



République Algérienne Démocratique & Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

**Université Badji Mokhtar Annaba**  
**Faculté des Sciences**  
**Département de Biologie**

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Magister en  
Physiologie Animale  
**Option : Ecotoxicologie**

**Thème**

**Impact de deux mimétiques de l'hormone de mue :  
(RH-2485) et (RH-5992)  
Sur le devenir des oeufs d'un lépidoptère, ravageur  
des denrées stockées : *Ephestia kuehniella*  
(Lepidoptera, Pyralidae) après traitement des mâles**

***Présenté par*** : M<sup>elle</sup> Bouzeraa Hayette

***Directrice de mémoire*** : M<sup>me</sup>. Soltani-Mazouni N (Pr). Université d'ANNABA

**Jury :**

**Président** : Mr. Soltani N.....Professeur Université d' ANNABA

**Examinatrice** : Mme. Daas O.....Maître de conférence Université d'ANNABA

**Examinatrice** : Mme.Bendali F.....Maître de conférence Université d'ANNABA

***Année universitaire 2009-2010***

# SOMMAIRE

1 Introduction.....	1
2 Matériel et Méthodes.....	6
2.1 Modèle biologique.....	6
2.1.1 Présentation de l'insecte.....	6
2.1.2 Cycle Biologique.....	6
2.2 Technique d'élevage.....	7
2.3 Application des insecticides.....	10
2.3.1 Présentation des insecticides.....	10
2.3.2 Traitement.....	10
2.4 Détermination du potentiel reproducteur.....	10
2.5 Dissection et prélèvement des testicules.....	12
2.6 Analyse Biochimique.....	12
2.6.1 Extraction des Métabolites.....	12
2.6.2 Dosage des Métabolites.....	12
2.6.2.1 Dosage des glucides totaux.....	15
2.6.2.2 Dosage des lipides totaux.....	15
2.6.2.3 Dosage des protéines totales.....	16
2.6.3 Extraction des Acides nucléiques.....	16
2.6.4 Dosage des Acides nucléiques.....	16
2.6.4.1 Dosage de l'ARN.....	18
2.6.4.2 Dosage de l'ADN.....	18
3 Analyse Statistique.....	19
4 Résultats.....	20
4.1 Effets du RH-2485 et RH-5992 sur le potentiel reproducteur.....	20
4.2 Effets du RH-2485 et RH-5992 sur la biochimie des testicules.....	26

4.2.1 Effets sur le taux des glucides testiculaires.....	26
4.2.2 Effets sur le taux des lipides testiculaires.....	26
4.2.3 Effets sur le taux des protéines testiculaires.....	26
4.2.4 Effets sur le taux d'ARN testiculaires.....	33
4.2.5 Effets sur le taux d'ADN testiculaires.....	33
5 Discussion.....	38
6 Conclusion et perspectives.....	43
Résumé.....	44
Références Bibliographiques.....	47

## Liste des Tableaux

<b>Tableaux</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>1</b>	réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des glucides.	<b>15</b>
<b>2</b>	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des lipides	<b>15</b>
<b>3</b>	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines	<b>16</b>
<b>4</b>	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification du taux d'ARN.	<b>18</b>
<b>5</b>	Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification du taux d'ADN.	<b>18</b>
<b>6</b>	Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> (Z), sur la durée (jour) de préoviposition ( $m \pm s$ , n=5).	<b>21</b>
<b>7</b>	Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> (Z), sur la durée (jour) d'oviposition( $m \pm s$ , n=5).	<b>22</b>
<b>8</b>	Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> (Z), sur la fécondité des femelles (nombre d'œufs) ( $m \pm s$ , n=5)	<b>23</b>
<b>9</b>	Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> (Z), sur la viabilité des œufs ( $m \pm s$ , n=5).	<b>24</b>
<b>10</b>	Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> (Z), sur la durée du développement embryonnaire ( $m \pm s$ , n=5).	<b>25</b>
<b>11</b>	Dosage des glucides : réalisation de la gamme d'étalonnage ( $m \pm S$ ; n= 3)	<b>27</b>
<b>12</b>	Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des glucides testiculaires ( $\mu\text{g} / \text{mg}$ de testicules)	<b>28</b>

	chez les adultes d' <i>E. kuehniella</i> ( $m \pm s$ ; $n= 3$ ).	
<b>13</b>	Dosage des lipides : réalisation de la gamme d'étalonnage ( $m \pm s$ ; $n= 3$ )	<b>29</b>
<b>14</b>	Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des lipides testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes d' <i>E. kuehniella</i> . ( $m \pm s$ ; $n = 3$ ).	<b>30</b>
<b>15</b>	Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage, ( $m \pm s$ ; $n= 3$ ).	<b>31</b>
<b>16</b>	Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des protéines testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes d' <i>E. kuehniella</i> ( $m \pm s$ ; $n = 3$ ).	<b>32</b>
<b>17</b>	Dosage d'ADN : réalisation de la gamme d'étalonnage ( $m \pm s$ , $n=3$ )	<b>34</b>
<b>18</b>	Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ADN testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes d' <i>E. kuehniella</i> . ( $m \pm s$ ; $n = 3$ ).	<b>35</b>
<b>19</b>	Dosage d'ARN : réalisation de la gamme d'étalonnage ( $m \pm s$ , $n=3$ )	<b>36</b>
<b>20</b>	Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ARN testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes d' <i>E. kuehniella</i> . ( $m \pm s$ ; $n = 3$ ).	<b>37</b>

## Liste des figures

<b>Figures</b>	<b>Titres</b>	<b>Pages</b>
<b>1</b>	Les différents groupes de régulateurs de croissance	<b>5</b>
<b>2</b>	Cycle de développement d' <i>E.kuehniella</i> .	<b>8</b>
<b>3</b>	Distinction des sexes mâle (♂) et femelle (♀) d' <i>E.kuehniella</i> . (Le cercle représente la paire de testicules)	<b>9</b>
<b>4</b>	Formule de structure de l'hormone de mue et de quelques agonistes des ecdystréroides	<b>11</b>
<b>5</b>	Principales étapes d'extraction des métabolites glucide, lipides et protéines selon schibet <i>al</i> ; 1966.	<b>13</b>
<b>6</b>	Principales étapes d'extraction des acides nucléiques : ADN, ARN selon Shibko <i>et al.</i> , 1966.	<b>16</b>
<b>7</b>	Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> (Z), sur la durée (jour) de préoviposition ( $m \pm s$ , n=5).	<b>20</b>
<b>8</b>	Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> (Z), sur la durée (jour) d'oviposition ( $m \pm s$ , n=5).	<b>21</b>
<b>9</b>	Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> (Z), sur la fécondité des femelles (nombre d'œufs) ( $m \pm s$ , n=5).	<b>22</b>
<b>10</b>	Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> (Z), sur la viabilité des œufs ( $m \pm s$ , n=5).	<b>23</b>
<b>11</b>	Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' <i>Ephestia kuehniella</i> (Z), sur la durée du développement embryonnaire ( $m \pm s$ , n=5).	<b>24</b>
<b>12</b>	Dosage des glucides : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de glucose( $\mu$ g).(R2:coefficient de détermination)	<b>27</b>

<b>14</b>	Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des glucides testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes <i>d'E. kuehniella</i> ( $m \pm s$ ; $n= 3$ ).	<b>28</b>
<b>15</b>	Dosage des lipides : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de lipides ( $\mu\text{g}$ ). ( $R^2$ : coefficient de détermination).	<b>29</b>
<b>16</b>	Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des lipides testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes <i>d'E. kuehniella</i> ( $m \pm s$ ; $n= 3$ ).	<b>30</b>
<b>17</b>	Dosage des protéines : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités d'albumine ( $\mu\text{g}$ ). ( $R^2$ : coefficient de détermination).	<b>31</b>
<b>18</b>	Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des protéines testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes <i>d'E. kuehniella</i> ( $m \pm s$ ; $n= 3$ ).	<b>32</b>
<b>19</b>	Courbe d'étalonnage des Absorbances en fonction des Quantités des ADN ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2=$ coefficient de corrélation).	<b>34</b>
<b>20</b>	Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ADN testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes <i>d'E. kuehniella</i> ( $m \pm s$ ; $n= 3$ ).	<b>35</b>
<b>21</b>	Courbe d'étalonnage des Absorbances en fonction des Quantités des ARN ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2=$ coefficient de corrélation).	<b>36</b>
<b>22</b>	Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ARN testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ de testicules) chez les adultes <i>d'E. kuehniella</i> ( $m \pm s$ ; $n= 3$ ).	<b>37</b>

# 1- Introduction

Dans le langage populaire, les mites représentent deux types d'insectes nuisibles, dont les teignes qui s'attaquent aux matières textiles et les pyrales qui s'attaquent aux denrées alimentaires. Les céréales constituent l'alimentation de base de la majorité des habitants de la planète. Cependant elles subissent des pertes énormes si les conditions de stockage ne sont pas suffisantes.

Le risque d'infestation est plus grand durant la saison chaude (mai à septembre), au cours de deux périodes principales de reproduction. L'étude de la reproduction est donc fondamentale afin de diminuer les dégâts causés par ces déprédateurs.

En effet, de nombreuses études réalisées sur divers ordres d'insectes ont démontré l'implication de l'hormone juvénile et de l'ecdysone (les deux hormones régissant la croissance et la métamorphose chez les insectes au niveau de deux mues successives nymphale et imaginale (Nijhout, 1994 ; Riddiford, 1994 et 1996), ils jouent un rôle majeur dans le développement et la reproduction des insectes (Bellés, 2005 ; Wang *et al.*, 2004 ; Gade et Hoffman, 2005).

L'hormone juvénile (JH), un dérivé terpénoïde est le grand orchestrateur du développement et de la reproduction chez les insectes, elle est présente durant toute la vie larvaire et synthétisée par les corps allates sous la dépendance de neurohormones céphaliques (Stay et Woodhead, 1993; Koopmanschap *et al.*, 1991).. Sa présence à des niveaux élevés chez les insectes immatures empêche le déclenchement de la métamorphose au moment de la mue, assurant ainsi le maintien de caractères « juvéniles » jusqu'à la fin du développement larvaire. Chez l'adulte, la JH est essentielle à diverses activités reproductrices dont la maturation des gonades et la production de phéromones sexuelles (Stay et Woodhead, 1993 ;Koopmanschap *et al.*,1997).

L'ecdysone est une prohormone des ecdystéroïde correspondant à la famille de stéroïdes polyhydroxylés, elle est gonadotrope produite par les glandes prothoraciques, libérée dans l'hémolymphe puis convertie en 20-hydroxy ecdysone (20 E), hormone active à l'ecdysone 20-monoxygénase (Smith, 1958; Koolman, 1990). Les ecdystéroïdes sont toujours présentes chez l'adulte grâce à sa synthèse par les ovaires des femelles (Hagerdorn, 1985), les testicules des mâles (Loeb *et al.*, 1982, 1984) et encore les oenocytes , les sternites et l'épiderme (Delbecque *et al.*, 1990 ; Spindler *et al.*, 1991 ; Kelly *et al.*, 1992 ; Asahina *et al.*, 1994 ;; Soltani *et al.*, 1997). Chez la femelle, l'ecdysone en concomitance avec l'hormone juvénile,

régule le développement ovarien chez certaines espèces de papillons (Ramaswamy *et al.*, 1997).

Cette hormone, joue ainsi un rôle clé dans la différenciation et la maturation du système reproducteur mâle (Grimnes et Happ, 1987; Shinbo et Happ, 1989; Loeb et Hakim, 1991) et la production des spermatozoïdes (Dumser, 1980 ; Thorson et Riemann, 1982; Gelman *et al.*, 1988; Gielbultowicz *et al.* , 1993; Seth *et al.* , 2002; Kawamura *et al.* , 2003) et ce, bien avant le stade adulte. Chez les Lépidoptères, la compétence des glandes accessoires à produire des protéines chez l'adulte nécessite une hausse des titres des ecdystéroïdes au stade pupal (Sridevi *et al.* , 1988; Shinbo et Happ, 1989). Par ailleurs, chez ces derniers, l'ecdysone régule également la production des deux types de spermatozoïdes, les eupyènes nucléés qui fertilisent l'œuf et les apyènes anucléés qui jouent un rôle d'assistance (Osanai *et al.* , 1987; Friedländer, 1997). En effet, une augmentation des ecdystéroïdes stimule la production des apyènes (Gelman *et al.* , 1988; Kawamura *et al.* , 2003) tandis que l'injection de la 20-E semble inhiber la libération des eupyènes des *vas deferens* (Thorson et Riemann, 1982; Gielbultowicz *et al.* , 1990).

Le potentiel reproducteur des insectes reste un facteur des plus importants de leur indéniable pullulation. Dans ce cadre, les hormones juvéniles et les ecdystéroïdes ont pour fonction de synchroniser la maturation sexuelle avec l'initiation des comportements précopulatoires ayant pour finalité la rencontre des partenaires sexuels en vue de réaliser l'accouplement (Barth et Lester, 1973). Chez les insectes utilisant la communication chimique comme mode de recrutement d'un partenaire, la production et l'émission de la phéromone sexuelle généralement réalisées par la femelle ainsi que la détection de la phéromone et la localisation de l'émettrice par le mâle, sont régies par des mécanismes physiologiques complexes impliquant l'intervention d'hormones et de neurohormones (Barth, 1961). Ces aspects de la biologie reproductive des lépidoptères sont intrinsèquement liés aux stratégies reproductives utilisées par les femelles, lesquelles influencent directement la maturation des œufs (Renée Dallaire, 2003).

