jours	$Y = 9,35 + 3,13 X$	0,04 mg/l	0,1 mg/l
	$R^2 = 0,89$		

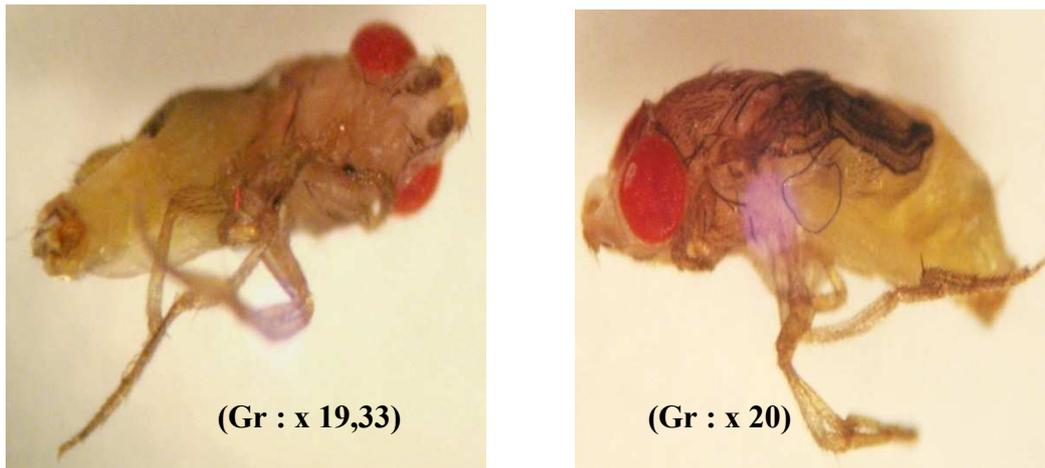


Figure. 19 : Effet de l'Azadiractine sur *D. melanogaster*

3.5. Comportement sexuel de *D. melanogaster* :

Grâce à la simplicité de son organisme et la durée de son cycle de vie, la drosophile se présente comme un organisme parfaitement approprié à l'étude du comportement sexuel.

3.5.1. Description des différentes séquences comportementales :

Les résultats des tests éthologiques effectués sur des femelles vierges et des mâles naïfs (isolés depuis leur émergence jusqu'au jour du test) ont permis d'observer une succession d'actions parfaitement déterminées et invariables que le mâle accomplit pour aboutir à la copulation. On a également constaté que les séquences de la parade sexuelle sont absolument indispensables pour que les drosophiles s'accouplent en effet l'absence ou l'avortement de l'une d'elles provoquerai l'échec de l'accouplement. Le déroulement de la parade sexuelle se fait en 5 phases bien distinctes depuis le moment de l'introduction des deux partenaires dans la boîte d'accouplement jusqu'à l'accomplissement. On a enregistré une phase d'orientation, suivie d'une phase d'attouchement, ensuite une phase de chant, une phase de léchage et enfin l'accouplement.

Dans la boîte de test, les deux partenaires se sentent rapidement en dépit de leur près-isolement. En premier lieu, le mâle s'oriente vers la femelle qu'il vient de repérer et commence à la courtiser, ensuite il établit le premier contact avec ses pattes antérieures, en réponse la femelle bouge de manière assez discrète (**Fig. 20, 21**).

Après le premier contact, le mâle ne cesse de tapoter la femelle, il la suit, lui tourne autour alors que la femelle ne fait que s'éloigner.

Alors que la femelle se déplace, le mâle la suit en faisant vibrer une de ses ailes déployées à la verticale de son corps produisant ainsi un chant de parade. C'est toujours le mâle qui effectue cette phase pendant quelques secondes et en la répétant plusieurs fois (**Fig. 22**).

Lorsque la femelle s'arrête, le mâle tourne en cercle autour d'elle et lui lèche son génitalia avec sa trompe (**Fig. 22**). Ce comportement se répète plusieurs fois également et ne dure que quelques secondes.

Dans le cas où la femelle est réceptive, elle ralentit son activité locomotrice alors que le mâle tente une copulation en incurvant son abdomen, c'est la première tentative d'accouplement. Si celle-ci échoue, le mâle la répète plusieurs fois (6 fois au maximum) (**Fig. 23**). Dans le cas où la femelle refuse complètement de s'accoupler, elle manifeste des signes de rejets, par conséquent le mâle cesse sa cour immédiatement. Le refus de la femelle se traduit généralement par son indifférence envers la parade effectuée par le mâle ainsi on observe un comportement de fuite et de refoulement de sa part, on remarque aussi dans certains cas qu'elle repousse agressivement le mâle.

Finalement, le mâle copule en tendant son abdomen et son génitalia vers celui de la femelle, si celle-ci est suffisamment stimulée par la parade, elle écarte ses plaques génitales au moment de l'accouplement (**Fig. 24**). Après 20 minutes environ les deux partenaires se séparent annonçant la fin de l'accouplement (**Fig. 25**).



Figure. 20 : Orientation

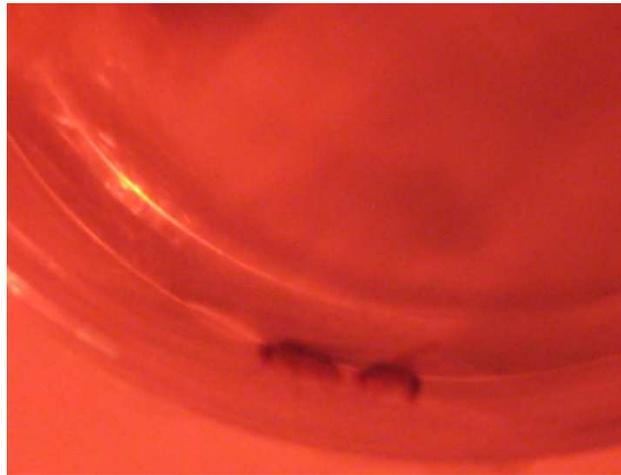
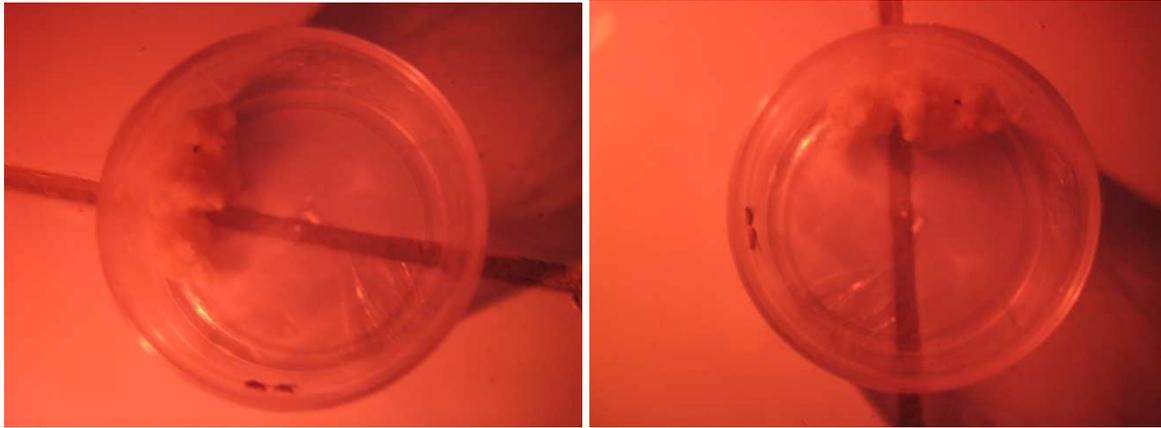


Figure. 21 : Attouchement



Figure. 22 : Vibration allaire et léchage



Figure. 23 : Tentative d'accouplement

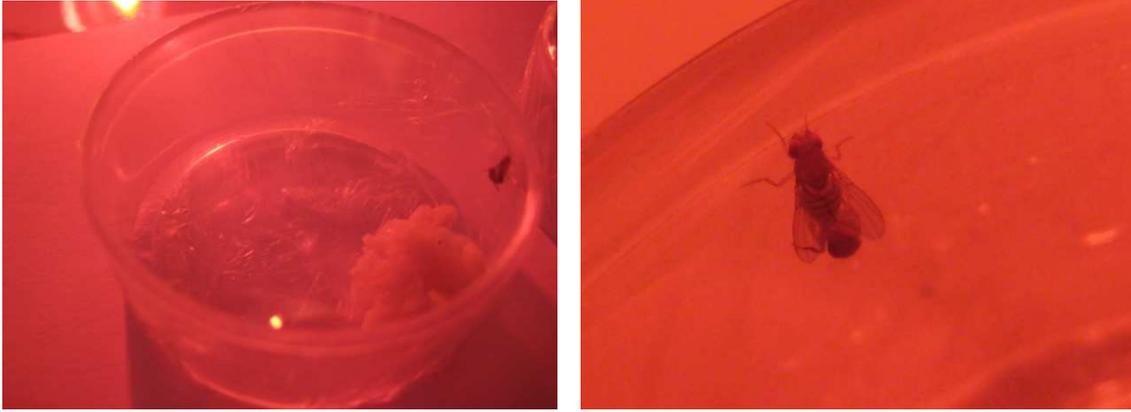


Figure. 24: Accouplement



Figure. 25 : Fin de l'accouplement

3.5.2. Durée des différentes séquences comportementales de *D. melanogaster* :

Sur les 10 accouplements réussis, nos résultats montrent que c'est toujours le mâle qui se dirige vers la femelle, ainsi on constate que le mâle peut repérer la femelle et s'orienter vers elle en moins de 10 secondes. Le mâle met en moyenne $22,2 \pm 8,98$ secondes pour un premier contact (**Tab. 10**), cependant l'enchaînement des attouchements avec ses pattes antérieures constitue une phase primordiale de la parade nuptiale. Le nombre de ces contacts varie entre 8 et 15 contacts avec une moyenne de $12,1 \pm 2,51$ (**Tab. 10**).

La femelle se déplace en réponse aux contacts émis par le mâle, mais ce dernier la suit. A ce moment il fait vibrer une de ses ailes en répétant cette action 12 fois au maximum pour que la femelle soit réceptive.

En effet, la femelle ralentit puis s'arrête, à ce moment le mâle lui lèche son génitalia avec une moyenne de $4,1 \pm 0,99$ et un maximum de répétition allant jusqu'à 6 fois.

Si la femelle est suffisamment stimulée, le mâle tente de copuler en tendant son abdomen et son génitalia vers celui de la femelle, ces tentatives durent en moyenne $1258,3 \pm 106,68$ secondes (**Tab. 10**).

Le nombre moyen de parade effectué par les mâles testés est de $2,6 \pm 1,58$ avec une durée moyenne $1236,1 \pm 103,747$ secondes (**Tab. 10**), alors que le temps moyen des accouplements réussis est de $1311 \pm 122,54$ secondes (**Tab. 10**).

Dès la fin de l'accouplement, les deux partenaires se séparent et chacun d'eux se dirige vers son compartiment ou vers la nourriture.

Tableau. 10: Séquences et durées du comportement sexuel de *D. melanogaster* (Accouplements réussis).

Séquences comportementales	m ± s (secondes)	Max	Min
Temps du 1 ^{er} contact	$22,2 \pm 8,98$	30	10
Nombre d'attouchement	$12,1 \pm 2,51$	15	8
Nombre de chant	$9 \pm 1,70$	12	7
Nombre de léchage	$4,1 \pm 0,99$	6	3
Tentative d'accouplement	$1258,3 \pm 106,68$	1388	1069
Nombre de parade	$2,6 \pm 1,58$	6	1
Temps de parade	$1236,1 \pm 103,75$	1358	1059
Temps d'accouplement	$1311 \pm 122,54$	1465	1117

(m ± s : moyenne ± écart type ; Max : Maximum ; Min : Minimum)

L'observation des différentes étapes de parades avortées résultants d'un autre échantillon de 10 couples de drosophiles, nous a permis de déterminer les comportements sexuels anormaux induits soit par la femelle ou le mâle, soit par les deux à la fois et ceux aux différents niveaux de la parade. Ainsi, cette étude nous a fournis plus de détails pour comprendre ce mécanisme complexe.

Notons, tout d'abord en ce qui concerne la première phase, un comportement inhabituel de deux femelles parmi les 10 étudiées. Elles s'orientent elles même vers leurs partenaires, sachant qu'en temps normal c'est toujours le mâle qui se dirige vers la femelle.

Marquons aussi les durées moyennes que prennent les mâles pour aboutir au 1^{er} contact en tapotant avec leurs pattes antérieures sur la cuticule des femelles, ces durées sont assez élevées soit $171,9 \pm 20,75$ secondes par rapport à celles enregistrées pour les accouplements réussis (**Tab. 11**), en effet il existe une différence significative indiquée par l'analyse statistique de ces moyennes avec $F= 383,14$ et $p= 0,0001$.

Le nombre moyen d'attouchement, de chant et celui de léchage sont respectivement $79,3 \pm 10,29$; $63,3 \pm 9,68$; $32,7 \pm 6,94$ (**Tab. 11**), ces nombres demeurent très élevés en comparaison avec ceux aboutissants à des accouplements réussis. L'analyse statistique de ces moyennes démontre qu'il existe une différence significative concernant ces trois séquences effectués par les mâles, avec $F= 323,69$ et $p= 0,0001$ pour les attouchements, aussi le résultat enregistré pour les chants alaires correspond à $F= 249,85$ et $p= 0,0001$, ainsi que celui du léchage avec $F= 142,56$ et $p= 0,0001$.

Le résultat enregistré selon le tableau 11 concernant la durée des tentatives avortées effectuées par les mâles affiche une moyenne de $2993,1 \pm 431,92$ secondes, cette durée dépasse le double comparée au temps moyen pris par les mâles ayant réussis cette phase en un temps relativement court.

Malgré un nombre de parade élevé où le mâle répète sans cesse les étapes de l'accouplement la femelle repousse constamment le mâle, cela nous a permis de constater qu'à l'issue de ces répétitions même affichant un maximum de 37 le résultat étant l'avortement de l'accouplement. A l'inverse, les résultats des accouplements réussis ont permis d'enregistrer deux mâles effectuant une seule parade sexuelle aboutissant à un accouplement et un autre mâle ne dépassant pas les 6 parades. En tenant compte de l'analyse statistique des moyennes ceci montre qu'il existe une différence significative avec $F= 158,47$ et $p= 0,0001$.

Chez ces couples où les accouplements ont été avortés pour une ou plusieurs raisons, on enregistre un temps moyen de parade de $2821,2 \pm 449,47$ secondes ce qui est très élevé parallèlement à la durée moyenne des parades aboutissants à des accouplements (**Tab. 11**).

En effet l'analyse statistique des moyennes confirme qu'il existe une différence significative avec $F= 127,41$ et $p= 0,0001$.

Tableau.11: Séquences et durées du comportement sexuel de *D. melanogaster* (Accouplements avortés)

Séquences comportementales	m ± s (secondes)	Max	Min
Temps du 1 ^{er} contact	171,9 ± 20,75	196	146
Nombre d'attouchement	79,3 ± 10,29	93	64
Nombre de chant	63,3 ± 9,68	77	50
Nombre de léchage	32,7 ± 6,94	37	25
Tentative d'accouplement	2993,1 ± 431,92	3462	2426
Nombre de parade	28 ± 6,49	37	16
Temps de parade	2821,2 ± 449,47	3296	2241

(m ± s : moyenne ± écart type ; Max : Maximum ; Min : Minimum)

3.5.3. Effet du Spinosad sur le comportement sexuel de *D. melanogaster* :

a. Description des séquences comportementales des drosophiles exposées au Spinosad

Les résultats obtenus sur le comportement sexuel des mouches traitées au Spinosad à la dose sub-létale de 2,5mg/l indiquent un changement de comportement de la part des femelles, des mâles ou les deux à la fois selon le type de croisement effectué. Toutes ces drosophiles affectées par l'insecticide induisent dans presque tous les tests réalisés des séquences comportementales inachevées résultants des accouplements avortés.

Le croisement de deux individus traités selon le croisement CRS 1 (Mâle Traité X Femelle Traitée) démontre l'existence d'un seul test réussi sur les 10 effectués avec un temps d'accouplement de 1740 secondes. L'échec des croisements se traduit par un déplacement très lent des deux partenaires et dans certains cas par l'immobilité ou la fuite des femelles car celles-ci refusent de s'accoupler soit par le refus des mâles exprimant cela par une indifférence envers le comportement des femelles.

Dans le deuxième cas lorsqu'on croise des mâles traités avec des femelles saines (CRS 2) on remarque l'avortement des 10 tests réalisés, cela représente la réponse de plusieurs comportements inhabituels. Sur les 10 croisements testés, on observe 9 femelles qui s'orientent vers les mâles alors que les partenaires du dixième couple sont restés séparés

durant tout le croisement, signalons aussi la mort du partenaire mâle 600 secondes après la fin du test. On note également les principaux comportements pré-copulatoires enregistrés chez les mâles se résumant aux attouchements car ces derniers présentent des déformations morphologiques surtout au niveau des ailes ce qui rendent l'extension et la vibration alaire impossible, ainsi les mâles s'immobilisent ou traînent leurs ailes et poursuivent les femelles difficilement mais ces dernières s'éloignent rapidement.

Les résultats d'un croisement entre des mâles sains et des femelles traitées selon CRS 3 montrent également un échec total des 10 tests de croisements réalisés. Les femelles traitées refusent de s'accoupler car elles ne sont pas réceptives au chant alaire produit par les mâles sains, dans d'autres cas des femelles non stimulées par les attouchements, le léchage, et même les tentatives d'accouplement. Notons aussi le comportement inhabituel des mâles dans leur orientation et poursuite des femelles car ils prennent plus de temps pour reconnaître leurs partenaires traitées.

b. Durées des différentes séquences comportementales des drosophiles exposées au Spinosad

Les résultats affichés dans le tableau 12, représentent des variations de moyenne des différentes étapes du comportement sexuel de *D. melanogaster* traitée au Spinosad selon 3 types de tests comportementaux (CRS 1, CRS 2 et CRS 3), ainsi les femelles non stimulées par les parades des mâles induisent un seul accouplement réussi sur les 30 testés.

Le temps moyen affiché par les mâles qu'ils soient sains ou traités pour aboutir au premier contact des femelles saines ou traitées (CRS 1, CRS 2 et CRS 3) est très lent allant jusqu'à $852 \pm 349,62$ secondes avec un maximum de 1200 secondes enregistré dans le CRS 2 comparé à seulement $22,2 \pm 8,98$ secondes lorsqu'on croise des individus sains entre eux.

De plus, dans les tests effectués entre individus traités (CRS 1), on note le temps moyen de parade de $223,4 \pm 374,11$ secondes ce qui est minime pour réaliser des parades nuptiales aboutissant à des accouplements réussis. Quant au temps moyen de parade $628,8 \pm 837,20$ secondes enregistré par les mâles sains croisés à des femelles traitées (CRS 3) est aussi insuffisant comparé à celui affiché par le croisement des mouches saines entre elles ($1236,1 \pm 103,75$ secondes). Comme le montre le tableau 12, le nombre moyen d'attouchement diffère selon le sujet traité, en effet $3,3 \pm 2,49$ de contact enregistré dans le CRS 2 (Mâle Traité X Femelle Saine) est très infime pour qu'un accouplement se réalise.

On note aussi dans le cas où les mâles sont traités au Spinosad, aucun chant alaire alors que dans le cas où les deux partenaires sont traités (CRS 1), le nombre de chant moyen est de $52,8 \pm 59,8$ avec un maximum de 163 chants ce qui est énorme comparé à celui émis par des mâles sains vis-à-vis des femelles saines, en effet ces dernières sont plus réceptives.

Tableau.12: Durées et différentes séquences comportementales de *D. melanogaster* traitée par le Spinosad (Dose : 2,5 mg/l, n=10 pour chaque croisement).

Type de croisement / Séquences comportementales	CRS 1			CRS 2			CRS 3		
	m ± s	Max	Min	m ± s	Max	Min	m ± s	Max	Min
Temps du 1 ^{er} contact (Secondes)	360,2 ± 358,43	960	60	852 ± 349,62	1200	0	149 ± 348,59	1140	10
Nombre d'attouchement	41,3 ± 33,63	90	1	3,3 ± 2,49	8	0	33 ± 27,75	69	1
Nombre de chant	52,8 ± 59,8	163	0	0	0	0	38,4 ± 39,62	97	0
Nombre de léchage	2,3 ± 5,25	17	0	0,7 ± 1,05	3	0	7 ± 9,55	25	0
Tentative d'accouplement	456,5 ± 501,19	1146	0	0	0	0	644,8 ± 854,59	1991	0
Nombre de parade	1,4 ± 2,5	8	0	0	0	0	1,2 ± 2,82	9	0
Temps de parade (Secondes)	223,4 ± 374,11	974	0	0	0	0	628,8 ± 837,20	1981	0
Temps d'accouplement (Secondes)	320,6 ± 591,49	1740	0	0	0	0	0	0	0

(m ± s : moyenne ± écart type ; Max : Maximum ; Min : Minimum)

On définit les différents types de croisements réalisés entre les drosophiles exposées au Spinosad sont présentés :

CRS 1 : Mâle Traité X Femelle Traitée.