Les connaissances acquises dans le domaine de la physiologie de l'insecte ont abouti à la mise au point des produits chimiques, tels que les organophosphorés, les pyréthrines naturelles et les pyréthrines de synthèse afin de lutter contre les insectes nuisibles (Appel et

Benson, 1995 ; Kaakeh *et al.*, 1997). Cependant leur utilisation abusive a fait apparaître à long terme des effets secondaires dans l'environnement (Cassida et Quistad, 1998)

Pour cette raison la protection des cultures, des forêts et des denrées stockées, contre les organismes nuisibles, s'inscrit aujourd'hui dans une démarche nouvelle. Avec les conférences des Nations unies de Stockholm (1982), de Rio de Janeiro (1992) et de Johannesburg (2002), les questions environnementales sont devenues une préoccupation internationale, majeure et croissante, en particulier au travers de la convention sur la conservation de la diversité biologique et du plan d'action mondiale recommandant des pratiques agricoles durables (Lévêque et Mounolou, 2001). Il s'agit désormais d'intégrer rationnellement l'agriculture dans les fonctions de l'écosystème, et non plus de domestiquer la nature.

Grâce aux progrès technologiques, l'agriculture se dote aujourd'hui de produits chimiques plus performants, afin de contrôler les pertes de récoltes qui sont associées à la présence de plantes ou d'insectes nuisibles (Nauen et Bretschneider, 2002). C'est ainsi que, l'industrie phytosanitaire a développé des produits de synthèse plus sélectifs et sécuritaires qui ont menés à la découverte des régulateurs de croissance des insectes (IGRs: Insect Growth Regulators) insecticides de la troisième génération (Figure 1), qui stimulent l'action des hormones de croissance chez les insectes (Dhadialla *et al.*., 1998) agissant de manière spécifique en perturbant des éléments physiologiques essentiels liées à la reproduction et au développement des organismes visés (Degheel, 1990 ; Ishaaya, 1990)

Les analogues de l'hormone juvénile (méthoprène, fénoxycarbe, pyriproxifène et diofénoLAN) ont pour principaux effets de produire, chez les individus traités, un stade surnuméraire, des larves permanentes ou des intermédiaires larve-pupe (Gadenne *et al.*., 1990; Muyle et Gordon, 1989; Mauchamp *et al.*., 1989).

Les inhibiteurs de la synthèse de la chitine ; le représentant principal est le diflubenzuron qui agit sur la sécrétion cuticulaire en réduisant l'épaisseur de la cuticule et en perturbant la synthèse de la chitine (Cohen, 1987 ; Ishaaya, 1990 ; Soltani *et al.*, 1993).

Les analogues des ecdystéroïdes, comportant les antagonistes (KK42, KK22) sont des dérivés de l'imidazole, qui inhibent la biosynthèse de l'hormone juvénile, et sont considérés comme des anti JH (Kadano-Okuda *et al.*, 1987 ; Tunaz et uyun, 2004). Les agonistes des ecdystéroïdes, composés non stéroïdes sont représentés par les bisacylhydrazines. Ils sont les

derniers représentants d'une nouvelle classe d'IGRs ( Dhadialla *et al.*, 1998 ; Dhadialla *et al.*, 2005) ; le RH-5849 (dibenzohylhydrazine), développé en 1988 par Aller et Ramsay, est efficace sur plusieurs espèces de Lépidoptères, Coléoptères et Diptères (Wing,1988 ; Wing et Aller,1990) ; le tébufénozide (RH-5992) est un autre analogue de l'hormone de mue, il montre une activité ecdystérogénique spécifique aux Lépidoptères (Smagghe et Degheele, 1994a; Smagghe *et al.*, 1996a; Dhadialla *et al.*, 1998; Sundaram *et al.* , 1998) avec un grand potentiel pour la protection de produits entreposés dans l'industrie, en particulier contre ses lépidoptères (Hami et autres, 2005). Ces deux molécules agissent en induisant des mues précoces et incomplètes particulièrement chez les lépidoptères (Retnakaran *et al.*, 2001), ils miment l'action de l'hormone de mue en se fixant aux récepteurs nucléaires spécifiques (ECRs) des écdysteroides naturels (Wing, 1985; Garlson *et al.*, 1994 ; Wing *et al.* ,1998 ; Dhadialla *et al.*, 2005). Récemment deux nouveaux molécules ont été développés, le méthoxyfénozide (RH-2485) est significativement plus actif que le RH-5992 envers plusieurs espèces de lépidoptères ( Bruce A Barrett. , 2008 ; Jenifer *et al.*, 2003), et le halofénozide (RH-0345) présente une forte toxicité envers les coléoptères (Dhadialla *et al.*, 1998 ; Soltani *et al.*, 2002) et affecte la reproduction( Taibi *et al.*, 2003).

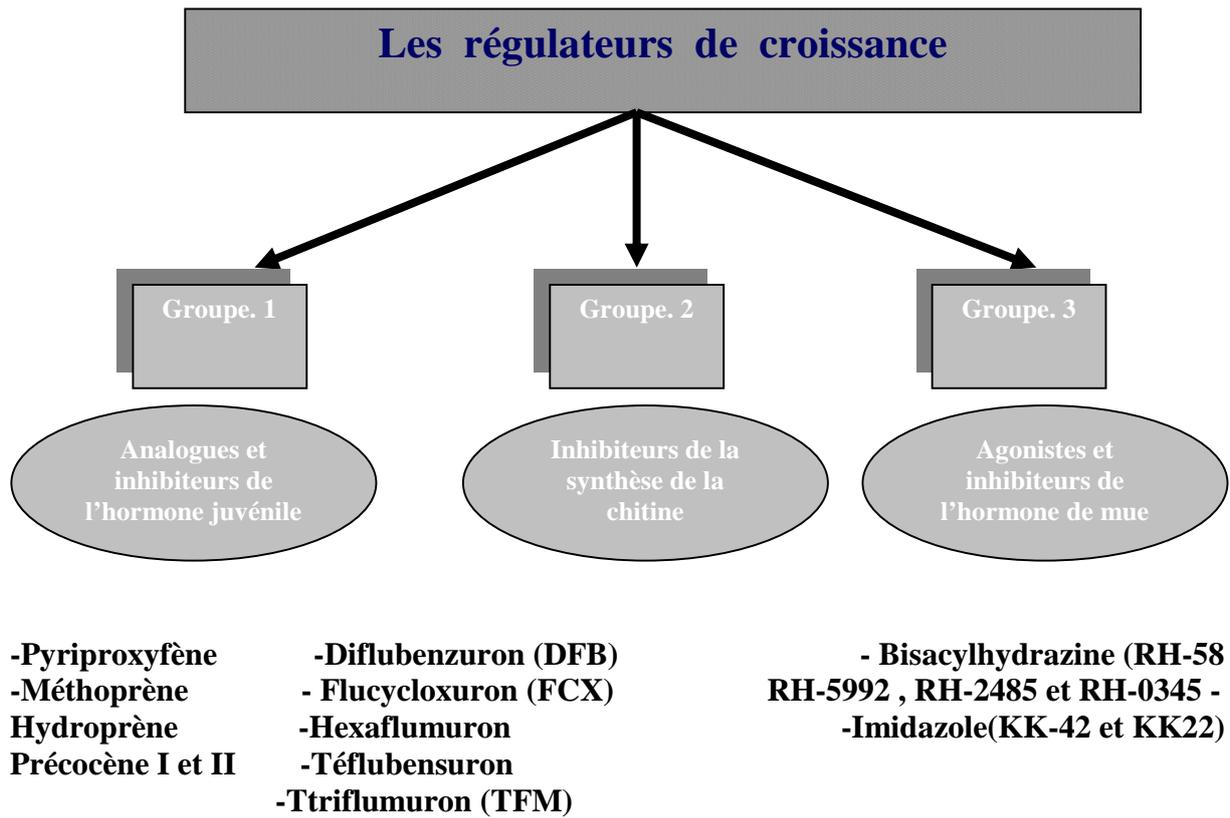
Leurs toxicité relative peut être classée dans l'ordre suivant RH-2485, RH-5992, RH-0345 et enfin le RH-5849 (Smagghe *et al.*, 2002).

De nombreuses études ont été menées à travers le monde sur *Ephestia kuehniella* aux plans économique (Bélles, 1975 ; Jacob et Cox, 1976), biologique, morphologique, physiologique (Weiranther, 1989 ; Anderson et Hallberg, 1990), et génétique (Marec et Mirchi, 1990 ; Traut et Traut, 1991). En Algérie, elle a fait l'objet de quelques travaux ( Maamcha, 1997 ; Taibi, 2003 ; Hami, 2004 ; Chebira-sakraoui,2007). Tous ces acquis ont permis d'entreprendre des expérimentations approfondies sur les effets des pesticides sur ces ravageurs.

Notre étude vise à évaluer *in vivo* l'efficacité de deux agonistes de l'hormone de mue le méthoxyfénozide (RH-2485) et le tébufénozide ( RH-5992) sur un lépidoptère ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella* ( Zeller).

Elle vise les aspects suivants :

- Potentiel reproducteur des femelles après traitements des mâles.
- Biochimie des testicules. (Métabolites, Acides nucléiques)



**Figure 1 : Les différents groupes de régulateurs de croissance**

## 2- Matériel et méthodes

### 2.1. Modèle biologique

#### 2.1.1. Présentation de l'insecte

Originaire de l'Inde, *Ephestia kuehniella* (Zeller) est un insecte lépidoptère holométabole qui existe dans les régions tempérées et méditerranéennes. Cet insecte a une nette préférence pour la farine d'où « Pyrale de la farine », mais peut également s'attaquer aux grains de céréales, biscuits, pâtes alimentaires, chocolat, riz (Contact Webmaste ,2002). Il a des mœurs nocturnes, et se tient au repos contre les murs ou caché dans la farine (Balachowsky ,1972). Sa position systématique est la suivante :

Embranchement	Arthropoda
Sous Embranchement	Antennata
Super classe	Trachéates
Classe	Insecta
Sous Classe	Ptérygota
Section	Néoptéra-oligonéoptéra
Super Ordre	Mécoptéroïdæ
Ordre	Lépidoptéra
Sous Ordre	Hétéroneures
Division	Ditrysia
Sous Division	Hétérocères
Super famille	Phyaloidæ
Famille	Pyralidæ
Sous famille	Gallerinæ
Genre	<i>Ephestia</i>
Espèce	<i>kuehniella</i> (Zeller)

#### 2.1.2. Cycle biologique

Le cycle complet du développement est de 80 jours à une température de 27C° et une humidité de 80%. L'accouplement a lieu immédiatement après le début de la vie d'adulte, juste après, la femelle pond environ 100 à 200 œufs pendant une période de 3 jours formant un amas au fond et sur les parois des sacs de farine.

Le développement chez *Ephestia kuehniella* passe par 4 phases (Figure 2), dans un ordre bien déterminé, œuf, larve ou chenille, nymphe ou chrysalide, adulte ou papillon (Balachowsky, 1972 ; Bendjeddou, 1993 ; Hami, 2004).

**\*l'œuf :** Il est de couleur blanchâtre et de forme ovoïde, d'une longueur de 440  $\mu\text{m}$ , et une largeur de 250  $\mu\text{m}$ .

**\*La larve :** À son premier stade, la larve blanche tirant sur le rosé, mesure 1 à 1,5 mm, après six mues, elle atteint 10 à 13 mm au stade final. La larve mâle se différencie de celle de la femelle par la présence de deux taches noires sur la face dorsale de l'abdomen, correspondant aux testicules (Figure 3).

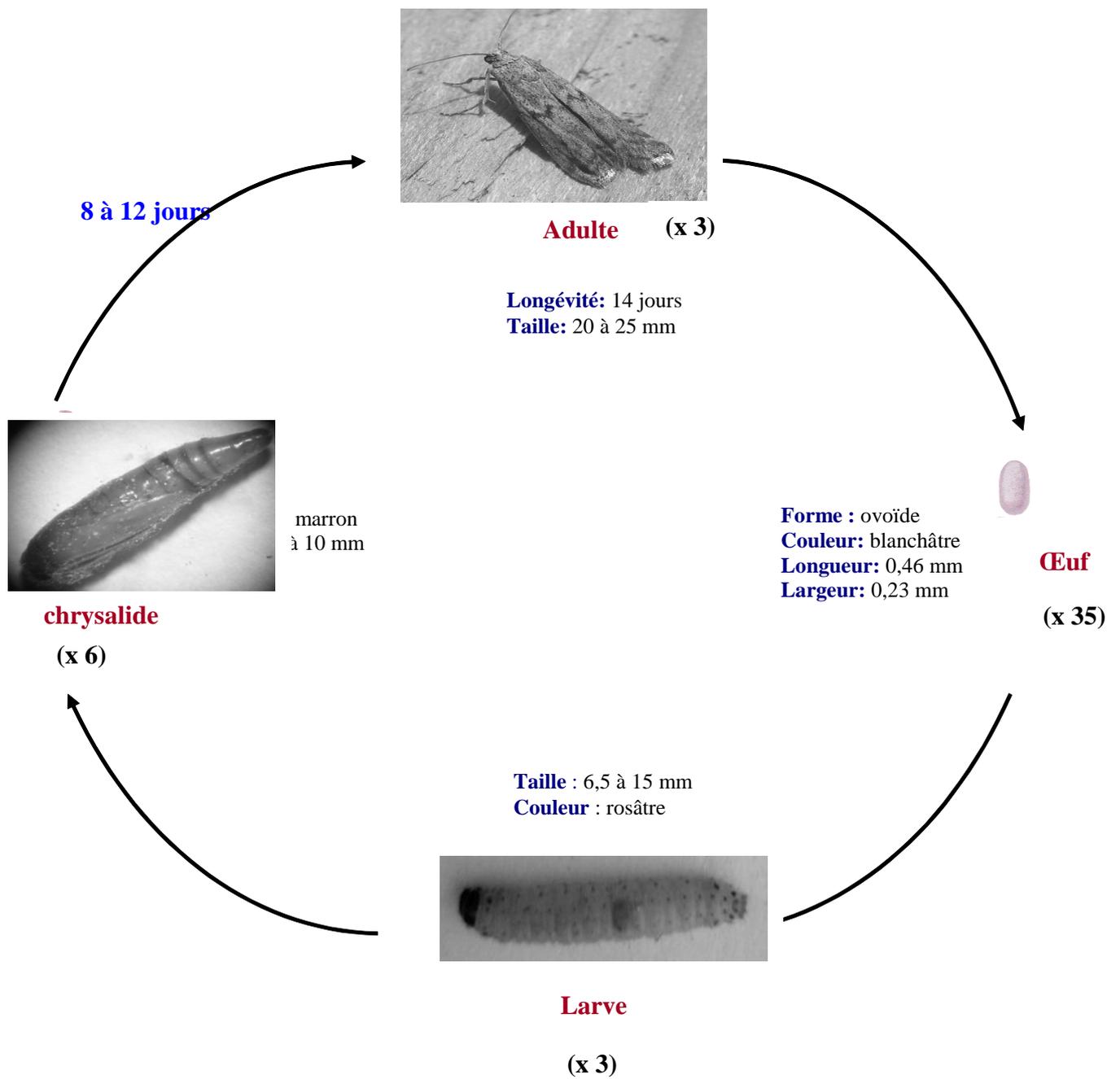
**\*La chrysalide :** les larves du dernier stade commencent à se nymphoser en tissant une enveloppe de soie « cocon » contenant des substances nutritives dans laquelle elle évoluera pendant 8 à 12 jours donnant un stade immobile. Elle est de couleur brune et mesure environ 8 à 9 mm de long.

**\*L'adulte :** Il est de couleur grise et mesure 10 à 12 mm d'envergure. Il est formé par deux paires d'ailes, deux ailes antérieures grisâtres avec des points noirs et deux ailes postérieures blanchâtres finement frangées. Sa longévité est de 14 jours.

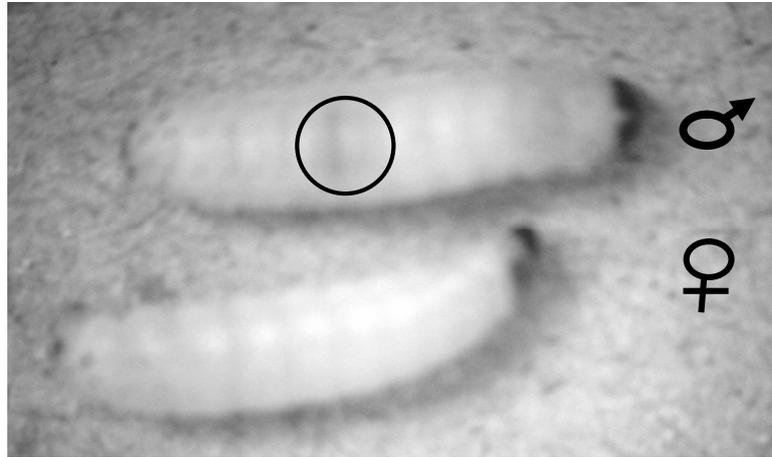
La finalité de la vie adulte est la reproduction, les mâles meurent en général quelques jours après l'accouplement ; les femelles après la ponte.

## **2.2 – Technique d'élevage**

L'élevage est réalisé au laboratoire à une température de 25°C et une humidité relative de 80% (Payne, 1966). Les individus d'*Ephestia kuehniella* sont déposés dans des jarres en verre contenant de la farine et recouvertes par un morceau de tulle maintenu par un élastique. Les larves du dernier stade récoltées à la surface du tulle, sont séparées en fonction de leur sexe. Les mâles sont déposées dans des boîtes en plastique contenant de la farine et du papier plissé pour qu'elles puissent se nymphoser. L'élevage est suivi quotidiennement et les chrysalides nouvellement exuviées (0 jours) sont utilisées pour l'expérimentation.



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



**Figure3** : Distinction des sexes mâle (♂) et femelle (♀) d'*E.kuehniella*. (x10)  
(Le cercle représente la paire de testicules)

## **2.3 – Application des insecticides**

### **2.3.1 – présentation des insecticides**

Nous avons testé l'effet de deux mimétiques de l'hormone de mue, le méthoxyfénozide (RH-2485) et le tébufénozide (RH-5992) sur les taux des métabolites testiculaires (glucides, lipides et protéines) et les Acides nucléiques (ADN et ARN) chez *Ephestia kuehniella* (Zeller).

Le RH-2485 ou méthoxyfénozide est le nom commun du N-tert-Bentyl-N'-(3-méthoxy-o-tolwoyl)-3.5-xylohydrazide. Sa formule empirique est :  $C_{22}H_{28}N_2O_3$  et son poids moléculaire est de 368.47g. Il appartient à la catégorie des insecticides du groupe des bisacylhydrazines qui sont des agonistes de deuxième génération de l'ecdysone. Il agit principalement par ingestion chez les larves de lépidoptère. Son effet a été observé *in vivo* sur le développement et la reproduction, il perturbe également la croissance des ovocytes et la production d'ecdystéroïdes (Dhadialle *et al.*, 2005).

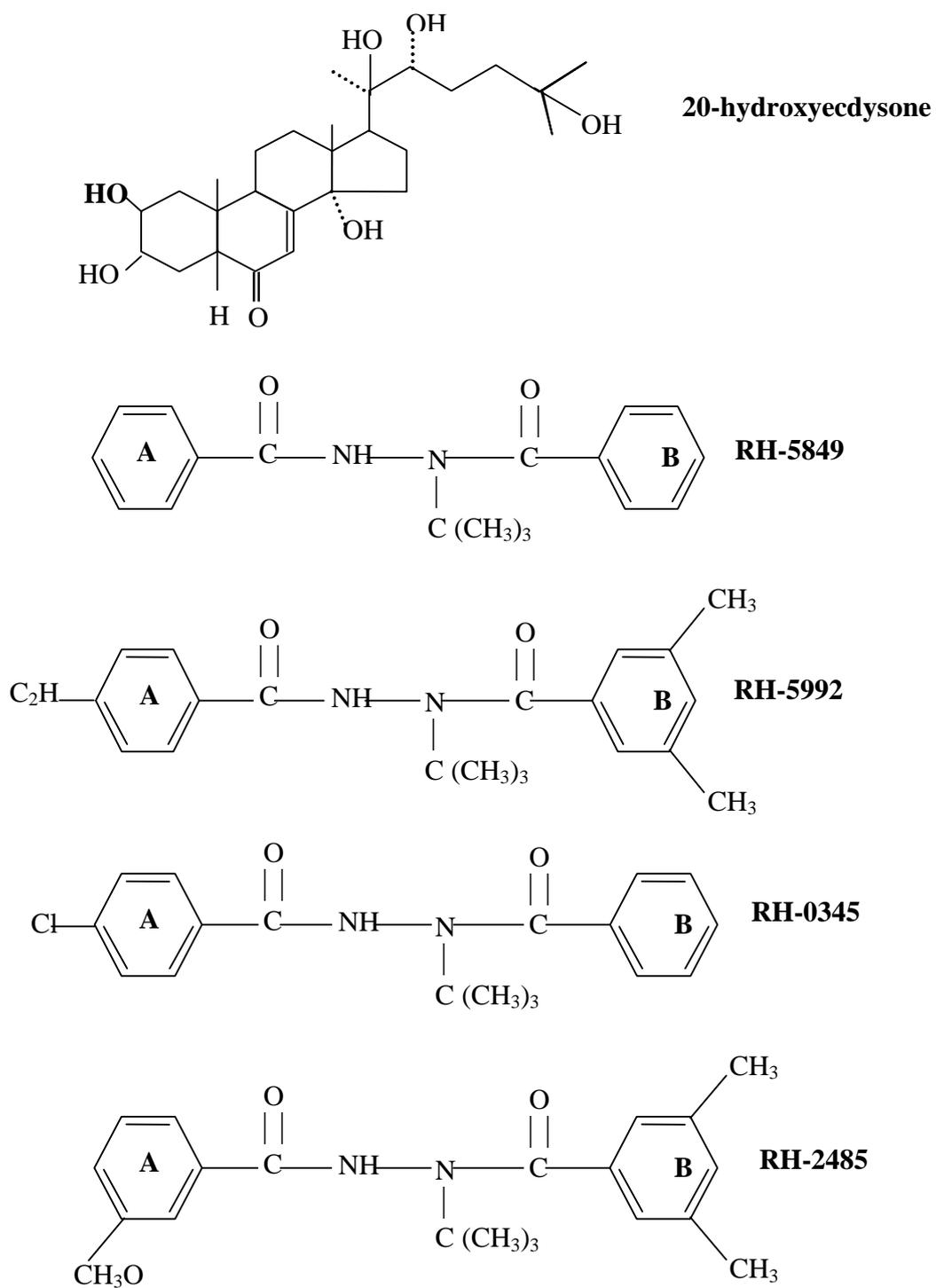
Le tébufénozide RH-5992, c'est le nom commun du N-tert-butyl-N'-(4éthylhydrazine-3-5-diméthyl-benzohylhydrazine), sa formule empirique est :  $C_{22}H_{28}O_2$  et son poids moléculaire est de 352,48. Il interfère avec l'expression de certains gènes de la sécrétion cuticulaire (Retnakaran *et al.*, 1995 ; Dhadialla *et al.*,1998). Il est particulièrement active contre les lépidoptères (Chandler *et al.*, 1992 ; Smaghe et degheel, 1994 ; Retnakaran *et al.*,1995) (Figure4).

### **2.3.2. Traitement**

Le RH-2485 et le RH-5992 ont été utilisés par application topique respectivement aux doses de 0.01 µg et 0,005 µg, pour une inhibition de 50 (DL50). Ces deux insecticides ont été dilués dans l'acétone et 2 µl ont été déposés sur la face ventrale de l'abdomen des chrysalides mâles nouvellement exuvies.

## **2- 4 Détermination du potentiel reproducteur**

Après traitement avec la DL 50 du méthoxyfénozide RH-2485 et le tébufénozide RH-5992 sur des chrysalides mâles nouvellement exuvies on mesure plusieurs paramètres du potentiel reproducteur, à savoir :



**Figure 4 :** Formules de structure de l'hormone de mue et de quelques agonistes des ecdystéroïdes

- ★ La période de préoviposition : déterminée par le nombre de jours séparant l'émergence et le début de la ponte.
- ★ La période d'oviposition : déterminée par la durée (en jour) de la ponte.
- ★ La fécondité des femelles : c'est le nombre d'œufs total pondus par une femelle durant la période d'oviposition.
- ★ La viabilité des œufs : c'est le nombre d'œufs éclos parmi la totalité des œufs pondus par une femelle.
- ★ La durée du développement embryonnaire : déterminée par la durée (en jour) entre la ponte et l'éclosion de l'œuf.

## **2-5 Dissection et Prélèvement des testicules**

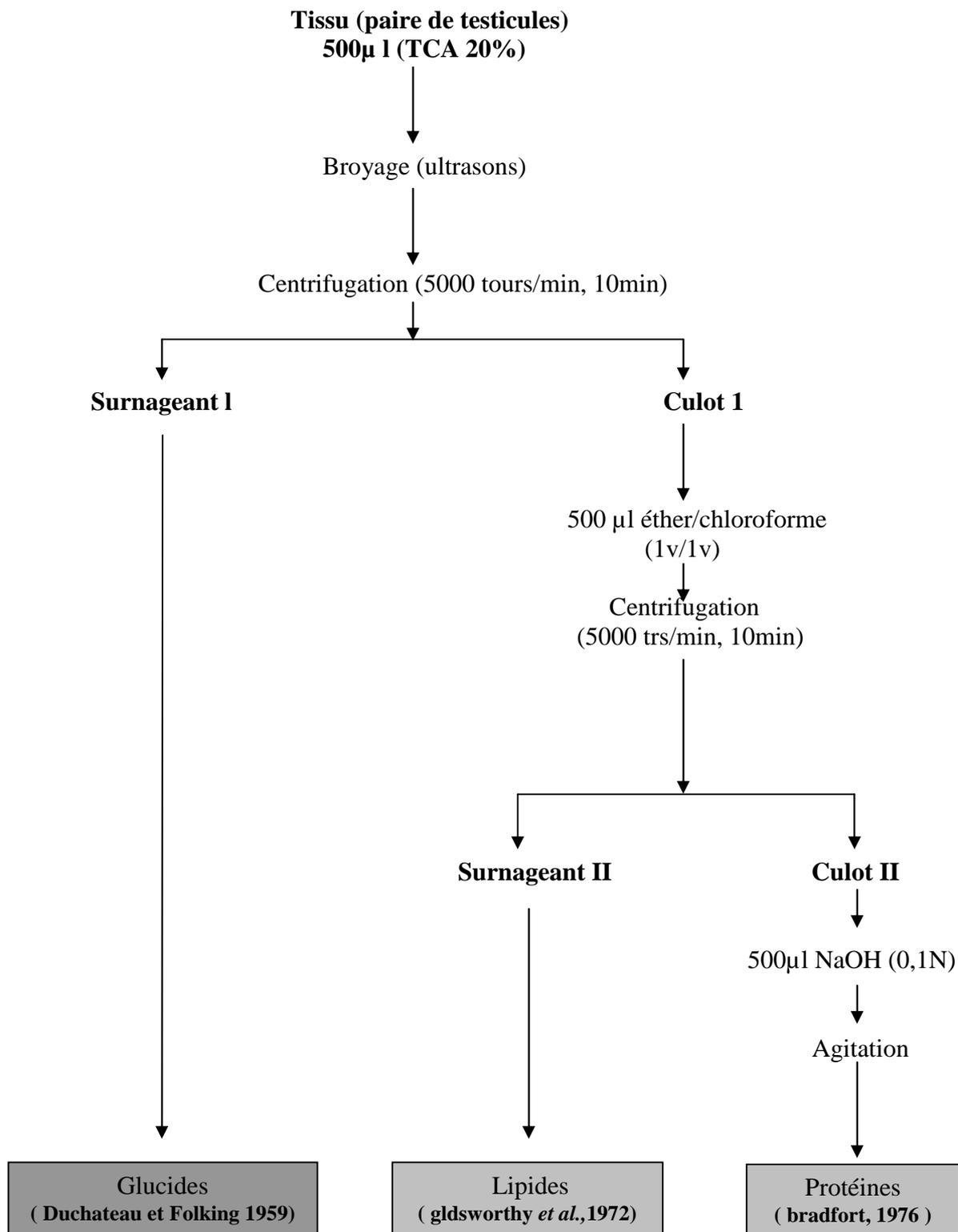
Dès leur émergence (0 jour), les adultes traités et témoins sont disséqués sous une loupe binoculaire, fixé sur le ventre par une aiguille sur une boîte de paraffine. Les pattes et les ailes sont coupées à l'aide de microciseaux, l'abdomen est coupé et les testicules sont prélevés avec une pince et déposés dans des tubes éppendorf contenant 500 µl d'acide trichloracétique (TCA) à 20% pour l'extraction des métabolites, et 500µl d'eau distillée additionnée de 2µl phénylméthylsilfonyfluoride (PMSF: 45mg/ml d'éthanol) pour l'extraction des Acides nucléiques, puis stockés au congélateur jusqu'au jour du dosage.