CRS 2 : Mâle Traité X Femelle Saine.

CRS 3 : Mâle Sain X Femelle Traité.

3.5.4. Effet de l'Azadiractine sur le comportement sexuel de *D. melanogaster* :

a. Description des séquences comportementales des drosophiles exposées à l'Azadiractine :

L'observation des 20 tests comportementaux effectués sur des mouches traitées à l'Azadiractine à la dose de 0,05 mg/l, montre des changements de comportement soit dans le premier croisement dans lequel les mâles sont traités (CRA 1) soit dans le second où des mâles sains sont croisés avec des femelles traitées.

L'étude du croisement entre des mâles traités et des femelles saines (CRA 1) montre que celles-ci s'orientent et poursuivent leurs partenaires traités dans 5 croisements effectués, en réponse les mâles s'éloignent et laissent toujours une certaine distance entre les femelles. On remarque également la présence d'une malformation morphologique au niveau des ailes qui laisse le mâle immobile. Tous ces comportements inhabituels induisent 9 accouplements avortés sur les 10 testés.

Dans le second croisement, on note que les mâles sains reconnaissent, s'orientent et procèdent à des tentatives d'accouplement avec les femelles traitées dans 9 accouplements testés mais sans aboutir à des accouplements réussis.

b. Durées des différentes séquences comportementales des drosophiles exposées à l'Azadiractine

A l'issue des tests effectués sur le comportement des drosophiles exposées à l'Azadiractine 0,05 mg/l selon le CRA 1 ou CRA 2, on note des séquences pré-copulatoires différentes de celles observées habituellement.

On note, des drosophiles ayant un temps d'accouplement allant de 582 secondes jusqu'à 996 secondes dans 7 croisements réalisés entre les mâles sains et les femelles traitées (CRA 2), ces accouplements qui affichent des durées inférieures à 1200 secondes seront considérés comme avortés. Donc on n'enregistre aucun accouplement sur les 10 testés lorsque les femelles sont traitées.

Les résultats obtenus ont permis aussi d'enregistrer un seul accouplement réussi dans le croisement entre les mâles traités et les femelles saines (CRA 1) et 6 croisements avortés ainsi que 3 parades aboutissant à des accouplements considérés comme non réussis car le temps maximal d'accouplement enregistré est de 943 secondes ce qui est insuffisant comparé par celui réalisé par le croisement de mouches saines.

Les résultats affichés dans le tableau 13, nous ont permis de mettre en évidence la répulsion des femelles envers les tentatives d'attouchements des mâles car on note la moyenne de $151 \pm 97,34$ secondes dans le croisement effectué entre des mâles traités et des femelles saines (CRA 1) avec un maximum de 300 secondes et un minimum d'aucun attouchement ; on enregistre également dans le second type de croisement (CRA 2) lorsque les femelles sont traitées, le temps maximal pour qu'un mâle reconnaisse une femelle traitée et effectue le premier contact dans 172 secondes ce qui est estimé très élevé comparé au croisement d'individus sains. En remarque aussi que les temps moyens de parade enregistrés dans les deux types de croisement réalisés sont insuffisants pour que les accouplements se réalisent.

Si on croise des mâles sains avec des femelles traitées (CRA 2) on note le nombre moyen de chant de $39,8 \pm 15,54$ et un minimum de 23 ce qui démontre des femelles non réceptives au chant émis par les mâles; En outre, lorsqu'on croise des mâles traités avec des femelles saines (CRA 1) et malgré les essais de chants établis par les mâles avec un maximum de 41 vibrations, les femelles ne démontrent aucune réceptivité envers eux.

Tableau.13: Durées et différentes séquences comportementales de *D. melanogaster* traitée par l'Azadiractine (Dose : 0,05 mg/l, n=10 pour chaque croisement).

Type de croisement Séquences comportementales	CRA 1			CRA 2		
	m ± s	Max	Min	m ± s	Max	Min
Temps du 1 ^{er} contact (Secondes)	151 ± 97,34	300	0	28,1 ± 50,71	172	5
Nombre d'attouchement	11,5 ± 11,69	35	0	36,6 ± 16,71	66	15
Nombre de chant	11,7 ± 13,51	41	0	39,8 ± 15,54	67	23
Nombre de léchage	9,4 ± 9,62	23	0	22,3 ± 11,33	35	0
Tentative d'accouplement	461,5 ± 395,27	907	0	1026,5 ± 693,39	2328	0
Nombre de parade	2,3 ± 2,83	9	0	5,1 ± 3,38	12	0
Temps de parade (Secondes)	358,5 ± 310,78	787	0	999,9 ± 691,88	2318	0
Temps d'accouplement (Secondes)	389,3 ± 528,16	1380	0	591,2 ± 422,04	996	0

(m ± s : moyenne ± écart type ; Max : Maximum ; Min : Minimum)

On indique les deux types de croisements effectués entre les mouches traitées à l'Azadiractine selon:

CRA 1 : Mâle Traité X Femelle Saine.

CRA 2 : Mâle Sain X Femelle Traitée.

4. Discussion

4.1. Etude systématique

Chercher la parenté, c'est chercher le groupe frère et non l'ancêtre. Il s'agit de chercher, pour une espèce donnée, le groupe avec lequel elle partage un ancêtre exclusif, c'est-à-dire qu'elle ne partage avec aucun autre groupe de l'échantillon (**Lecointre & Le Guyader, 2001**).

En effet, la science des classifications, la systématique, dont sa première tâche est l'identification, la description, l'inventaire des êtres vivants dans la nature présente et passé, la seconde est leur classification, qui permet de rendre intelligible leur immense diversité. Les espèces se classeront alors sur les bases de données structurales comparées (**Lecointre & Le Guyader, 2001**).

De ce fait, on peut se baser sur des caractères observables d'un organisme pour aboutir à l'inventorier mais pour cela il faut que les caractères soient comparables et comparés. Donc un caractère doit être une structure identifiée comme similaire dans deux ou plusieurs organismes (**Lecointre & Le Guyader, 2001**) et pouvant être prélevés d'une ou de plusieurs populations distinctes.

Un des buts de la taxonomie est évidemment de produire des outils qui permettent la reconnaissance des espèces, en l'occurrence des clefs d'identifications séquentielles qui sont le plus souvent dichotomiques (**Alarie, 1990**).

Ce type de classification est efficace, en effet cette technique a fait l'objet d'un certain nombre de travaux ayant pour but d'identifier et de classer les différentes espèces, comme a démontré plusieurs études et notamment celle étalée par **Aouati (2009)** en s'appuyant sur trois clés de déterminations celle de (**Himmi et al., 1995**), de (**Amy E. Snell, 2005**) et d'un logiciel d'identification (Moustique d'Europe) (**Shaffner et al., 2001**), car elle a pu étudier la composition du peuplement culicidien révélant l'existence de six genres (*Aedes*, *Culex*, *Culiseta*, *Orthopodomyia*, *Anophèles*, *ochlérotatus*) et de 15 espèces appartenant à ces six genres dont quelques une inféodés exclusivement au subéraies de Brabtia et d'El Mellah. Egalement, les travaux s'appuyant sur l'appartenance du genre *Aedes* aux espèces forestières comme ceux exposés par **Bendali (2006)** qui a signalé la présence d'*Aedès aegypti* dans le lac Oubeira au niveau de la région d'El Kala.

En outre, une deuxième technique très utilisée ces dernières années, elle repose sur l'analyse des hydrocarbures cuticulaires. Car la spécificité des profils cuticulaires constitue la seule signature chimique chez de nombreux groupes d'insectes de différents ordres (**Blomquist et al., 2005 ; Said et al., 2005**).

Dans cette optique, de nombreux travaux ont pu montrer l'existence de variations qualitatives et quantitatives dans les analyses cuticulaires sous l'influence de l'âge, du sexe et des conditions écologiques (**Trengenz et al., 2000 ; Horne & Priestman, 2002 ; Everaerts et al., 1997**).

Notre présente étude a porté sur une autre technique d'identification s'appuyant sur des croisements menés entre la souche sauvage de drosophile d'Annaba ; celle de Dijon et le type Canton-S qui est maintenue au laboratoire de Dijon depuis 1998, et est désigné comme référence pour cette étude, ces deux dernières souches de mouches appartiennent à l'espèce *D. melanogaster*.

Outre que l'aspect morphologique établi sur les trois souches de drosophiles qui nous a permis d'observer une très forte similitude, les résultats obtenus sur les différents croisements effectués ont permis de mettre en évidence l'identification de la souche d'Annaba comme étant l'espèce *D. melanogaster*.

On peut définir l'espèce comme étant un groupe d'individus du même genre ayant entre eux des caractères génétiques communs, pouvant se reproduire entre eux pour donner une descendance qui leur ressemble et qui est fertile.

En effet, les résultats de notre étude ont révélés une très forte interfécondité dans les 24 croisements effectués avec les différentes dispositions, soit dans le cas de croisement entre souches Annaba et Dijon soit dans le second où on a croisé les mouches d'Annaba et celle de Canton-S. Cependant, ce n'est pas toujours le cas comme la révélée une étude sur les croisements entre espèces qui ne sont pas observables dans la nature car non seulement elles sont séparées sur le plan de parenté mais aussi géographiquement (**I.N.A.P.G, 1997**).

Une autre étude plus détaillée représentant un exemple caractéristique d'espèces jumelles, a été réalisée sur le couple *D. melanogaster* - *Drosophila simulans*, qui présentent une absence d'interfécondité en dépit d'une très forte ressemblance morphologique (**I.N.A.P.G, 1997**).

Cette inappétence sexuelle est due à des différences comportementales qui sont liées à des particularités du chant des mâles en relation avec des spécificités des phéromones épicuticulaires des femelles. Car ces phéromones sont désignées comme signaux de reconnaissances intra et inter espèces (Clément *et al.*, 1987 ; Espelie *et al.*, 1994 ; Everaerts *et al.*, 1997).

D'autres travaux plus récents ont permis d'indiquer que les phéromones majoritaires des femelles sont surtout efficaces pour empêcher la parade des mâles d'autres espèces (Savarit *et al.*, 1999).

Un autre couple d'espèces jumelles *D. persimilis* - *D. pseudo-obscura* a fait aussi l'objet d'étude plus fines par Dobzhansky et Epling en 1944 sur le critère d'isolement reproductif qui relève d'une part de mécanismes prézygotiques (croisement préférentiellement intraspécifiques), et d'autre part de mécanismes postzygotiques (faible valeur sélective des zygotes F2) bien que ces deux espèces sont caractérisées par une très vive ressemblance morphologique (I.N.A.P.G, 1997).