## **2-6 Analyses biochimiques**

### **2. 6.1. Extraction des métabolites**

L'extraction des métabolites à été réalisée selon la méthode de shibko *et al.*, (1966) sur les testicules des séries témoins et traitées.

Les testicules sont broyés dans 500 µl de TCA (20%) à l'aide d'un homogénéiseur à ultrasons et centrifugés à 5000trs/min pendant 10min, le premier surnageant est récupéré et servira au dosage des glucides totaux, le culot I additionné de 500 µl d'un mélange éther/ chloroforme (v/v, 1/1) a subi une deuxième centrifugation dans les mêmes conditions que précédemment afin de récupérer le surnageant II, qui sera utilisé pour l'analyse quantitative des lipides, le culot II dissout dans 500 µl de soude (0.1N), permettra la quantification des protéines (figure 5).



**Figure 5:** principales étapes d'extraction des métabolites : glucides, lipides et protéines selon schibko *et al.*, 1966.

## 2.6.2. Dosage des métabolites

### 2.6.2.1 – Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides a été effectué selon la méthode de Duchateau et Florkin (1959) utilisant l'anthrone comme réactif (150 mg d'anthrone, 75 ml d'acide sulfurique concentré (96%) ,25 ml d'eau distillée) stockée à l'obscurité, et une solution mère de glucose (mg/ml d'eau distillée) comme standard (Tableau 1).

**Tableau 1** : réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des glucides.

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

Une fraction aliquote de 100 µl est prélevée de l'extrait glucidique (surnageant I), additionnée de 4 ml d'anthrone. Après agitation, les tubes sont chauffés au bain marie à 80°C pendant 10 min, il se développe ainsi une coloration verte dont l'intensité est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 620 nm contre un blanc de gamme.

### 2.6.2.2 – Dosage des lipides totaux

Les lipides ont été quantifiés selon la méthode de Glodsworthy *et al.* (1972) utilisant la vanilline comme réactif (0.38 g de vanilline, 55ml d'eau distillée, 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%) se conserve pendant 3 semaines à 4°C à l'obscurité. La solution mère de lipide est préparée en utilisant de l'huile de tournesol (huile de table), 2,5mg d'huile sont pesés et repris dans 1ml d'un mélange éther /chloroforme (1V/1V) (Tableau 2).

**Tableau 2**: Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des lipides

Tube	0	1	2	3	4	5
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Ether /chlorophorme (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif Vaniline(ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

Une fraction aliquote de 100  $\mu$ l de l'extrait lipidique de chaque échantillon est évaporée au bain sec à une température voisine de 60°C, puis additionnée de 1ml d'acide sulfurique concentré (96%).Après agitation, les tubes sont chauffés à 100 °C pendant 10 min, puis refroidis pendant 5mn et 200  $\mu$ l de chaque tube sont additionnés de 2,5ml de réactif sulfophosphanillique et on agite vigoureusement. Après 30 min à l'obscurité, il se forme un complexe rose dont les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 530 nm contre un blanc de gamme.

### 2.6.2.3 – Dosage des protéines totales

La quantification des protéines a été réalisée selon la méthode de Bradford (1976) utilisant le bleu brillant de coumassie (G250, Merck) comme réactif (100mg BBC ,50 ml d'éthanol absolu 95°, 100ml d'acide ortho phosphorique à 85% complété à 1000ml par de l'eau distillée) sa durée de conservation est de 2à 3 semaines à 4°C, et l'albumine de sérum de bœuf (BSA, Sigma) comme protéine standard à 1mg/ml (tableau 3).

**Tableau 3:** Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification des protéines

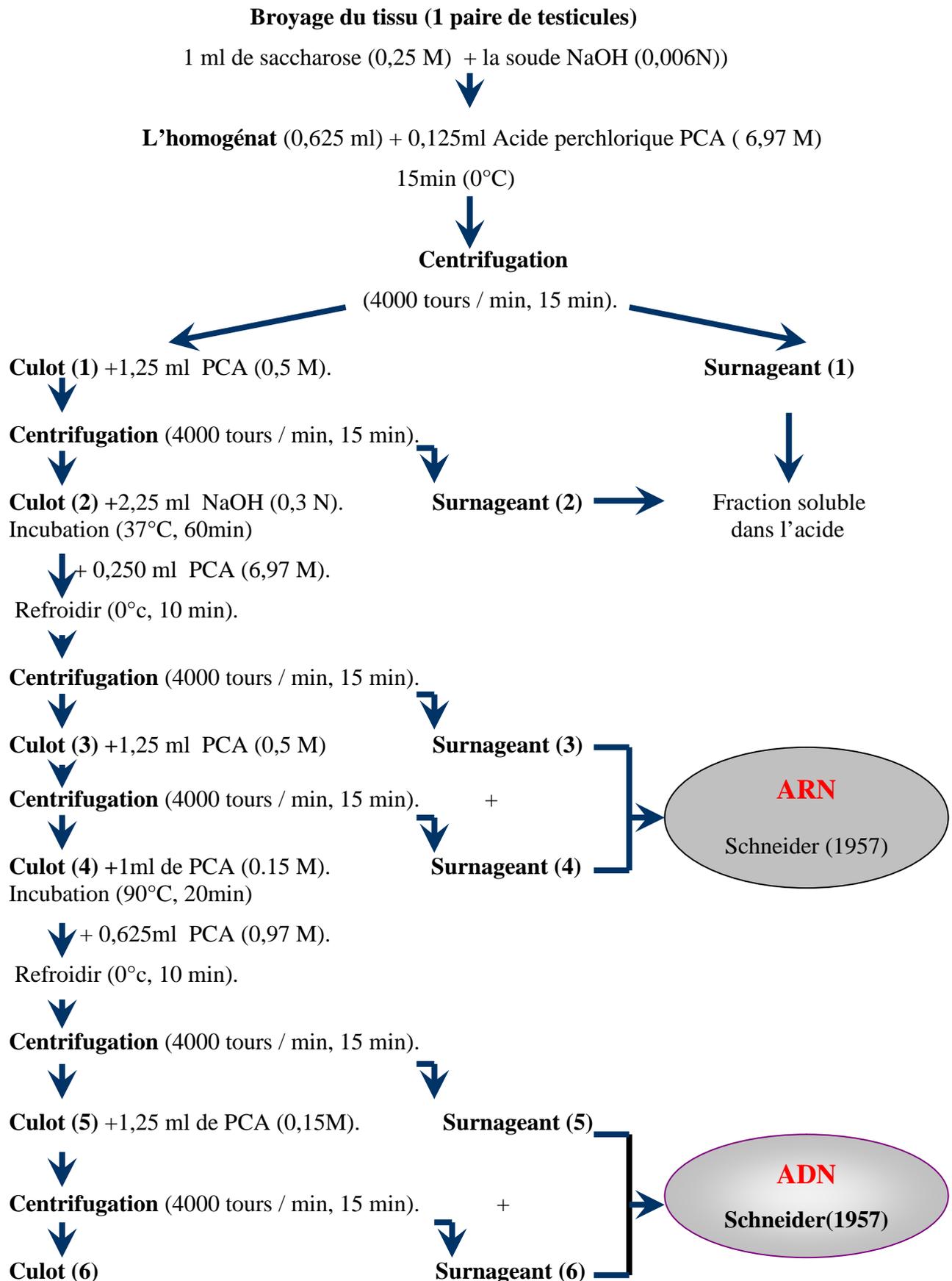
Tube	0	1	2	3	4	5
Solution (BSA) d'albumine ( $\mu$ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu$ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

Une fraction aliquote de 100 $\mu$ l de la gamme et de l'extrait protéique de chaque échantillon est additionnée de 4ml de réactif BBC.

Après agitation, il se développe une coloration bleue dont les absorbances sont lues dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm contre un blanc de gamme.

### 2.6.3 Extraction des acides nucléiques

Les testicules sont déposés dans des tubes d'ependorf contenant 500 $\mu$ l d'eau distillée additionnée de 2 $\mu$ l phénylméthylsilfonyfluoride (PMSF) (45mg de PMSF/1ml éthanol), puis stockés au congélateur à -20° jusqu'au jour du dosage. L'extraction est illustrée dans la figure 7.



**Figure6 :** Principales étapes d'extraction des acides nucléiques : ADN, ARN selon Shibko *et al.*, 1966.

## 2.6.4 Dosage des Acides nucléiques

### 2.6.4.1 Dosage de l'ARN

L'ARN a été quantifié selon la méthode de Schneider (1957) qui utilise l'orcinol comme réactif (0,5 g de FeCl<sub>3</sub>, 1g d'orcinol et 100 ml d'HCl) et une solution mère d'ARN extrait de levure de boulangerie comme standard (1 mg/ml d'eau distillée) (Tableau 4).

**Tableau 4** : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification du taux d'ARN.

Tubes	1	2	3	4	5
ARN standard (µl)	0	20	40	60	80
Eau distillée (ml)	1,5	1,48	1,46	1,44	1,42
Orcinol (ml)	1,5	1,5	1,5	1,5	1,5

Les tubes après agitation, sont chauffés au bain marie à 90°C pendant 20 minutes. Il se forme une coloration bleu clair.

Le dosage de l'ARN a été effectué sur des fractions aliquotes 100µl des extraits biologiques. auquel est additionné 1,5 ml de réactif d'orcinol. Les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 660 nm contre un blanc de gamme.

### 2.6.4.2 Dosage de l'ADN

L'ADN a été quantifié selon la méthode de Scheneider (1957) qui utilise le diphenylamine comme réactif (1g de diphenylamine, 100 ml d'acide acétique glacial, 2,75 ml d'acide sulfurique) et une solution mère d'ADN extrait de thymus de veau comme standard (1 mg/ml d'eau distillée) (Tableau 5).

**Tableau 5** : Réalisation de la gamme d'étalonnage pour la quantification du taux d'ADN.

Tubes	1	2	3	4	5
ADN standard (µl)	0	20	40	60	80
Eau distillée (µl)	500	480	460	440	420
Diphénylamine (ml)	1	1	1	1	1

Après chauffage au bain marie pendant 20 minutes à 90°C, il se développe alors une coloration rosâtre.

Le dosage de l'ADN est effectué sur des fractions aliquotes (100µl) des extraits biologiques auquel est additionné 1 ml de réactif de diphénylamine.

Les absorbances sont lues dans un à une longueur d'onde de 602 nm contre un blanc de gamme.

### **3 – Analyse statistique**

La comparaison des résultats a été déterminée à partir des droites de régression des différentes courbes d'étalonnage par le logiciel Minitab. (Weisberg. 2003).

Les données de nos résultats sont exprimées par la moyenne plus ou moins l'écart type ( $m \pm s$ ). Les moyennes des différentes séries sont comparées deux à deux en utilisant le test de Student avec un seuil de signification  $P \leq 5\%$ .

## 4- Résultats

### 4-1 Effets du RH-2485 et RH-5992 sur le potentiel reproducteur

L'élevage des couples d'*Ephestia kuehniella* nous a permis de suivre de près plusieurs paramètres de leur potentiel reproducteur.

Après suivi de nos expérimentations, nos résultats montrent que le RH-5992 et RH-2485 présente des effets différents sur les paramètres d'étude :

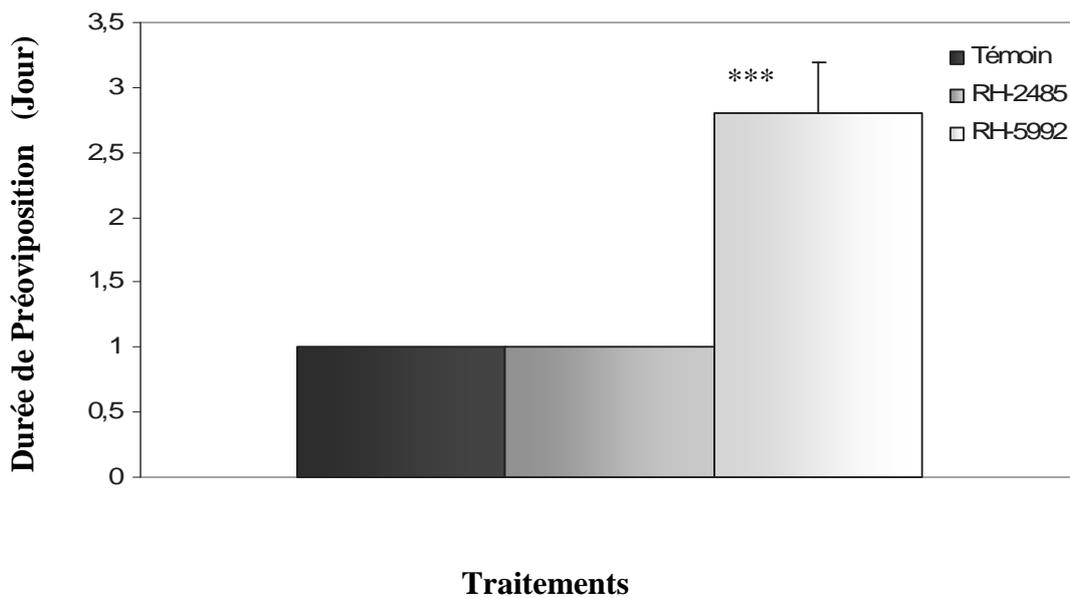
L'administration du RH-5992 par application topique à des chrysalides mâles nouvellement exuviées, prolonge la période de préoviposition chez les femelles. Les résultats révèlent une différence très hautement significatifs ( $P=0,001$ ) avec le témoin et le traité avec le RH-2485 (Tableau 6, Figure 7).