En outre, l'existence d'autres divergences, et plus particulièrement, la maturité sexuelle est acquise plus tardivement chez *D. persimilis* (48h, contre 36h chez *D. pseudo-obscura*), aussi la période et l'intensité dans le chant alaire des mâles sont différentes entre les deux espèces, de plus les niches écologiques sont distinctes, *D. pseudo-obscura* vivant en plus basse altitude (I.N.A.P.G, 1997).

Le second volet de cette étude porte sur la comparaison des fréquences des hybrides observées. D'après les résultats, on constate presque le même succès dans la fréquence des individus F1 sur les quatre différentes dispositions de croisements effectués. En effet, si on croise des souches Annaba avec Dijon ou des souches Annaba avec Canton-S, on obtient un intervalle de nombre moyen de mouches convenable. On a également, observé une homologie secondaire c'est-à-dire l'homologie de descendance ainsi que leurs fécondités.

A l'inverse, des résultats d'étude plus avancée qui ont révélé que des mâles *D. melanogaster* s'accouplent parfois avec des femelles *D. simulans* mais avec des hybrides F1 appartiennent préférentiellement à un seul sexe selon le sens du croisement (mortalité hybride), ou bien les hybrides F1 sont stériles.

De même pour le couple *D. persimilis* - *D. pseudo-obscura* selon les différents sens de croisement, où les résultats ont démontrés que les mâles F1 sont stériles ; alors que, les femelles F1 sont fertiles mais donnant des zygotes F2 souvent non viables par un croisement avec un mâle parent des deux espèces (dépression hybride) (**I.N.A.P.G, 1997**).

Toutes ces approches scientifiques sur l'identification des espèces et la reconnaissance chimique du partenaire pour expliquer mieux l'évolution des différentes espèces de drosophiles.

4.2. Etude du cycle de développement de *D. melanogaster* :

Bien que la croissance soit définie comme un phénomène purement quantitatif qui est le résultat de deux actions conjuguées, multiplication et croissance cellulaires. Elle est cependant le moteur essentiel du développement, car c'est la croissance différentielle des régions du corps qui progressivement modèle la morphologie et l'anatomie de l'animal. Aussi, on définit le développement comme un phénomène à dominante qualitative, d'évolution morphologique et anatomique qui induit un adulte capable de se reproduire (**Salgueiro & Reys, 2002**).

On conçoit donc la difficulté qui existe pour séparer croissance et développement puisque ces deux phénomènes sont intimement liés au cours de l'évolution qui conduit de l'œuf à l'adulte.

Comme chez les autres arthropodes, le développement post-embryonnaire des insectes est discontinu et ponctué par un certain nombre de mues. Le corps de ces insectes est recouvert d'une cuticule formant un exosquelette, avec des parties rigides (maintien du corps, défense...) et des parties souples (zones articulées) ; cette enveloppe rigide limite la croissance et doit donc être renouvelée périodiquement par des mues.

Chez la drosophile, la larve juvénile, asticot en grandissant subit une série de mues (**Slack, 2004**). A chaque mue, les cellules épidermiques se séparent de la cuticule et sécrètent un « liquide de mue » dans l'espace intermédiaire. Quand les cellules épidermiques ont sécrété une nouvelle cuticule, elles dégradent l'ancienne en activant des enzymes dans le liquide de mue (**Hepburn, 1985**). Ainsi à chaque stade larvaire, une nouvelle cuticule est synthétisée semblable à l'ancienne, mais plus grande, ce qui permet la croissance de l'insecte.

L'embryogenèse dure 24 h (**Colombani et al., 2006**), La vie larvaire de la drosophile comprend trois stades larvaires marquée par deux mues successives (**Heusser & Dupuy,**

2004 ; Slack, 2004). Les larves du premier stade éclosent au bout de 22 à 24 h et commencent immédiatement à se nourrir en surface du substrat pendant 24 h, ensuite, elles passent au second stade larvaire en creusant le substrat durant 24h. Pour croître, la larve continue à s'enfouir dans le substrat, marquant ainsi le troisième stade larvaire, ces larves modifient ainsi le Ph et la composition de la microflore du milieu. Cette phase d'ingestion dure 110 heures après éclosion, durant ce temps les larves s'alimentent sans interruption et la majorité de leurs cellules (corps gras, glandes salivaires...) augmentent de taille et deviennent polyploïdes ; en revanche, les cellules des disques imaginaux demeurent diploïdes et vont subir des mitoses.

Au troisième stade larvaire, la larve s'arrête de se nourrir qu'après 120 heures environ, elle se déplace vers un milieu plus sec et s'immobilise sur un site favorable de la paroi du tube d'élevage; c'est à ce moment que sa cuticule se modifie, elle se raccourcit, se durcit et devient brunâtre constituant le puparium. Ainsi, après le dernier stade larvaire, la larve se détache et subit une mue qui libère une prépupe, ne possédant plus aucune structure reconnaissable. Puis cette dernière donne naissance à la puppe dans laquelle on reconnaît progressivement les structures imaginaires, celle-ci ne se nourrit pas et son énergie doit provenir des aliments ingérés au stade de la larve (**Goudey-Perrière & Perrière, 1974**).

Le développement de la larve de drosophile constitue un excellent modèle d'étude de la croissance (**Colombani et al., 2004**). Au laboratoire, les manipulations visant le développement larvaire révèle que la taille des différentes larves de *D. melanogaster* augmente en fonction de ces stades. Ces asticots blanchâtres recensés d'environ 1 mm de long au premier stade larvaire, évoluent pour atteindre 2 à 2,8 mm de long au second stade ; ainsi leur taille continue à augmenter dépassant 3 mm de long et allant jusqu'à 5 mm pour le troisième stade larvaire (**Joly, 2006**).

Alors que la métamorphose des amphibiens est caractérisée par le remodelage de tissus existants, la métamorphose des insectes s'accompagne souvent de la destruction des tissus larvaires et de leur remplacement par une population de cellules entièrement différentes.

Chez la drosophile, comme chez la plupart des insectes holométaboles, la taille de l'adulte ne varie pas et est déterminée par une période de croissance spectaculaire qui prend place au cours des stades larvaires (**Colombani et al., 2004**). C'est dans la cuticule de la puppe qu'a lieu une transformation soudaine et spectaculaire entre le stade de la larve et celui de l'adulte, ainsi la plus grande partie du corps de la larve est systématiquement détruite au fur et à mesure que de nouveaux organes se développent à partir d'amas de cellules indifférenciées,

les disques imaginaux (**Heusser & Dupuy, 2004**). En effet, la plus grande partie du corps adulte est formée à partir des disques imaginaux et des histoblastes abdominaux qui sont présents en bourgeons indifférenciés dans la larve (**Slack, 2004**).

Quand l'organisme adulte « imago » est formé, la mue imaginale provoque l'élimination de la cuticule de la puppe et l'insecte mature apparaît après 4 à 4,5 jours. Les mouches adultes émergent de l'enveloppe nymphale sans ailes car les expansions alaires apparaissent environ 1 heure après ; de plus, leur abdomen est long, fin et sans pigmentation car le corps de ces moucherons se pigmente après 2 à 3 heures.

Dans notre étude effectuée sur les croisements entre individus de la même souche de drosophiles récupérées à Annaba et dont le suivi du cycle vital a duré 18 jours à partir de la mise en culture, on remarque que la femelle commence à pondre à partir du 4^{ème} jour et cette ponte dure 5 à 7 jours à partir d'une unique insémination. Les individus sont matures sexuellement 12 à 14 heures après l'émergence. Les femelles, alors réceptives aux mâles sont fécondées et peuvent stocker le sperme d'une seule insémination au niveau d'un réceptacle ventral et de la spermathèque, et peuvent ainsi pondre pendant plusieurs jours (**I.N.A.P.G, 1997**).

Le développement de la drosophile est très rapide par rapport à la plupart des autres insectes (**Slack, 2004**). Tout le cycle, de l'œuf à l'insecte parfait, en passant par la larve et la puppe, ne dure qu'une quinzaine de jours à 25°C, le cycle prend deux fois plus de temps à 18°C (**Tags, 2007**). Au niveau de notre laboratoire, le cycle de vie de *D. melanogaster* est de 14,67 jours, cependant il n'y a pas une grande différence comparée aux durées du développement enregistrées allant jusqu'à 13,17 jours dans les croisements effectués entre souches de Annaba, de Dijon, et celle de Canton-S. Des études menées sur la comparaison des cycles biologiques de *D. melanogaster* et de *D. bifurca*, l'espèce aux spermatozoïdes géants, démontrent les différences de durées entre chaque stade biologique ; le cycle complet est de 14 jours pour *D. melanogaster* et 66 jours pour *D. bifurca* à 21°C dans leurs conditions de laboratoire (**Joly et al., 2003**).

Sa prolificité est remarquable, une femelle peut pondre quelques centaines d'œufs allongés et blanchâtres d'une longueur de 0,5 mm, difficiles à voir à l'œil nu (**Tavernier & Lizeaux, 2002 ; Joly, 2006 ; DDEP, 2008**). Elle les dépose sur des fruits ou d'autres matières humides en train de fermenter, chaque œuf porte deux courts tubes respiratoires qui émergent du liquide où il a été pondu (**DDEP, 2008**).

La fécondation chez *D. melanogaster* permet aussi des changements d'importance majeure sur la drosophile femelle. Car les protéines du liquide séminal influencent plusieurs composantes de la physiologie et du comportement de la femelle, soit le taux de ré-accouplement, l'ovulation, l'oviposition et l'utilisation de sperme (**Tavernier & Lizeaux, 2002**).

Au laboratoire, le potentiel reproducteur des femelles étudiées est faible dans les croisements effectués entre différentes souches ou ceux réalisés entre les individus de la souche d'Annaba, on remarque aussi que le nombre de femelles issues des différents croisements est toujours plus élevé que celui des mâles. On peut déduire que l'intensité de la production ovarienne ne dépend pas uniquement de l'accouplement, probablement, d'autres facteurs peuvent avoir une importance parfois déterminante, chacun d'entre eux représente un stimuli capable de moduler le potentiel reproducteur de ces insectes de manière irréversible et ainsi provoquer une influence capitale sur la ponte des œufs. C'est le cas par exemple de la nutrition de la femelle, le milieu de ponte, la température, la lumière, la densité de population. D'autre part, on a enregistré également une forte mortalité de pupes peut être due à la qualité et la composition du milieu nutritif fourni.

Si le substrat est jugé inadéquat par la mouche, elle peut conserver ses œufs intra-utéro jusqu'à trouver une zone de ponte plus propice. Dès lors, le développement post-embryonnaire commence dans l'utérus.