Le traitement avec le RH-2485 n'induit aucun effet sur le paramètre précédent, mais exerce un effet sur la viabilité des œufs ce traduisant par une diminution hautement significative ( $P=0,003$ ) (Tableau 9, Figure 10).

Nous devons signalés que les deux traitements (RH-2485 et RH-5992) n'exercent aucun effet significatif sur l'oviposition, la fécondité et la durée d'éclosion des oeufs. Pour ses trois paramètres l'étude statistique ne révèle aucune différence significative entre les témoins et les traités. (Tableau 7 Figure 8), (Tableau 8, Figure 9), (Tableau 10, Figure 11).

**Tableau 6 :** Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' *Ephestia kuehniella* (Z), sur la durée (jour) de préoviposition ( m  $\pm$  s, n=5).

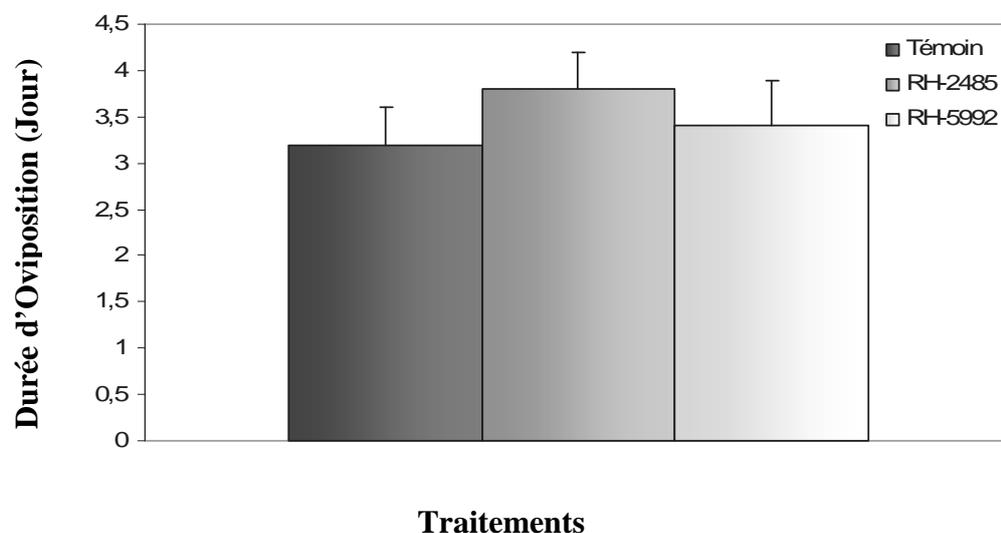
Traitements	Témoin	RH-2485	RH-5992
Période de préoviposition	1,00 $\pm$ 0,00	1,00 $\pm$ 0,00	2,8 $\pm$ 0,40***
Seuil de signification		P=1,00	P=0,001



**Figure 7** Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' *Ephestia kuehniella* (Z), sur la durée (jour) de préoviposition ( m  $\pm$  s, n=5).

**Tableau 7 :** Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' *Ephestia kuehniella* (Z), sur la durée (jour) d'oviposition (  $m \pm s$ , n=5).

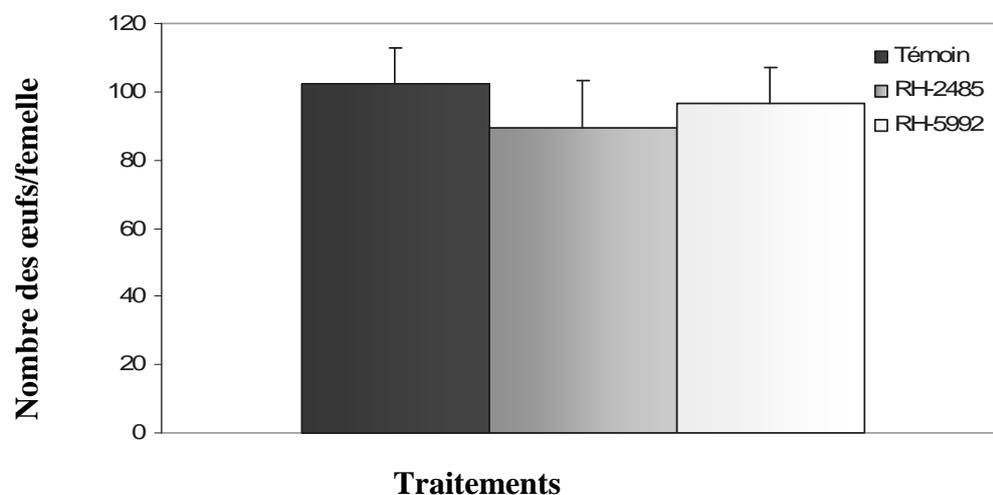
Traitements	Témoin	RH-2485	RH-5992
Période d'oviposition	3,2 ± 0,4	3,8 ± 0,40	3,4 ± 0,49
Seuil de signification		P=0,06	P=0,5



**Figure 8 :** Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' *Ephestia kuehniella* (Z), sur la durée (jour) d'oviposition (  $m \pm s$ , n=5).

**Tableau 8 :** Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' *Ephestia kuehniella* (Z), sur la fécondité des femelles (nombre d'œufs) (  $m \pm s$ , n=5).

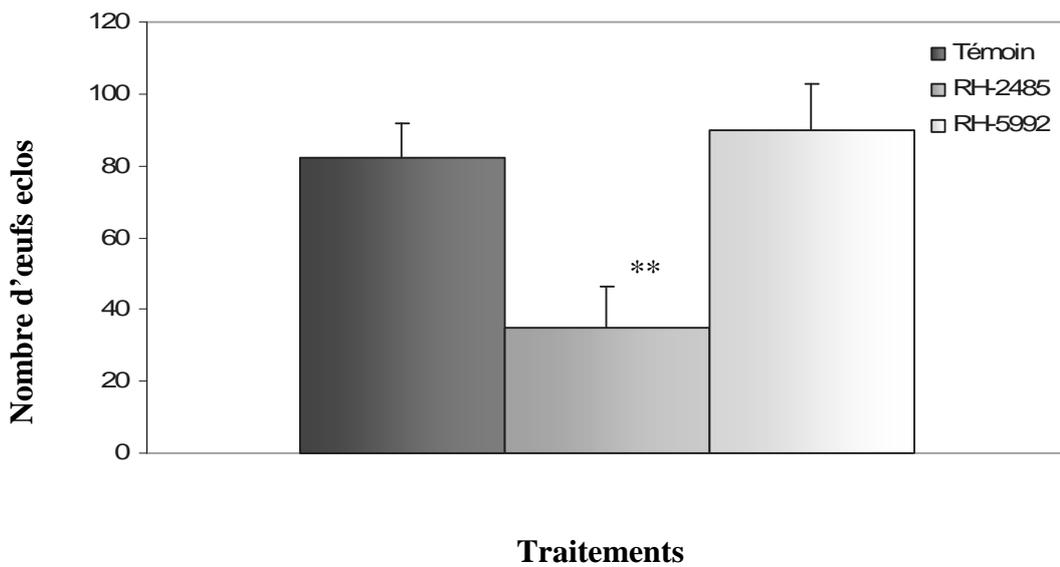
Traitements	Témoin	RH-2485	RH-5992
Fécondité (œufs/femelle)	102,25 ± 10,70	89,5 ± 11,70	96,66 ± 10,53
Seuil de signification		P=0,26	P=0,59



**Figure 9:** Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' *Ephestia kuehniella* (Z), sur la fécondité des femelles (nombre d'œufs) (  $m \pm s$ , n=5).

**Tableau 9 :** Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' *Ephestia kuehniella* (Z), sur la viabilité des oeufs (  $m \pm s$ , n=5).

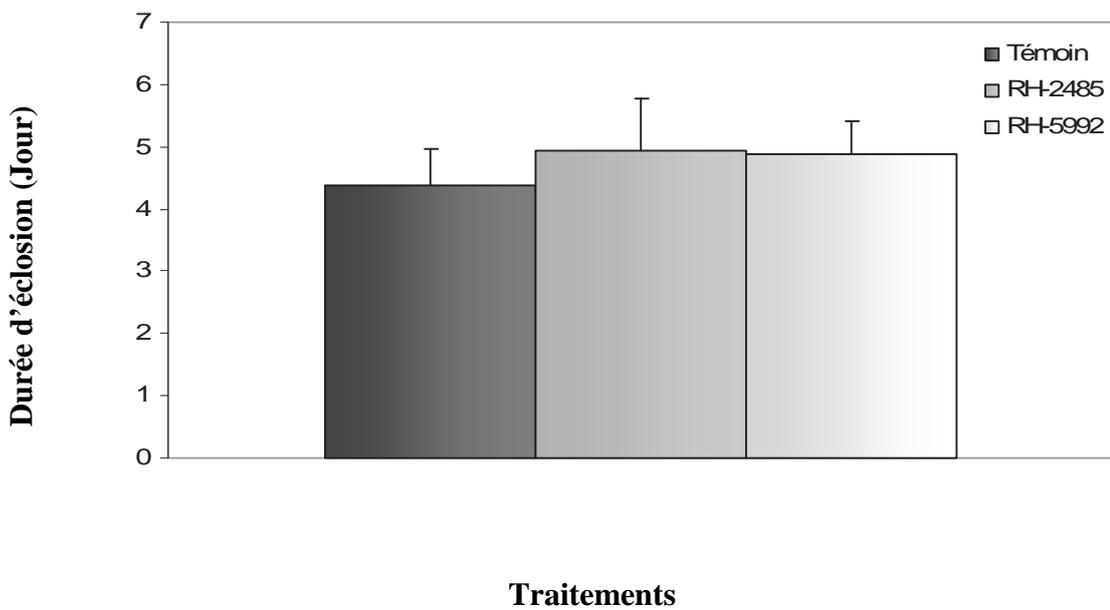
Traitements	Témoin	RH-2485	RH-5992
Nombre d'œufs éclos	82,00± 9,82	34,75 ± 11,64	90,00 ± 12,74
Seuil de signification		P=0,003	P=0,4



**Figure 10 :** Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' *Ephestia kuehniella* (Z), sur la viabilité des oeufs (  $m \pm s$ , n=5).

**Tableau 10** : Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' *Ephestia kuehniella* (Z), sur la durée du développement embryonnaire (  $m \pm s$ , n=5).

Traitements	Témoïn	RH-2485	RH-5992
Durée d'éclosion	4,38 $\pm$ 0,56	4,93 $\pm$ 0,83	4,87 $\pm$ 0,54
Seuil de signification		P=0,38	P=0,33



**Figure 11** : Effet du RH-2485 et RH-5992 administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles d' *Ephestia kuehniella* (Z), sur la durée du développement embryonnaire (  $m \pm s$ , n=5).

## **4-2 Effets du RH-2485 et RH-5992 sur les métabolites testiculaires**

Afin de déterminer l'effet du méthoxyfénozide (RH-2485) et tébufénozide (RH-5992) sur les métabolites testiculaires, les teneurs en glucide, lipide et protéine ont été dosées sur des mâles adultes d'*Ephestia kuehniella*. Les courbes d'étalonnage exprimant l'Absorbance en fonction des quantités de métabolites standards nous permettrons d'estimer leurs valeurs sur les mâles traités et non traités.

### **4-2-1 Effet sur le taux des glucides testiculaires**

Les résultats sont obtenus à partir de la courbe d'étalonnage exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucose comme standard (Tableau 10, Figure 12). Ils montrent que l'administration du RH-2485 n'entraîne aucune différence significative par rapport au témoin. Une élévation du taux des glucides a été observée lorsque les chrysalides mâles sont traitées avec le RH-5992. Statistiquement ce résultat révèle une différence hautement significative ( $P=0,008$ ). (Tableau 11, Figure 13)

### **4-2-2 Effet sur le taux des lipides testiculaires**

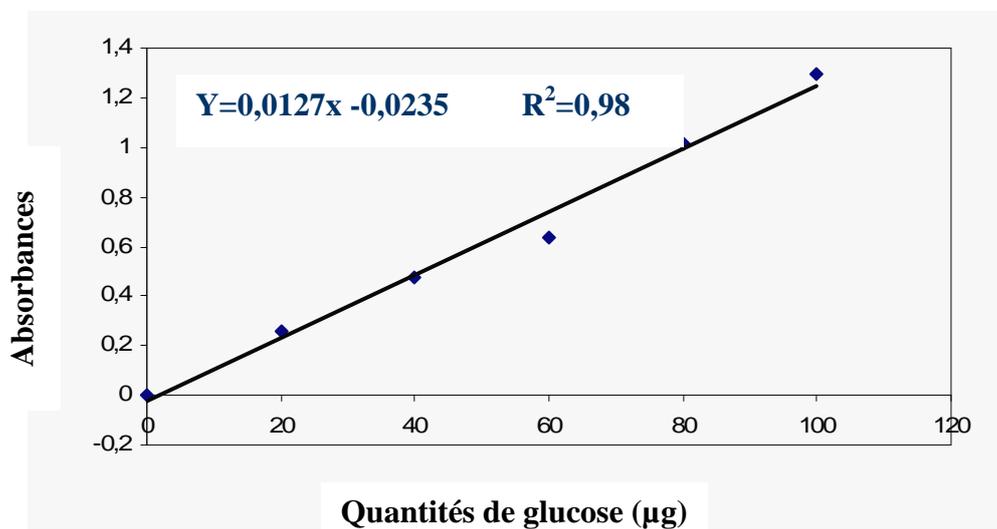
Les quantités des lipides sont estimées à partir de la courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction des quantités des lipides standards (Tableau 12, Figure 14). Les résultats ne montrent aucune différence significative entre les témoins et les traités. (Tableau13, Figure 15)

### **4-2-3 Effet sur le taux des protéines testiculaires**

L'effet de RH-2485 et RH-5992 sur les taux des protéines testiculaires déterminés à partir de la courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction des quantités d'albumine comme protéine standard (Tableau 14, Figure 16) ne révèlent après étude statistique aucun effet significative. (Tableau 15, Figure 17).

**Tableau 11** : Dosage des glucides : réalisation de la gamme d'étalonnage ( $m \pm S$ ;  $n= 3$ )

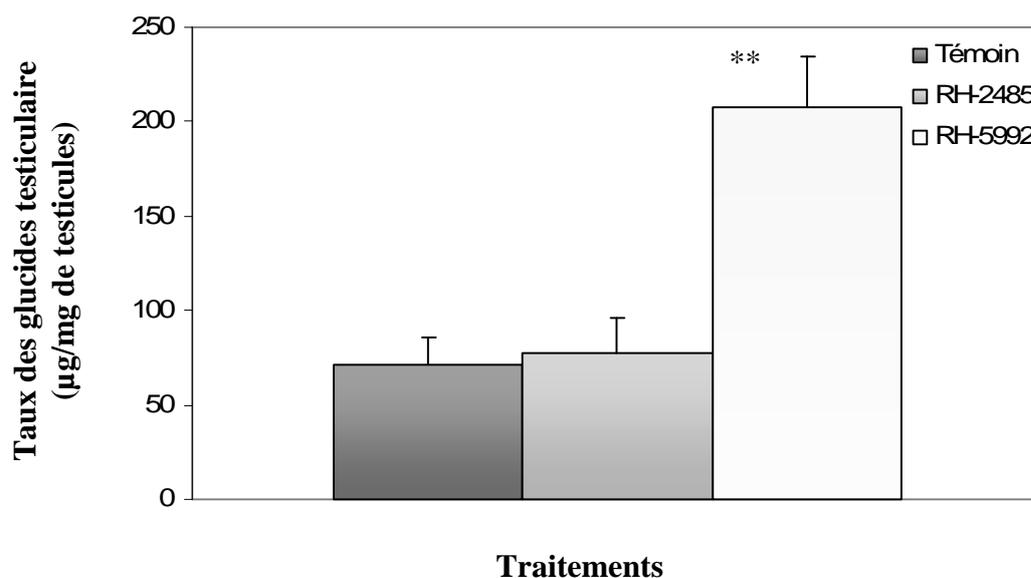
<b>Quantité du glucose (<math>\mu\text{g}</math>)</b>	0	20	40	60	80	100
<b>Absorbances</b>	0	0,256	0,476	0,634	1,018	1,293



**Figure 12** : Dosage des glucides : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de glucose ( $\mu\text{g}$ ). ( $R^2$  : coefficient de détermination).

**Tableau 12 :** Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des glucides testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de testicules) chez les adultes *d'E. kuehniella* ( $m \pm s$ ;  $n=3$ ).

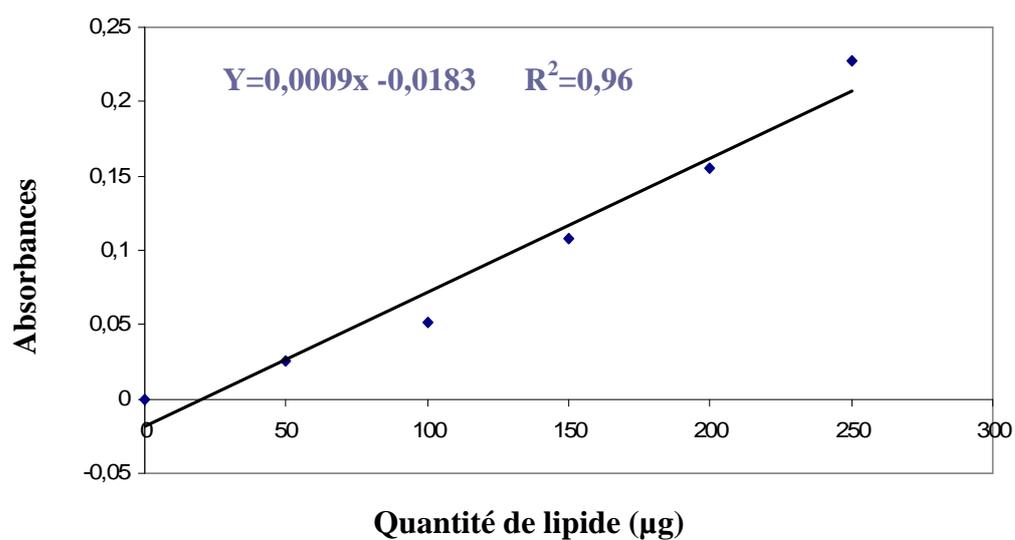
Traitement	Témoins	RH-2485	RH-5992
$m \pm s$	$71,41 \pm 14,05$	$77,38 \pm 18,51$	$207,65 \pm 26,75^{**}$
Seuil de signification		$P = 0,7$	$P = 0,008$



**Figure 13 :** Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des glucides testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de testicules) chez les adultes *d'E. kuehniella* ( $m \pm s$ ;  $n=3$ ).

**Tableau 13** : Dosage des lipides : réalisation de la gamme d'étalonnage ( $m \pm s$ ;  $n= 3$ )

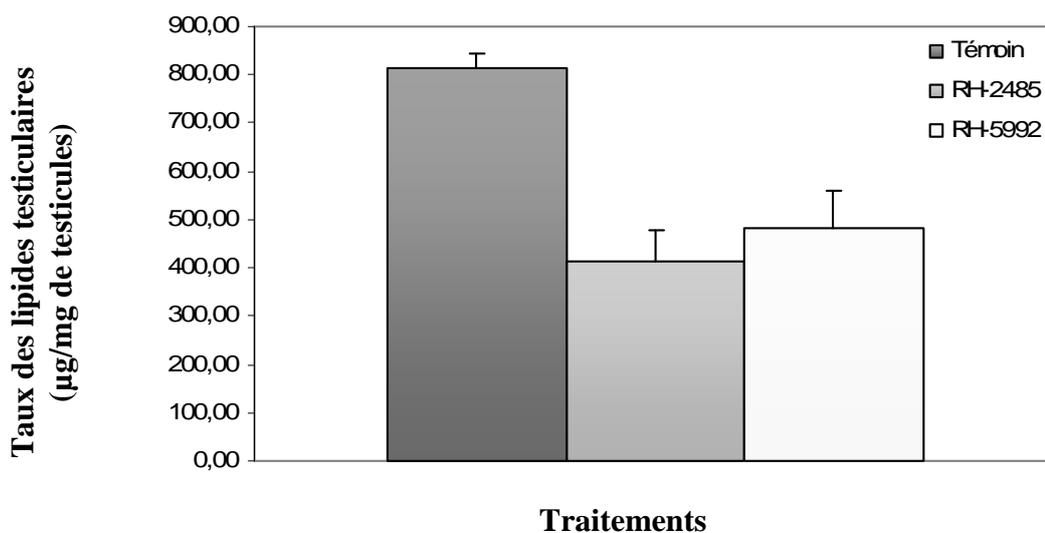
<b>Quantité de lipides (<math>\mu\text{g}</math>)</b>	0	50	100	150	200	250
<b>Absorbances</b>	0	0,026	0,051	0,108	0,155	0,227



**Figure 14** : Dosage des lipides : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités de lipides ( $\mu\text{g}$ ). ( $R^2$  : coefficient de détermination).

**Tableau 14 :** Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des lipides testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de testicules) chez les adultes d'*E. kuehniella*. ( $m \pm s$ ;  $n = 3$ ).

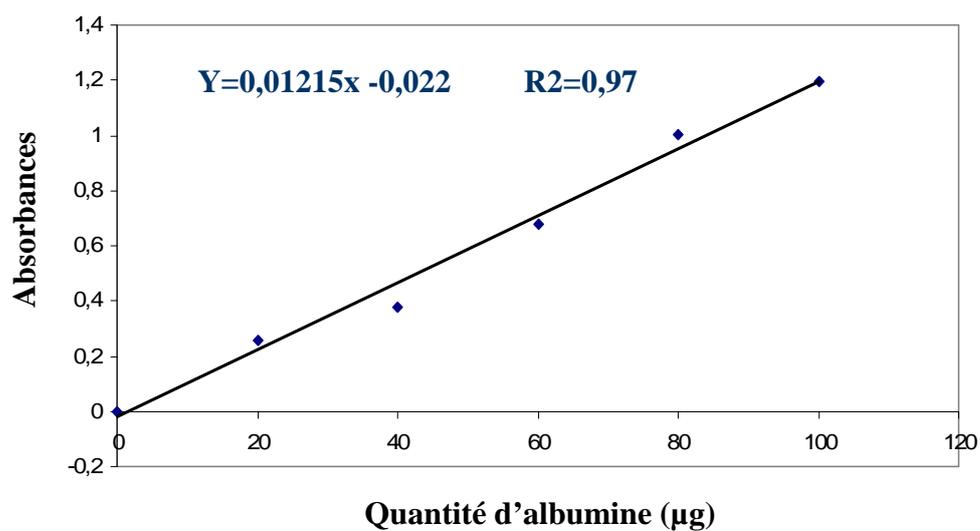
Traitement	Témoins	RH-2485	RH-5992
$m \pm s$	$813,58 \pm 32,25$	$415,13 \pm 63,42$	$482,60 \pm 75,70$
Seuil de signification		$P = 0,006$	$P = 0,002$



**Figure 15 :** Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des lipides testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de testicules) chez les adultes d'*E. kuehniella* ( $m \pm s$ ;  $n = 3$ ).

**Tableau 15** : Dosage des protéines : réalisation de la gamme d'étalonnage, ( $m \pm s$ ;  $n= 3$ ).

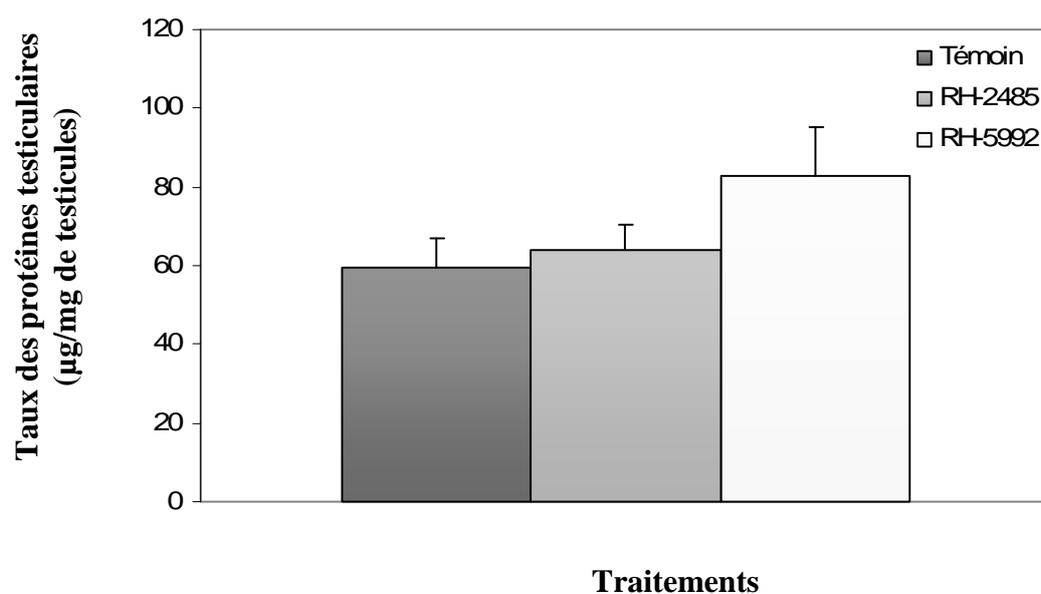
Quantité d'albumine ( $\mu\text{g}$ )	0	20	40	60	80	100
Absorbances	0	0,259	0,378	0,677	1,006	1,193



**Figure 16**: Dosage des protéines : droite de régression exprimant les absorbances en fonction des quantités d'albumine ( $\mu\text{g}$ ). ( $R^2$  : coefficient de détermination)

**Tableau 16 :** Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des protéines testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de testicules) chez les adultes d'*E. kuehniella* ( $m \pm s$ ;  $n = 3$ ).

Traitement	Témoins	RH-2485	RH-5992
$m \pm s$	$59,73 \pm 7,43$	$64,17 \pm 6,08$	$82,73 \pm 12,51$
Seuil de signification		$P = 0,5$	$P = 0,1$



**Figure 17 :** Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des protéines testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de testicules) chez les adultes d'*E. kuehniella* ( $m \pm s$ ;  $n = 3$ ).

## **4-3 Effets du RH-2485 et RH-5992 sur les Acides Nucléiques testiculaires**

### **4-3-1 Effet sur le taux d'ADN**

La détermination des quantités d'ADN a été réalisée à partir des courbes de références exprimant l'absorbance en fonction des quantités d'ADN. (Tableau 16, Figure 19)

Comparativement au taux témoin, l'ADN testiculaire a été affecté par RH-2485 et RH-5992 d'une manière significative où on remarque respectivement une diminution et élévation du taux d'ADN. (Tableau17, Figure 20).