Le choix des sites d'alimentation et d'oviposition dépend aussi de l'espèce. Certains sont capables d'utiliser une gamme de ressources assez larges ; d'autres sont inféodées à une espèce voire même un organe du végétal (*Drosophila albolaris* pond sur le chapeau de champignons, *Drosophila trivittata* pond surtout sur les lamelles de champignons) (**I.N.A.P.G, 1997**).

Dans la nature, la drosophile utilise sa plante-hôte selon ces besoins. Il s'agit tout d'abord de manger et se reproduire et ensuite de pondre toujours sur sa plante-hôte et laisser finalement les larves se développer, elles prendront ensuite leur envol pour recommencer le cycle de la vie.

Le choix de sa plante hôte peut être génétique mais l'environnement peut jouer un rôle important. Par exemple, le temps de développement de la larve de *Drosophila mojavensis* varie selon le cactus sur lequel elle se trouve. Elles étaient initialement présentes à Baja

California, sur les cactus *Stenocereus gummosus*, puis une partie de la population a migré à Sonora. Là, les nouvelles arrivantes ont colonisé les cactus *Stenocereus thurberi* qui se décomposent plus lentement. Cela permet aux larves de se développer moins rapidement (Etges, 1993).

Diverses expériences ont montré que les températures élevées affectent le fonctionnement génital des mâles de drosophiles (David *et al.*, 1971), ainsi que celui des femelles. Le seuil thermique à partir duquel le phénomène de stérilité totale de l'élevage est observé, dépend pour une même espèce, des souches utilisées (Laugé & Masner, 1974). Chez *D. melanogaster* Meigen (1830), il correspond à 29°, 30° ou 31°C selon la souche, ces températures sont aussi défavorables pour un développement post-embryonnaire normal (Laugé & Masner, 1974 ; Provancher & Huard, 2007).

4.3. Le traitement :

Appartenant à l'embranchement des Arthropodes ; les insectes jouent des rôles épidémiologiques variés, ce qui fait d'eux un problème majeur de santé publique (Berge, 1975 ; Jolivet, 1980). Car, ils peuvent être considéré comme simple nuisance, ou comme hôtes d'agents pathogènes, mais surtout comme vecteurs de maladies infectieuses pour l'Homme et les animaux (Dumon & Faugere, 1995). C'est dans ce cadre que l'étude de ces insectes, a pris un intérêt de premier ordre dans le domaine de la recherche scientifique (Senevet & Andarelli, 1956).

Alors que, les Culicidae sont, sans doute les plus connus et les plus redoutés tant pour le désagrément causé par leurs piqûres que par les maladies parasitaires qu'ils peuvent inoculer pendant leur repas sanguin. Les drosophiles, parce qu'elles se reproduisent très rapidement, sont considérées comme une nuisance dans les habitations et les commerces.

Il suffit d'une petite quantité de nourriture pour qu'une colonie se forme et prolifère. Les adultes sont plutôt attirés par des fruits ou des légumes endommagés qui en sont à un stade initial de fermentation. La femelle, qui transporte souvent des spores, les dépose avec ses œufs et favorise ainsi le processus de fermentation et le développement des levures dont se nourrissent les larves. Ces dernières, se développent sur divers matériaux sucrés ou fermentés, habituellement d'origine végétale, c'est pourquoi elles représentent l'un des vecteurs du *botrytis cinerea*, responsable de la pourriture grise qui s'attaque non seulement aux cultures maraîchères et fruitières mais aussi aux cultures de céréales ou de tournesol.

L'écotoxicologie s'est développée au début des années 1960 quand se sont manifestés les effets de contamination de l'environnement par des produits polluants d'origine industrielle ou agricole (**Ramade, 1992**), notamment les insecticides chimiques conventionnels (**Cardinal, 1979**), tels que les organochlorés, les organophosphorés et les méthyle carbamates (**Reierson et al., 1983 ; Appel, 1990 ; Garfield, 1990 ; Reid et al., 1990**). Cependant, les effets secondaires de ces insecticides conventionnels et les impératifs environnementaux ont poussé l'industrie phytosanitaire à développer des molécules plus sélectives de grande stabilité métabolique et environnementale (**Dhadialla et al., 1998 ; Casida & Quistad, 1998**).

Le développement du phénomène de résistance aux insecticides suscite de plus en plus l'intérêt des scientifiques en vue du contrôle des divers insectes nuisibles (**Anspaugh, 1994 ; Siegfried & Scharf, 2001 ; Gormen et al., 2002 ; Kristensen & Jespersen, 2003 ; Magoc et al., 2005**). En effet, l'objectif des insecticides utilisés est de réduire les infestations des insectes en dessous des niveaux de nuisibilité (**Dent, 1991**). Mais, leur emploi a provoqué à long terme l'apparition de souches de plus en plus résistantes (**Georghiou & Lagunes-Tejeda, 1991**). Plus de 500 espèces d'Arthropodes sont maintenant résistantes à au moins, un insecticide ou acaricide (**Soderlund, 1997**).

Les adultes de *D. melanogaster*, comme ceux des autres espèces de drosophiles, ne représentent généralement aucun danger pour les humains. Elles ne mordent pas et ne piquent pas ; et en plus de la contribution et l'accélération du processus de décomposition des végétaux, cette petite mouche sert de nourriture à plusieurs animaux insectivores. Cependant, leurs larves peuvent causer une irritation intestinale ou une diarrhée si on les avale par mégarde, en mangeant des fruits infestés par exemple.

Comme d'autres mouches qui vivent à la fois sur des déchets ou des excréments et sur des aliments destinés aux humains, les drosophiles peuvent, à l'occasion, propager des microorganismes causant des maladies en les transportant sur leurs pattes ou leurs pièces buccales. On rapporte par exemple une forme de diarrhée assez commune chez les travailleurs des vignobles qui serait due à la contamination des raisins par la drosophile. *Drosophila repleta*, une proche parente de l'espèce trouvée dans nos maisons, se reproduit dans les excréments humains et peut causer des infections.

Il est donc préférable de se débarrasser de ces petits diptères et faire face à ce type de nuisance ; le seul moyen est le recours à la lutte contre les drosophiles par plusieurs méthodes : méthode chimique faisant appel à des analogues synthétiques d'hormones d'insectes (hormone juvénile, ecdysone) qui perturbent l'éclosion des œufs, méthodes génétiques dont la plus connue est la stérilisation des mâles, les méthodes écologiques consistent à rendre le milieu défavorable au développement de l'insecte, mais la lutte biologique reste la plus sûre et la plus sélective.

Parmi cette gamme d'insecticide naturels les plus couramment utilisés, figure le Spinosad, l'Azadiractine, le *Bacillus thuringiensis* (*Bti*) et le *Bacillus sphaericus* (*Bsp*), présentant chacun des mécanismes d'actions singulier et faisant l'objet d'un certain nombre de travaux, comme ceux de **(Tomlin, 2000)** qui stipulent que le *Bacillus thuringiensis* est considéré comme larvicide de référence pour les opérations de lutte contre les moustiques, ceux de **De Barjac (1978)** sur l'effet du *Bacillus thuringiensis* et ceux de **(Bendali, 2006)** qui ont porté sur l'effet de *Bacillus thuringiensis israelensis* sérotype H14 et le *Bacillus sphaericus* 1593 à l'égard des larves de *Culex pipiens*.

Concernant notre étude sur la lutte contre les drosophiles, trois de ces insecticides ont fait l'objet de cette étude à savoir, les Saponines, le Spinosad et l'Azadiractine.

Nos résultats concernant l'effet des saponines sur les larves du stade L3 de l'espèce *D. melanogaster*, ne révèlent aucun effet sur le cycle vital et aucune sensibilité larvicide qui est traduite par un nombre de mue élevé malgré leur exposition à une dose élevée de saponine (1 g/l). Cependant, on enregistre un effet mortalité à l'issue de la mue imaginale seulement, car il résulte un nombre assez faible d'adultes, peut être que l'action de la saponine s'observe à long terme. De même, l'exposition des larves de stade L4 de l'espèce *Culex pipiens* envers cet insecticide aux doses (1 g/l, 100 mg/l, 50 mg/l, 10 mg/l), ne révèle aucune sensibilité comme l'indique l'étude toxicologique de **(Aouati, 2009)**.

Le Spinosad a montré une bonne activité larvicide sur l'espèce *D. melanogaster*, traduite par des taux de mortalité élevé pour les 3 doses utilisées, l'activité insecticide du Spinosad est progressive puisque nous enregistrons une augmentation de la mortalité au fur et à mesure qu'on avance dans le temps d'exposition pour atteindre un taux de mortalité maximale de 100% pour les doses les plus élevés (5 mg/l et 10 mg/l), ceci traduit une

mortalité corrélée aux doses utilisées et au temps d'exposition. Les résultats indiquent également des DL50= 2,51 mg/l et DL90= 4,17 mg/l après le 7^{ème} jour.

D'après **Darriet et al (2005a)** les études en laboratoire réalisées avec la substance active ont montré une bonne activité sur les larves de moustiques, aussi bien sur les souches sensibles aux insecticides d'*Aedes aegypti*, d'*Anopheles gambiae* et de *Culex quinquefasciatus* que celles résistantes aux organophosphorés, aux carbamates et aux pyréthriinoïdes.

A la suite d'une étude de traitement toxicologique réalisée avec cet insecticide aux doses (5 mg/l, 2,5 mg/l, 1 mg/l) sur les larves de moustiques de 4^{ème} stade, les résultats ont permis de constater un effet de mortalité corrélé aux doses utilisées (**Aouati, 2009**).

Le dernier insecticide biologique expérimenté lors de notre étude est l'Azadiractine extrait d'un arbre (le Neem), ses principes actifs agissent en produisant des troubles dans l'alimentation de l'insecte et interviennent sur son cycle hormonal, provoquant des malformations dans le processus de mue, empêchant son développement normal et sa croissance.

L'Azadiractine a montré une bonne activité larvicide aux doses (0,2 mg/l, 0,1 mg/l, 0,05 mg/l) sur les larves L3 de *D. melanogaster* étudiées et les résultats indiquent des taux de mortalités allant jusqu'à 100%, ceci traduit une mortalité corrélée aux doses utilisées et au temps d'exposition. Les résultats indiquent également la DL 50 est égale à 0,039 mg/l, la DL90=0,128 mg/l \approx 0,13 mg/l après le 4^{ème} jour, ainsi que ceux enregistrés après le 6^{ème} jour la DL 50 est égale à 0,04 mg/l, la DL90 = 0,1 mg/l.

Dans ce même axe s'inscrivent plusieurs travaux comme ceux de (**Alouani, 2006**) qui a étudiée l'activité biologique de l'Azadiractine sur les larves L4 de *Culex pipiens* avec des concentrations allant de 0,125, 0,250, 0,5, 0,7 à 1 mg/l. Les résultats indiquent que l'effet direct s'est traduit par un DL50% de 0,357 mg/l et que l'effet différé quant à lui s'est traduit par un DL50% de 0,304 mg/l.

L'utilisation d'insecticides biologiques reste sans doute le meilleur moyen vers lequel tous les travaux convergent ces dernières années pour lutter contre ces espèces potentiellement dangereuses, car de part leurs efficacités prouvées et leurs pouvoirs intrinsèques, ils sont biodégradables et ne présentent aucune toxicité envers la faune environnante.

4.4. Comportement sexuel :

Un comportement est un ensemble d'actes moteurs commandés par le système nerveux en réponse à des facteurs externe (nourriture, phéromones sexuelles, phéromones d'alarme, sécrétions aphrodisiaques, phéromones grégaires...), stimuli perçus par le système sensoriel et à des facteurs internes à l'individu qui sont la motivation, l'histoire individuelle et le patrimoine génétique (**Kaiser, 1999**).

Tous les insectes peuvent communiquer d'une façon ou d'une autre avec leurs semblables. Très souvent les mâles strident pour attirer les femelles, Ces stridulations sont produites par la vibration de membranes situées sur la face inférieure du premier segment abdominale (cas des cigales), ou à la base des élytres où se trouve un organe dont les deux parties sont frottées l'une contre l'autre (cas des sauterelles), ou encore frottement des dents situées sur la face interne des fémurs contre les nervures saillantes des élytres (cas des criquets) (**Khelil, 1995**).

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

De nombreux comportements de drosophiles reposent sur la reconnaissance de substances chimiques et tout particulièrement les phéromones qui représentent des signaux chimiques intraspécifiques, jouant un rôle important dans l'attraction et la discrimination des partenaires sexuels (**Symonds & Elgar, 2008**). Chez *D. melanogaster*, les hydrocarbures de la cuticule cireuse sont sexuellement dimorphiques quant à leur présence et leurs effets (**Khelil, 1995**). Dans notre étude, on a pu observer ces différences sur le plan comportemental, car le mâle et la femelle drosophile ne présentent aucune similitude dans leur comportement. En plus de la formation des produits des cellules différenciées, des épissages différents de l'ARN sont aussi utilisés lors d'évènements plus précoces qui déterminent la destinée des cellules. Ainsi des études récentes ont montré que des remaniements différents de l'ARN jouent un rôle important dans la détermination du phénotype sexuel de la drosophile (**Gilbert, 1996**).

Les drosophiles effectuent souvent un ensemble de comportements représentant des manifestations qui précèdent ou accompagnent l'acte sexuel et prennent parfois un caractère très particulier; on les désigne sous le nom de parades nuptiales. Elles sont fréquentes chez la majorité des insectes. Le plus souvent, seuls les mâles se livrent à ces démonstrations, mais dans certains cas les deux sexes y prennent part simultanément (**Lagache & Rey, 2004**). Depuis une quinzaine d'années, de nombreuses études ont été réalisées et ont permis de définir la nature, le rôle, la production des hydrocarbures intervenant lors de ces comportements pré-copulatoires. Et à la suite des travaux de **Strutevant, 1915 ; Bastock & Manning, 1955 ; Brown, 1965**) effectués sur *Drosophila*, la parade de cour est devenue très bien connue, elle constitue la première stimulation mâle que reçoit la femelle. Elle est perçue au niveau des récepteurs sensoriels, pour la plupart céphaliques, et conduite par voie nerveuse normale jusqu'au SNC.

Ces phéromones intervenant lors de la parade sexuelle peuvent être soit aphrodisiaques, induisant l'accouplement; soit anti-aphrodisiaques, provoquant le comportement inverse, de ce fait, on a distingué deux différents cas de comportement dans les échantillons étudiés. Quant à l'étude comparative de ces comportements, elle nous a permis de mieux appréhender ce phénomène complexe qu'est l'accouplement.

Le mâle et la femelle drosophile ne sont pas spontanément attirés l'un par l'autre mais dès qu'ils se retrouvent à proximité, généralement près d'une source de nourriture dans l'enceinte d'accouplement, ils réalisent toute une série de comportements stéréotypés annonçant la copulation. Cela pourrait être une simple parade sexuelle chez *Drosophila melanogaster*, une mouche de quelques millimètres de long, mais c'est en fait un phénomène très complexe, car chaque étape de cour est régie par un grand nombre de phéromones (**I.N.A.P.G, 1997**).

Contrairement à d'autres diptères, la cour ne se passe jamais en vol, le mâle et la femelle se sentent rapidement malgré leur isolement dans les premières heures qui suivent l'émergence.

Généralement les femelles des drosophiles acceptent de s'accoupler rapidement contrairement à d'autres insectes là où les femelles sont plus exigeantes dans le choix de leur partenaire sexuel (**Wehner & Gehring, 1999**). Durant la parade sexuelle, le mâle envoie des signaux à la femelle à travers deux canaux sensoriels majeurs; chimiques et acoustiques, ces

signaux peuvent agir en synergie et sont impliqués dans la stimulation des femelles pour qu'elles acceptent la copulation (**Raybak et al., 2002**).

On observant le comportement des mouches lors de la parade, on remarque que c'est exclusivement le mâle qui détecte et s'oriente vers la femelle en premier, il lui tape sur la cuticule avec ses pattes. Tandis que la femelle se déplace, il déplie une de ses ailes qu'il fait vibrer produisant ainsi un chant de parade. Or, l'observation de ces insectes exposés aux doses sub-létales d'insecticides ; 2,5mg/l pour le Spinosad et 0,05mg/l pour l'Azadiractine, a révélé des changements de comportement sur l'ensemble de ces étapes.

A l'issue d'étude de recherche, ils ont pu mettre en évidence que des tissus de la région postérieure de la femelle sont responsables des stimuli déclenchant les premières étapes de cour des mâles. D'autres études plus avancées, ont permis de déterminer grâce à l'obtention des mouches mosaïques des parties du système nerveux commandant chaque séquence. Ainsi, l'emplacement de la phase initiale de la parade du point de vue anatomique est au niveau d'une aire dite de "déclenchement" dans le cerveau, cette aire intégrant apparemment des signaux issus de divers systèmes sensoriels. Les étapes ultérieures, en particulier celles nécessitant une coordination motrice précise sont commandées par d'autres régions du système nerveux (**I.N.A.P.G, 1997**).

Quelques minutes après le début de la rencontre, lorsque la femelle s'arrête, le mâle lui lèche les plaques génitales, dans cette étape, certains composés hydrocarbonés de la cuticule abdominale des femelles jouent le rôle de phéromones de contact qui seront détectés par le mâle.

La première tentative d'accouplement suit immédiatement, cette action est déclenchée au niveau du thorax du mâle et l'accord de la femelle pour cet accouplement est déclenché au niveau de l'abdomen, de même pour le mâle. Car une copulation réussite nécessite un thorax mâle et bien sûr des organes génitaux mâles (**Ferveur et al., 1995**).

Les femelles drosophiles sont fécondées durant 20 minutes (**Goudey-Perrière & Perrière, 1974**). En effet, nos résultats montrent que la durée moyenne d'accouplement de *D. melanogaster* est $21,85 \pm 2,04$ minutes. En revanche, l'observation des drosophiles traitées au Spinosad et l'Azadiractine n'ont montré aucune réceptivité et par conséquent des accouplements avortés.

On a également constaté que toutes les phases constitutives sont intimement liées et une déficience de l'une d'elles entraîne l'avortement du processus d'accouplement. En outre, on a enregistré une durée de parade qui peut durer une heure avec un nombre de parade très élevé. Cette inappétence sexuelle est liée à la nature des phéromones épicuticulaires des femelles et au comportement de parade des mâles (**I.N.A.P.G, 1997**).

Ce comportement de refus existe aussi chez les blattes, il a été observé chez certaines espèces tels que *Diploptera punctata* (**Gropeaux, 1994**) et *Loboptera decipiens* (**Habbachi et al., 2008**), ...etc.

La parade de la drosophile est de par sa complexité le meilleur exemple de comportement nécessitant toute une gamme de perceptions sensorielles mobilisant un grand nombre d'organes, elle consiste en une série d'actions toutes accompagnée par des échanges de signaux visuels, auditifs, chimiques, tactiles...et elle met en jeu en amont énormément de gènes pour aboutir à cette parade (**Slack, 2004 ; Demir, 2005**).

En effet, la cour chez la drosophile est influencée par une large variété de gènes, dans lesquels beaucoup de mutations mènent à une cour déficiente. Car on a observé dans notre étude des comportements anormaux sur les différents tests effectués sur les drosophiles traitées au Spinosad et à l'Azadiractine. Ces observations ont été notées sur les étapes pré-copulatoires accomplies par le mâle comme l'orientation sexuelle, le chant peu audible et déformé émis par une aile mal déployée, l'inaptitude à copuler ou la tendance à tourner en rond.

Sans doute l'effet de ces insecticides provoquerait des mutations rendant non seulement le comportement des mâles traité inhabituel mais aussi celui des femelles exposées aux insecticides. Ainsi, les conséquences de ces mutations sur la femelle ne sont pas les moindres, comme la non réceptivité de la femelle. Car des études ont montré, pour qu'une femelle soit normalement réceptive au chant d'amour du mâle, il faut que l'arista et le funiculus de son antenne soient intacts et capables de bouger normalement (**I.N.A.P.G, 1997**). La femelle peut donc repousser agressivement le mâle, ce dernier ne peut faire grand chose si une femelle n'est pas réceptive. Il peut arriver que le mâle impose la copulation, mais c'est d'habitude très difficile parce que, chez la plupart des espèces, la femelle doit prendre une position spécifique avant que l'accouplement puisse avoir lieu (**Mc Farland et al., 2001**).

On peut également évoquer la discrimination sexuelle par les femelles ou encore l'influence de l'âge sur l'isolement prézygotique. Egalement, l'effet d'une température au dessus de 28°C, engendre l'apparition de lésions chez ces insectes et la manifestation d'un taux anormal d'infécondité. De plus l'apparition de champignons et des acariens ce qui rend le milieu nuisible à la survie des drosophiles. Cependant une étude à révélé que les rencontres entre mâles et femelles aboutissent dans 60 à 80 % des cas à un accouplement (**I.N.A.P.G, 1997**).