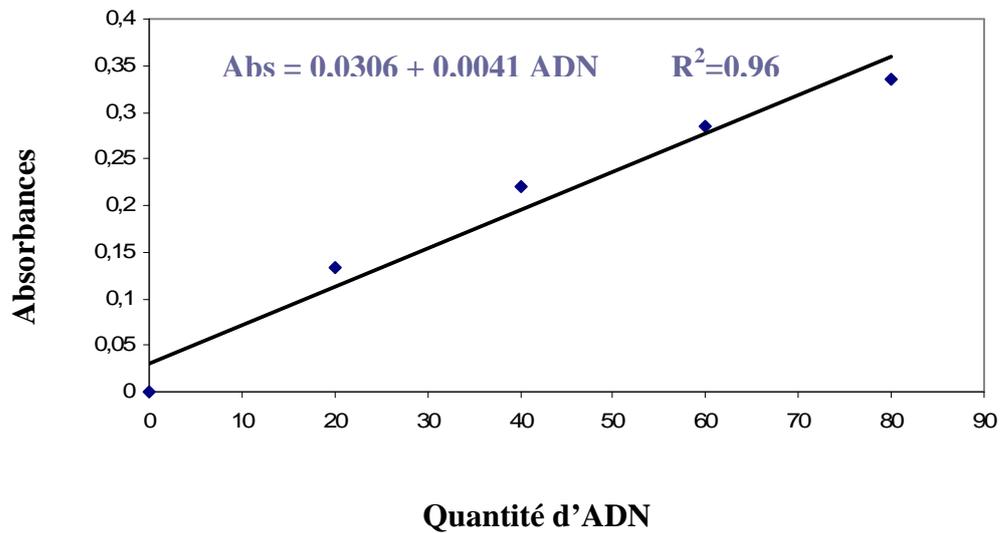
### **4-3-2 Effet sur le taux d'ARN**

La détermination des quantités d'ARN a été réalisée à partir des courbes de références exprimant l'absorbance en fonction des quantités d'ARN. (Tableau 18, Figure 21)

La comparaison entre les séries témoins et traités montre que les RH-2485 et RH-5992 n'ont aucun effet significatif sur le taux d'ARN testiculaire. (Tableau 19, Figure 22).

**Tableau 17:** Dosage d'ADN : réalisation de la gamme d'étalonnage ( $m \pm s$ ,  $n=3$ )

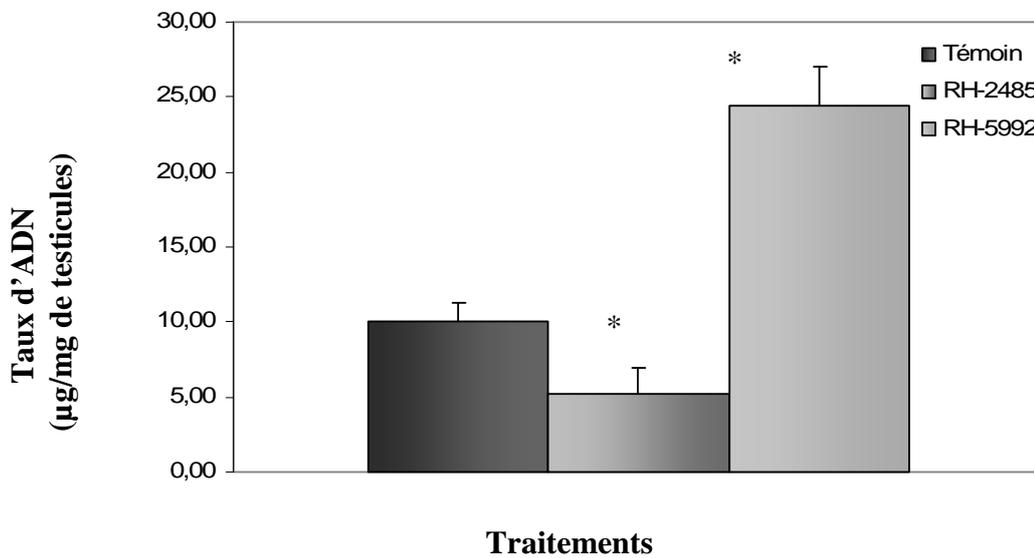
<b>Quantité d'ADN (<math>\mu\text{g}</math>)</b>	0	20	40	60	80
<b>Absorbances</b>	0	0,134	0,221	0,285	0,336



**Figure 18 :** Courbe d'étalonnage des Absorbances en fonction des Quantités des ADN ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2 =$  coefficient de corrélation).

**Tableau 18 :** Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ADN testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de testicules) chez les adultes d'*E. kuehniella*. ( $m \pm s$ ;  $n = 3$ ).

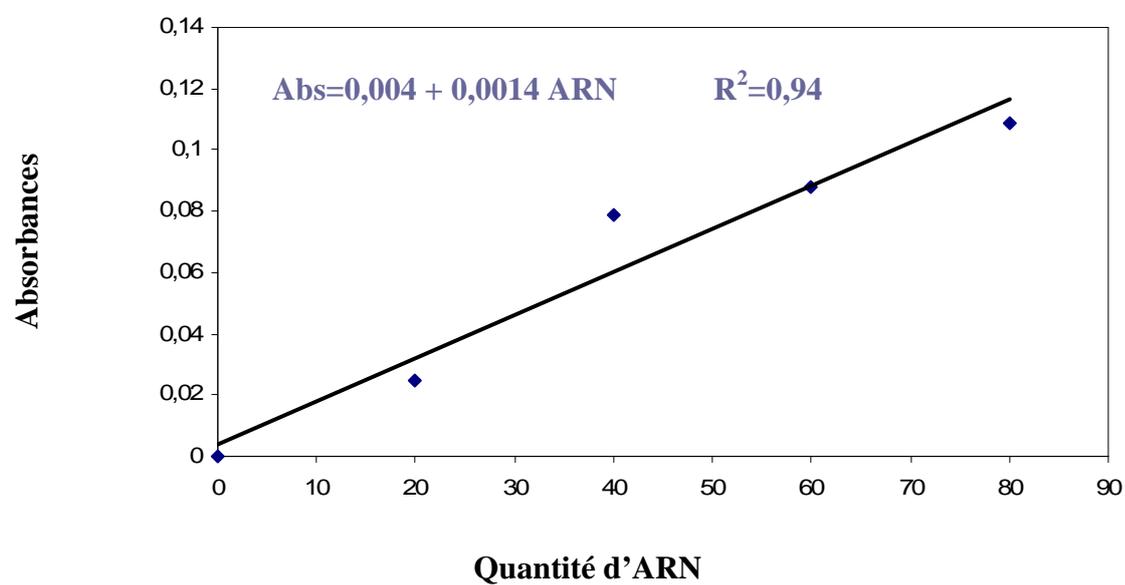
Traitement	Témoins	RH-2485	RH-5992
$m \pm s$	$10,08 \pm 1,16$	$5,20 \pm 1,73^*$	$24,43 \pm 2,62^*$
Seuil de signification		$P = 0,045$	$P = 0,019$



**Figure 19 :** Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ADN testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de testicules) chez les adultes d'*E. kuehniella* ( $m \pm s$ ;  $n = 3$ ).

**Tableau 19:** Dosage d'ARN : réalisation de la gamme d'étalonnage ( $m \pm s$ ,  $n=3$ )

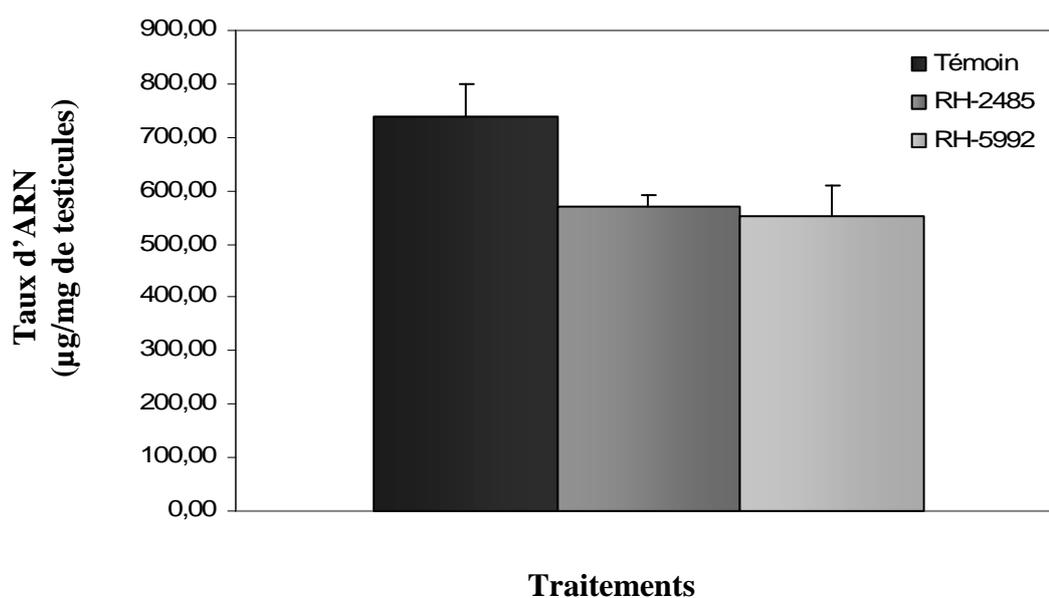
<b>Quantité d'ARN (<math>\mu\text{g}</math>)</b>	0	20	40	60	80
<b>Absorbances</b>	0	0,025	0,079	0,088	0,109



**Figure 20 :** Courbe d'étalonnage des Absorbances en fonction des Quantités des ARN ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ = coefficient de corrélation).

**Tableau 20 :** Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ARN testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de testicules) chez les adultes d'*E. kuehniella*. ( $m \pm s$ ;  $n = 3$ ).

Traitement	Témoins	RH-2485	RH-5992
$m \pm s$	737,19 $\pm$ 61,51	568,41 $\pm$ 23,91	552,52 $\pm$ 58,61
Seuil de signification		P =0,069	P = 0,057



**Figure 21 :** Effet des deux agonistes des ecdystéroïdes (RH-2485, RH-5992) administrés par application topique à l'émergence des chrysalides mâles sur le taux des ARN testiculaires ( $\mu\text{g}/\text{mg}$  de testicules) chez les adultes d'*E. kuehniella* ( $m \pm s$ ;  $n = 3$ ).

## 5-Discussion

Les fonctions et l'importance de l'ecdysone dans la biologie reproductive des insectes varient grandement d'une espèce à l'autre, reflétant ainsi les divers modes de reproduction déployés par ces organismes.

Au niveau fondamental, ces recherches permettent entre autres d'augmenter les connaissances des multiples rôles de l'ecdysone dans le développement, la métamorphose et la physiologie de la reproduction (Renée Dallaire, 2003)

### 5-1 Effets du méthoxyfénoside (RH-2485) et tébufénoside (RH-5992) sur le potentiel reproducteur

La reproduction varie selon la physiologie des animaux et dépend de divers facteurs tels que la quantité de la nourriture et la température de l'élevage. Elle met en jeu de nombreux mécanismes qui permettent la localisation, la reconnaissance du partenaire sexuel et l'accouplement entre deux individus de la même espèce, afin d'engendrer des descendances viables et fertiles. (Weaver Mc Farlane, 1990).

L'étude du RH-5992 et RH-2485 confère plusieurs avantages tant au niveau de la recherche appliquée qu'au niveau de la recherche fondamentale, puisque ces analogues de la croissance sont employés dans le but de contrôler les populations d'insectes. (Rachedi, 2002 ; Jenifer A, 2003 ; Hami, 2004 ; Bruce A Barrett, 2008).

Notre présente étude réalisée dans des conditions expérimentales, montre que l'administration de ses deux insecticides prolonge respectivement de manière très hautement significative la période de préoviposition et diminue de manière hautement significative la viabilité des œufs chez les femelles adulte d'*Ephestia kuehniella*.

En effet, des études réalisées chez plusieurs espèces appartenant à différentes familles (Crambidae, Noctuidae, Pyralidae et Tortricidae) ont démontré que le tébufénoside réduisait la fertilité des mâles avec une chute du nombre d'eupyrènes chez certains lépidoptères dont *Helicoverpa zea* (Carpenter et Chandler, 1994), *Cydia pomonella* (Sun et Barrett, 1999),

*Argyrotaenia velutiana* et *Choristoneura rosaceana* (Sun *et al.*, 2000) ainsi que leur succès d'accouplement (Renée dallaire, 2003).

Selon Smagghe *et al.* (2004), l'oviposition et la viabilité des œufs sont moins affectés chez les mâles que chez les femelles de *C.pomonella* traités avec le RH-5992. Sun et Baret (1999) ont montrés une diminution de la fécondité lorsque les mâles sont traités avec le RH-2485 chez *C.pomonella*.

Plusieurs études ont démontré que le RH-5992 et le RH-2485 puissent affecter le potentiel reproducteur après traitement des femelles chez plusieurs ordres d'insectes.

Chez *H.zea*, Carpenter et chandler (1994) ont aussi rapporté que le tébufénozide provoque une réduction de la masse des ovaires chez des femelles traitées. Une exposition continue au RH-5992 et RH-2485 réduit le nombre d'œufs pondus chez *A.veluuntinana* et *C.rasaceana* (Sun et autre, 2000).

Des travaux récents réalisés au sein de notre laboratoire, ont prouvé que le RH-2485 affecte le potentiel reproducteur après traitement des femelles d'*Ephestia kuehniella* (Gramdi, 2007 ; Taibi, 2007). L'effet du RH-5992 était plus prononcé sur les mâles traités que sur les femelles. Ainsi, le poids des testicules était plus affecté que celui des ovaires (Khebeb *et al.*, 2008).

## **5-2 effets du Méthoxyfénozide (RH-2485) et Tébufénozide (RH-5992) sur les métabolites testiculaires**

La reproduction chez les insectes est conditionnée par des facteurs physiques et trophiques au cours desquels une grande quantité d'énergie chimiques (protéines, lipides, glucides) est transportée vers les gonades (Marangos *et al.*, 1988).