Ainsi on peut dire que la parade amoureuse de la drosophile est un comportement parfaitement stéréotypé, où les approches, les refus, l'éloignement des autres mâles, la désensibilisation transitoire du mâle après copulation, sont réglés par des cocktails de sécrétions et de phéromones (**Serre, 2006**).

5. Conclusion :

La drosophile, l'organisme le plus étudié au laboratoire, possédant de multiples atouts qui ont contribué à son immense succès. En effet, la mouche du vinaigre a permis une grande et rapide acquisition de connaissances dans tous les domaines de la recherche.

Dans cette perspective, nous avons élaboré cette étude qui nous a permis tout d'abord d'identifier l'espèce de drosophile sauvage d'Annaba à travers une série de croisements, certifiant ainsi qu'il s'agit bien de l'espèce *Drosophila melanogaster*. En effet, nous avons précisé certaines connaissances sur les croisements entre espèces, car au moment de l'accouplement, et après que le mâle ait fait sa cour à la femelle, celle-ci ne l'accepte que s'il fait partie de la même espèce.

D'autre part, l'étude du développement post embryonnaire nous a permis non seulement d'évaluer la durée du développement de la drosophile mais aussi de déterminer son potentiel reproducteur. Cependant, l'étude comparée de ces deux paramètres entre les différents croisements effectués démontre une légère différence dans le nombre d'individus émergés. Ensuite, trois lots de larves de différentes tailles ont fait l'objet d'une étude de mensuration, dans le but de définir leur taille par stade.

Nous avons également procédé à des essais insecticides à l'égard des larves de troisième stade de *D. melanogaster*, afin d'estimer leur sensibilité envers ces biopesticides. Dans cette partie, trois biopesticides ont été testés, les Saponines n'ont pas montrés d'activité insecticide remarquable, le Spinosad qui a un mode d'action unique car il agit à la fois sur les récepteurs GABA et nicotiques, et l'Azadiractine qui a la capacité d'inhibition de l'hormone responsable de la mue chez les stades larvaires.

Les essais toxicologiques nous ont permis de ne révéler aucune activité larvicide à l'issue du traitement avec la Saponine et de déterminer la DL 50 et DL 90 du Spinosad et l'Azadiractine sur la souche de *D. melanogaster* d'Annaba. Ils révèlent un effet insecticide avec une relation dose-réponse et une bonne activité larvicide indiquant des taux de mortalités allant jusqu'à 100% pour les doses les plus élevées. Aussi l'apparition de divers types morphologiques singuliers a été observée chez les larves de troisième stade, les pupes et les adultes.

Cependant, l'acquisition essentielle de ce travail est la détermination d'une éventuelle perturbation au niveau du SNC lors de l'étude du comportement sexuel de *D. melanogaster* exposée aux Spinosad et l'Azadiractine. Les résultats nous ont permis d'observer des comportements pré-copulatoires anormaux ou inhabituels et de déceler des parades déficientes.

A la suite des différentes études effectuées au cours de ce travail, il convient de rechercher une vue d'ensemble sur la physiologie de la reproduction chez la drosophile. En fait, cette fonction est d'une grande importance sur le plan de la dynamique des populations. Ainsi, il est possible, d'avoir une connaissance assez précise des différents mécanismes sur la physiologie de la femelle drosophile, car cette étude reste un thème de recherche particulièrement intéressant dans la multiplicité des fonctions modifiées et l'existence d'interactions avec d'autres facteurs.

Afin d'identifier la signature chimique de la souche de drosophile d'Annaba, il est possible d'analyser le profil des hydrocarbures cuticulaires et notamment ceux intervenant lors du comportement sexuel, puis réaliser une étude comparative avec ceux de *D. melanogaster*, lignée Canton- S.

Sur le plan de lutte, il serait intéressant d'évaluer l'effet d'autres biopesticides sur la durée de développement, l'aspect morphologique et biochimique ainsi qu'une estimation du potentiel reproducteur chez la drosophile traitée. Il serait aussi intéressant, d'effectuer une étude toxicologique combinée entre deux biopesticides d'origine et de composition différente afin d'avoir un large spectre d'étude et éventuellement une plus grande efficacité de lutte.

On peut également utiliser les phéromones comme appâts sur les cultures fruitières et maraichères pour attirer les femelles et se débarrasser ainsi des larves qui se développent sur ces cultures.

- Abbott. W.S., 1925.** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18 : 265-267.
- Alarie. Y., 1990.** Taxonomie assistée par ordinateur. Annale. Université de Laurentienne.
- Alouani. A., 2006.** Activité biologique de l'Azadiractine sur le moustique *Culex pipiens L.* Développement et activité é enzymatique. Mémoire de Magister.
- Amy. E. & Snell., 2005.** Identification keys to larval and adult female mosquitoes (Diptera: Culicidae) of New Zealand.
- Anspaugh. D.D., Rose. R.L., Koehler. P.G., Hodgson. E. & Roe. R.M., 1994.** Multiple mechanisms of pyrethroid resistance in the German cockroach. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 50 : 138-148
- Aouati. A., 2009.** Inventaire des Culicidae des zones humides et des forêts de chêne – liège. Caractérisation systématique par les profils des hydrocarbures cuticulaires. Essais de lutte. Mémoire de Magister. Université de Annaba (Algérie). 120 pp.
- Appel. A. G., 1990.** Laboratory and field performance of consumer bait products for German cockroaches (Dictyoptera: *Blattellidae*) *Control. J. Eco. Entomol.*, 81(1): 153-159.
- Barth. R. H., 1970.** The mainting behavior of *Periplaneta americana* and *Blatta orientalis*, with notes on three additional species of *Periplaneta* and interspecific action of female sex pheromones. *Z. Tierpsychol.* 27 : 722-748.
- Bastock. M. & Manning. A., 1955.** The courtship of *Drosophila melanogaster*. *Behaviour* . 8, pp. 85–111.
- Baudry. M., 1998.** Encyclopédie des sciences. Édition : 2, France. *ISBN 2-253-13020-6*, 1456 p.
- Bendali. F., 2006.** Etude bioécologique, systématique et biochimique des Culicidae (Diptera : Nematocera) de la région d'Annaba .Lutte biologique anticulicidienne. Thèse de doctorat en biologie animale. Université d'Annaba.
- Berge. T.O., 1975.** International catalogue of Arboviruses, including certain other viruses of Vertebrates. *US Depart. Hlth. Educ. And Welfare.Public.* N°75-8301, 2 edit.
- Blomquist G.J., Jurenka R., Schall C. & Tittiger C., 2005.** Biochemistry and molecular

biology of pheromone production. *In*: Gilbert L.I., Iatrou K., Gill S. (Eds). *Comprehensive molecular insect science. Elsevier Academic. San Francisco. Vol 3. 705 – 751.*

Bock. I.R. & Wheeler M.R., 1972. The *Drosophila melanogaster* species group. *University of Texas Publications.* 7213 ; 1-102.

Bock. I.R., 1980. Current status of the *Drosophila melanogaster* species- group (Diptera). *Systematic Entomology.* 5 ; 343-356.

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

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

Brown. W.V., Walson J.A.L. & Lacey. M. J., 1996. A chemotaxonomic survey using cuticular hydrocarbons of some species of the Australian harvester termite genus *Drepanotermes (Isoptera termitidae).* *Soci. Biol.* 27 : 199-221.

Cardinal. H., Vernet. G. & Sinigre. G., 1979. Quelques effets d'un inhibiteur de croissance : le diflubenzuron sur un crabe *Carcinus mediterraneus.* *C. R. Soc. Biol.,* 173, pp 1105-1108. *Biologie. Comptes rendus n°6, T. 173.*

Casida. J. E. & Quistad. G. B., 1998. Golden age of insecticide research: past, present, or future. *Annual Review of Entomology.* 43: 1-16.

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

Colombani. J., Arquier. N., & Léopold. P., 2004. *M/S : médecine sciences. Vol. 20, N° 2, p 141-142.*

Colombani. J., Bianchini. L., Layalle. S. & Léopold. P., 2006. Stéroïdes, insuline et croissance : les mouches dopent la recherche / Steroids, insulin and growth : The flies dope the research. *Revue : M/S : médecine sciences, Volume 22, numéro 3, mars 2006,*

241-243.

Darribère. T., 2002. Introduction à la biologie du développement. Éditions Belin, p 8.

Darriet. F. S., Duchon & Hougard J.M., 2005. Spinosad: a new larvicide against insecticide resistant mosquito larvae. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 21: 495-496.

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

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

Demir. E. & Dickson B. J., 2005. Fruitless splicing specifies *Drosophila*. *Cell* 121 (5): 785-794.

Dent. D., 1991. Insect pest management. *C. A. B. International, Wallingford*, p 604.

Dhadialla. T. S., Carlson. G. R., Le. D.P., 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Ann. Rev. Entomol.* 43: 545-569.

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

David. J., Arens. M.F., & Cohet. Y., 1971. Stérilité mâle a haute température chez *Drosophila melanogaster* : nature, progressivité et réversibilité des effets de la chaleur. *C. R. Acad. Sci., Paris*. 272, 1007-1010.

Espelie. K.E., Bammboa. G.J., Grudzien. T.A. & Bura. E.A., 1994. Cuticular hydrocarbons of the paper wasp *Polistes fuscatus*: a search for recognition pheromones. *J. Chem. Ecol.* 20: 1677-1687.

Etges. W. J., 1993. Genetics of host- Cactus response and life. History evolution among, ancestral and derived populations of *Drosophila mojavensis*. *Evolution.* 47: 750- 767.

Everaerts. C., Farine. J.P & Brossut. R., 1997. Changes of species specific cuticular

hydrocarbons profiles in the cockroaches *Nauphoeta cinerea* and *Leucophaea maderae* reared in heterospecific groups. *Entomol. Exp. Appl.* 85 : 145-150.

Ferveur. J.F., Stortkühl. K.F., Stocker. R.F & Greenspan. R.G., 1995. Genetic feminization of brain structures and changed sexual orientation in male *Drosophila melanogaster*, *Science*, 267, pp. 902-905.

Finney. D. E., 1971. Probit analysis, 3 rd edn., Cambridge Univer. Press, London, England., 333.

Fischer. R. A. & Yates. F., 1975. Statistical tables for biological, agricultural and medical research. *Longman.* p 146.

Garfield. E., 1990. The cockroachs connection- Ancient, Seemingly Indestructible Pest. Part 2. *Population control. Curent comments.* 46: 5- 13.

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

Gelbart. W. M., 2002. Introduction à l'analyse génétique. 3^e édition, De Boeck Université. ISBN 2744500976, 9782744500978, p 38.

Georghiou. G. P. & Lagunes-Tejeda A., 1991. The accurence of resistance to pesticides in arthropods. *Food and Agriculture Organization of United Nations, Rome, Italy.*

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

Gilbert. S.F., 2004. Biologie du développement. ISBN 2-8041- 2263-8, De Boeck Université, 855 p : 450- 778.

Gormen. K., Hewitt. E., Denholm. I. & Devine. G.J., 2002. New developments in insecticide resistance in the glasshouse white fly (*Trialeurodes vaporariorism*) and the two-spotted spider mite (*Tetranychus uricae*) in the UK. *Pest Manag. Sci.*, 58 : 123-130.

Goudey-Perrière. F. & Perrière. C., 1974. Guide de travaux pratiques de Zoologie et de

Biologie Animale. Centre de documentation universitaire. Vol 2.

- Griffiths. A. J. F., Miller. J. H., Suzuki. D.T., Sanlaville. C., Lewontin. R. C., Gelbart W.M., 2002.** Introduction à l'analyse génétique. 3^e édition De Boeck Université. ISBN 2744500976, 9782744500978, p38.
- Gropeaux. J.C., 1994.** Comportement sexuel de *Diploptera punctata* (Dictyoptera, Blaberidae) : Approche éthologique. Mémoire de diplôme d'études approfondies de Biologie. Université Paris XIII. 18 pp.
- Guillaume. L., & Le Guyader. H., 2001.** Classification phylogénétique du vivant, 3^e édition, édition Blin, 2001, ISBN 2-7011- 4273-3, N° d'édition : 004273- 01, dépôt légal : février 2006, 554 p : 211- 323.
- Habbachi W., Halfaoui Z. N., Ouakid M. L., 2008.** Étude du comportement sexuel d un décomposeur majeur de la litière du chêne-liège *Loboptera decipiens* (Blattelidae : Dictyoptera). *Annales de l INRGREF*. 12, Numéro spécial. 569-582 pp. ISSN 1737-0515.
- Hepburn H. R., 1985.** Structure of the integument. IN G. A. Kerkut and L. I. Gilbert (eds), *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry, and Pharmacology*, Vol 3. Pergamon Press, Oxford, pp. 1-58.
- Heusser. S. & Dupuy. H. G., 2004.** Biologie animale : Les grands plans d'organisation. 2^e édition, DUNOD, p 142.
- Himmi. O., Dakk. M., Trari. B & Elagbani. M.E., 1995.** Les Culicidae du Maroc : clés d'identification avec données biologique et écologique. Travaux de l'institut scientifique(N44). Rabat(Maroc).
- Horne. G.L. & Priestman A.A., 2002.** The chemical characterisization of the epicuticular hydrocarbons of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae).*Bull.Entomol.Res*; 92:287-294.
- I.N.A.P.G, 1997.** Administration Institut National Agronomique Paris Grignon. Comportement et génétique de la drosophile.
- Jolivet., 1980.** Les insectes et l'homme. PUF, collect. *Que sais-je ?*,128 PP.

- Joly. D., Dejonghe. B. & Luck., 2003.** Les spermatozoïdes géants de la drosophile. Laboratoire Population, Génétiques et Evolution, *Insectes* 25-29 N° 128 (1).
- Joly. D., 2006.** La drosophile : Un insecte au service de la science.
- Kaiser. L., 1999.** Le comportement des insectes. *Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S)*, 35 (suppl.) : 136-147. Section 4 : Comportement.
- Khelil. M. A., 1995.** Abrégé d'entomologie. Université de Tlemcen, Institut de biologie. p 103.
- Kristensen. M. & Jespersen. J. R., 2003.** Larvicide resistance in *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) populations in Denmark and establishment of resistant laboratory strains. *J. Econ. Entomol.*, 96: 1300-1306.
- Lachaise. D., Cariou. M.L., David. J.R., Lemeunier. F., Tsacas. L., Ashburner, M., 1988.** Historical biogeography of the *Drosophila melanogaster* species subgroup. *Evol. Biol.* 22: 159-225.
- Lagache. D. & Rey. P., 2004.** Identité et vie sexuelle. La vie sexuelle des animaux : Les instincts sexuels. *Psy Désir*.
- Laugé. G. & Masner. P., 1974.** Incidences de températures élevées appliquées au cours du stade pupal sur les potentialités reproductrices des adultes de *Drosophila melanogaster*. *Ent.exp.& appl.* 17 : 511- 521.
- Lecointre. G. & Le Guyader. H., 2001.** Classification phylogénétique du vivant. 3^e édition, Belin, ISBN 2-7011-4273-3. p 559.
- Maissiat. J., Picaud. J., Baehr. J., 2005.** Biologie animale, invertébrés. 2^e édition, DUNOD, ISBN : 2-10-049-069-9. p 240.
- McFarland. D., Huart. J., Zayan. R., 2001.** Le comportement animal: Psychobiologie, éthologie et évolution. *De Boeck Université*, ISBN : 2744501166. p 616.
- Mertz. F. P. & Yao. R. C., 1990.** *Actinomadura fibrosa* sp. nov. isolated from soil. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 40 (1): 28-33.

- Pavan. M., 1986.** Una revolutione. Cultural. Europea. La “carta sugli invertebrate” delonsiglio d’europa. P ubblicazioni dell’ Institute entonologico, Universita di Pavia, 33:1-51.
- Possidente. D. R. & Murphey R. K., 1989.** Genetic control of sexually dimorphic axon morphology in *Drosophila* sensory neurons. *Devl biol.* 132,448-457.
- Provancher. L. & Huard. V.A., 2007.** Le naturaliste canadien. *Presse de l’université Laval.* 453.
- Ramade. F., 1992.** Précis d’écotoxicologue. *Collection d’Ecologie* 22, Masson, Paris., pp. 170 - 171.
- Raybak. F., Sureau. G. & Aubin. T., 2002.** Functional coupling of acoustic and chemical signals in the courtship behaviour of the male *Drosophila melanogaster*. *The Royal Society.*, 269: 695-701.
- Reid. B. L., Bennett. G. W. & Barcay. S. J., 1990.** Topical and oral toxicity of sulfuramid on delayed action insecticide, against the German cockroachs (Dictyoptera: *Blattellidae*). *J. Econ. Entomol.*, 83 : 148 – 152.
- Reierson. D. A., Rst. M. K., Vandyke. A. & Appel. A. G., 1983.** Control of German Cockroachs with amidinohyrazone bait. *Insecticide and Acaricide tests.* 8: 54.
- Salgueiro. E. & Reyss. A., 2002.** Biologie de la reproduction sexuée. *Edition Belin, ISBN 2-7011-3267-3.* p 191.
- Säid. I., Costagliola. G., Leoncini. I., Rivault. C., 2005.** Cuticular hydrocarbon profiles and aggregation in four *Periplaneta* species (Insecta: Dictyoptera). *J. Insect. Physiol.* 51 (9) : 995-1003
- Salgado. V. L., 1998.** Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. *Pestic. Biochem. Physiol.* 60: 91-112.
- Savarit. F., Sureau. G., Cobb. M., & Ferveur. J. F., 1999.** Phéromones sxuelles et evolution chez les mouches drosophiles: Genetic elimination of known pheromones reveals the fundamental chemical bases of mating and isolation in *Drosophila*.

Proceeding of the national of academy of sciences

- Senevet. G. & Andarelli. L., 1956.** Les Anopheles de l'Afrique du Nord et du bassin méditerranéen. *Ency. Entomol. Lechevalier*. Paris. (ed).33 : 280 p.
- Serre. J.L., 2006.** La génétique. Le Cavalier Bleu, ISBN 2846701288, 64 : 127.
- Shaffner. F. Angel. G., Geoffroy. B., Hevry. J. P., Rhaïem. A., Brhunes. J., 2001.** Moustiques d'Europe. Institut de recherche pour le développement. IRD. Logiciel d'identification.
- Siegfried. B. D. & Scharf. M. E., 2001.** Mechanisms of organophosphate resistance in insects. Department of Entomology, 202 Plant Industry Bldg, *University of Nebraska. Lincoln NE, USA*. pp : 269 – 291.
- Slack. J., 2004.** Biologie du développement. 1^{ère} édition, De Boeck, p 481.
- Soderlund. D. M., 1997.** Molecular mechanisms of insecticide resistance. *In* : Sjut V (ed.). Molecular mechanisms of resistance to agrochemicals, Vol 13: *Chemistry of plant protection. Springer, Berlin Heidelberg New York*, pp 21-56.
- Strtevant. A.H., 1915.** Experiments on sex recognition and the problem of sexual selection in *Drosophila*, *Journal of Animal Behaviour* 5 (1915), pp 351–366.
- Sturtevant. A.H., 1920.** Genetic studies on *Drosophila simulans*. I. Introduction. Hybrids with *Drosophila melanogaster*. *Genetics*. 5: 488-500.
- Swaroop. S, 1966.** Statistical methods in malaria eradication. WHO, Geneva, Monograph N° 51, 164 pp.
- Symonds. M. R. E. & Elgar. M. A., 2008.** The evolution of pheromone diversity. *Cell press*. pp 220–228.
- Tags. A. S., 2007.** Révision Drosophile. Blog politique d'Adrien.
- Tavernier. R. & Lizeaux. C., 2002.** Sciences Vie Terre Term S – Spec. *Maisonneuve & Larose. ISBN 2047295858, 9782047295854*, 113, 116, 117.
- Tomlin. C., 2000-** The pesticide manual. 12th ed. *British Crop Protection Council*,

London, United Kingdom.

Tracqui. P & Demongeot. J., 2003. Eléments de biologie à l'usage d'autres disciplines de la structure aux fonctions. *EDP Sciences Editions*, 94-95.

Trengenz. T., Buckley. S. H., Pritchard. U.L., Roger. K. B., 2000. Inter and intra population effects of sex and age of epicuticular composition of meadow grasshopper, *Chorthippus parallelus*. *J.chem.Ecol.*,26(1): 257-278.

Wehner. R. & Gehring. W., 1999. Biologie et physiologie animaux: Bases moléculaires, cellulaires, anatomiques, et fonctionnelles, orientation compare et evolution. 23^e édition, De Boeck université. p 844.

Wheeler. D.E., 1986. Developmental and physiological determinants of caste in social Hymenoptera: Evolutionary implications. *American Naturalist* 128: 13-34.

Wilson. E.O., 1988. The current state of biological diversity; In: E O. Wilson.biodiversity. P.3-18. Washington DC: *National Academy Press. Parasitologia, Ornithologia, Entonologia*. Institute of ecology, Vilnius. *ISSN* 1392 6.

Wolpert. L., 2004. Biologie du développement : Les grands principes. 3^e édition, *DUNOD*, Paris, p 479.