Les glucides sont représentés dans l'organisme soit sous forme de réserve (glycogène) soit immédiatement utilisable (Tréhalose : sucre major chez les insectes). En tant qu'éléments énergétiques, les glucides jouent un rôle essentiel dans la physiologie des insectes. Ils serviront à l'élaboration des produits génitaux (Chalabi, 2001).

Les taux de glycogène et de tréhalose dans les tissus sont étroitement liés aux événements physiologiques tels que le vol, la mue et la reproduction (Wiens et Gilbert, 1967).

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenakers *et al.*, 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leur synthèse et stockage (Keely, 1985 ; Van Hensden et Law, 1989), vers les organes utilisateurs (Kibly 1963, et Chino *et al.*, 1981). Plusieurs études ont démontré que les triglycérides, dont le corps gras est le site majeur de stockage chez les insectes, sont une réserve métabolique importante.

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes et interviennent comme source énergétique dans la formation des gamètes (Borsa et Millet, 1992). Ces derniers entrent dans diverses réactions et peuvent assurer la catalyse biochimique, la régulation hormonale et s'intégrer dans la cellule comme éléments structuraux en même temps que les glucides et les lipides (Jacob *et al.*, 1961).

Pour cette raison, nous avons dosé les principaux métabolites réalisés dans les testicules afin de déterminer d'éventuelles variations dans leur métabolisme biochimique. Selon les résultats, il est apparu que seulement le RH-5992 a un effet hautement significatif où il augmente le taux des glucides dans les testicules d'*Ephestia kuehniella*, par contre le RH-2485 n'a aucun effet sur les trois métabolites testiculaires.

D'autres travaux ont déterminé après traitement des femelles, que le méthoxyfénoside entraîne une réduction des taux des glucides, protéines et lipides des ovaires d'*Ephestia kuehniella* (Gramdi, 2007). Un autre agoniste des ecdystéroïdes : le RH-0345, entraîne une diminution des taux de lipides et glucides chez *Ephestia kuehniella* et *Tenebrio molitor* (Taibi, 2007). Par contre Gaouaoui (2006) ne trouve aucun effet avec le RH-5992 sur le taux des glucides.

Une autre analyse quantitative des protéines ovariennes chez *Ephestia kuehniella* après traitement avec le RH-5992 et le RH-5849, a montré une réduction du pattern protéique ainsi qu'une diminution des taux des glucides et de lipides (Hami, 2004).

Un analogue de l'hormone juvénile : le pyriproxifène, chez *T.molitor* n'affecte pas le pattern des protéines hémolympatique (Aribi *et al.*, 2001), le KK-42 diminue par contre les concentrations en protéines ovariennes chez *T.molitor* (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001).

### **5-3 Effets du Méthoxyfénazole (RH-2485) et Tébufénazole (RH-5992) sur les Acides nucléiques testiculaires**

Les êtres vivants sont constitués de certaines biomolécules (acides nucléiques, protéines) d'une complexité telle que ces molécules sont dotées de propriétés biologiques notamment la reproduction (Bergeron et Regnault, 1980).

Au niveau des testicules, la spermatogenèse chez *Nereidae* présente un certain nombre de caractéristiques intéressantes, en ce qui concerne les acides nucléiques en particulier (Bertout, 1976 et 1977). Ses derniers sont des polymères de ce que les chimistes appellent des bases puriques et pyrimidiques, présentes au nombre de quatre ; il en existe deux types : l'acide désoxyribonucléique (ADN) et l'acides ribonucléique (ARN) (François Jacob, 2000).

Au moment de la maturité sexuelle (phase nymphale chez les lépidoptères), les cellules germinales se transforment en spermatozoïdes après un certain nombre de divisions successives : la mitose (divisions cellulaires classiques) et la méiose qui divise par deux le nombre de chromosomes après répliquions de l'ADN. Les ARN codent pour la synthèse de protéines nécessaires à la formation des organites des spermatozoïdes.

Cette transformation nécessite un facteur macromoléculaire présent dans l'hémolymphe. L'ecdysone se lie à des sites spécifiques de la paroi du testicule, altère sa perméabilité et permettrait l'entrée de ce facteur macromoléculaire : l'ecdysone est donc indispensable à la spermatogenèse (contrôlant le fonctionnement de l'appareil reproducteur).

Nos résultats mettent en évidence, une réduction et une élévation significative du taux d'ADN testiculaires chez les adultes d'*Ephestia kuehniella*, montrant ainsi que la synthèse d'ADN a été affectée respectivement par le RH-2485 et le RH-5992 lors de leur application *in vivo* au moment de la maturité sexuelle.

Cette affection n'a pas été enregistrée par la présence de ses deux régulateurs de croissance sur la synthèse d'ARN testiculaires.

Les travaux de Bendjeddou (1993) ont montrés que l'effet du flucycloxuron (FCX) un inhibiteur de la synthèse de la chitine, sur le taux ovarien d'ADN d'*Ephestia kuehniella* augmente significativement.

Des résultats obtenus chez *T. molitor* indiquent que le captopril (Angiotenseur) n'a pas d'effet significatif sur le taux ovariens en ADN et ARN (Redjehimi-bouteldja, 2006).

Le traitement avec d'autres agonistes des écdystéroïdes le RH-0345, RH-5849 ainsi le RH-5992 entraîne une réduction dans le contenu ovarien en ADN chez *T.molitor* (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001, 2002 ). Chez une autre espèce *Blatella germanica*, son contenu en ADN ovarien et hémolympatique a subi une réduction ave le RH-0345 (Rachedi, 2002).

Dans une étude antérieure, Mitlin *et al.* (1977) ont suggéré que la diminution de l'activité sexuelle chez *Anthonamus grandis* résulte de l'inhibition de la synthèse d'ADN par le diflubenzuron (DFB) un autre inhibiteur de la synthèse de la chitine chez les femelles adultes.

## 6- Conclusion et Perspectives

Le méthoxyfénozide (RH-2485) et le tébufénozide (RH-5992), deux régulateurs de croissance d'insecte, affectent la composition biochimique des testicules, ainsi que certains paramètres du potentiel reproducteur des femelles après traitement des mâles chez *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera, Pyralidae), traités par application topique à l'émergence des chrysalides (début de la maturité sexuelle). Le méthoxyfénozide, cet analogue de l'ecdysone réduit le contenu en ADN testiculaires ainsi qu'une diminution de la viabilité des œufs. Quant au tébufénozide, il provoque une augmentation des taux d'ADN et des glucides testiculaires ainsi un prolongement de la période de préoviposition.

En perspective, il serait intéressant d'étudier la synthèse des ecdysteroides testiculaires après traitement des mâles avec les molécules étudiées.

# Résumé

L'étude menée *in vivo* a permis d'évaluer l'action de deux molécules sélectives parmi les régulateurs de croissance des insectes principalement les agonistes non stéroïdiens des ecdystéroïdes, le méthoxyfénozide (RH-2485) et le tébufénozide (RH-5992), sur le potentiel reproducteur et la biochimie des testicules d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*.

Ses deux insecticides ont été administré par application topique à l'émergence des chrysalides mâles dans des conditions expérimentales (Température : 25° et Humidité : 80%). Les résultats obtenus montrent que le RH-2485 et le RH-5992 affectent de manière différente seulement deux paramètres du potentiel reproducteur des femelles se traduisant respectivement par une réduction de la viabilité des œufs et un prolongement de la période de préoviposition.

Le dosage des métabolites réalisé dans les testicules chez des mâles adultes d'*Ephestia kuehniella*, indique une augmentation du taux des glucides testiculaires avec le RH-5992. Avec RH-2485 la composition biochimique des testicules n'a pas été affectée.

L'évaluation des effets du RH-2485 et RH-5992 sur le taux des Acides nucléiques, montre respectivement une réduction et une élévation du taux d'ADN au niveau des testicules adultes d'*Ephestia kuehniella*.

# Abstract

Current *in vivo* study has permitted the evaluation of two selective molecules action among regulators of the insects growth mainly non-steroidal agonists of ecdysteroids, methoxyfenozide (RH-2485) and tebufenozide (RH-5992), which showed their involvement on the reproductive potential and the testicles biochemistry of *Ephestia kuehniella* (devastator of foodstuffs).

These two insecticides have been applied through a topical application at the appearance of male chrysalis under experimental conditions (temperature: 25°C and moisture: 80%).

The obtained results show that the RH-2485 and the RH-5992 affect differently only two parameters regarding the reproductive potential of the female insects, which is translated respectively by a reduction of the viability of eggs and an extension of pre-oviposition period.

The metabolites assay achieved in the males testicles of *Ephestia kuehniella* show an increase of the rate of testicular carbohydrates with RH-5992. But, with RH- 2485, the biochemical composition of testicles is not affected.

The effect of both insecticides (RH-2485 and RH-5992) on the rate of nucleic acids show respectively a decrease and an increase of the DNA rate at the adults' testicles of *Ephestia kuehniella*.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Anderson P. and Hallberg G. 1990.** *J. Intern. Morph.Emb.* **19** (1):13-23.

**Appel A.G., et Benson E.P., 1995.** Performance of abamectin bait formulations against German cockroaks (*Dictyoptera : Blattellidea*) *J. Econ. Entomol.* **88**:924-931.

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

**Asahina M., Fugo H et Takeda S., 1994.** Ecdysteroids synthesis in dissociated cells of the prothoracic glands of the silkworm *Bombyx mori*: *Zool. Sci.*, **11(1)**: 107-111.

**Barth, R. H. et Lester, L. J. 1973.** Neuro-hormonal control of sexual behavior in insects. *Ann. Rev. Entomol.* **18**, 445-472.

**Barth, R. H. 1961.** Hormonal control of sex attractant production in the *Cuban cockroach*. *Science* **133**, 1598-1599.

**Beenakers A.M.T.H., Vander Host D.G. and Van Marrewijk W.J.A., 1985.** Insect lipids and lipoproteins and their role in physiological processes. *Prog. Lipid. Res.* **24**: 19-67.

**Bellés X; 1975.** Interaction between corpora allata, fat body and ovary in insect reproduction: *wich controls wich Netherlands. J. Zool.*, **45**: 152-156.

**Bellés X. 2005.** Vitellogenesis directed by juvenile hormone. In: *Reproductive Biology of invertebrates*, Vol. 12, Part B: *Progress in vitellogenesis*, A. S. Raikhel (ed), Science Publishers, Enfield, USA/Plymouth, UK, pp. 157-197.

**Bendjeddou F ; 1993.** La reproduction chez *Ephestia kuehniella* (Zeller) et effet du flucycloxuron. Aspects toxicologiques, biologique et biochimiques. Thèse de magistère, université d'Annaba, Algérie.

**Bergeron. R et Regnault J.P. 1980.** Reproduction et développement. *Collection Biomoduls. Edition études vivantes. Monreale, Paris. 28* : 19-28.

**Blachowsky A.S, 1972.** *Entom appliquée à l'agriculture tome 1 lépidoptère E.D.masson,* PP.1234-1235.

**Bradford, M.M ; 1976.** A rapid and sensitive for the quantification of micrograms quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal. Biochem, 72:278-284*

**Bruce A Barrett .2008** Assessment of methoxyfenozide exposure on the sexual attractiveness and responsiveness of adult codling moth, *Cydia pomonella L.*, in small orchad blocks. *Entomology Program Area, Universite of Missouri, Columbia.*

**Burton K., 1956.** A study of the condition and mechanism of diphenylamine reaction of the coloremtric estimation of the desoxyribose nucleic acid. *Biochem.J. 62:315-322.*

**Carlson G.R.; Dhadialla T.S., Thompson C., Ramsay R., Tiragnam M., James W., Slawechi R. 1994.** Insect toxicity, metabolism and receptor binding characteristics of the nonsteroidal ecdysone agonist, RH-5992. *Prox XI th.Ecdysone workschop.*

**Carpenter J.E., and L.D. Chandler. 1994.** Effects of sublethal doses of two insect growth regulators on *Helicoverpa zea (Lepidoptera: Noctuidae)* reproduction. *J. Entomol. Sci. 29: 428-435.*

**Cassida J. et Quistad B., 1998.** Golden age of insecticide research : *Past, Present or futur. Annu. Rev. Entomol 41: 1-16.*

**Chandler L.D. Pair S.D; and Harrison W.E. 1992.** RH-5992, a new insect growth regulator active against corn earworm and fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol. 85: 1099-1103.*

**Chebira S., 2007.** Evaluation de quelque insecticides selectifs , nhibiteurs de la chitine et d'un mimétique de l'hormone de mue, sur le développement de deux ravageurs des denrée stockée : *Tenebrio molitor et Ephestia kuehniella.* Thèse de Doctorat. Université de Annaba Algerie.

**Chino H., Katase H., Downer R.C. and Hard Takahashi K., 1981.** Diacylglycerol-carrying lipoprotein of hemolymph of the American cockroach: *Purification, characterization and function. J.Lipid R.E.S., 22:* 7-15.

**Cohen E; 1987.** Chitin biochemistry synthesis and inhibition annual review of *entomology; 322:*71-93.

**Dhadialla T.S , Carlson GR and DP ; 1998.** New insecticides with edysteroidal and juvenile hormone activity *Annu ReviEntomol; 43:*545-569

**Dhadialla T.S . Retnakaran A Smagghe G , 2005.** Insect growth- and development disturbing insecticides , in : L. I Gilbert , K. Latrou ,S.S gill (*Ed*). *Compreh .Mol. Insect S.Elsevier-Pergamon, Oxford, UK, vol. 6* PP.55-115.

**Delbecque J.P Weidner K. et Hoffman K.L., 1990.** Alternative sites of ecdysteroid production in insects. *Invert. Reprod. Develop. 18:* 29-42.

**Duchateau. G . et Folking. M ; 1959.** Sur la thréalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Int. Physiol. Biochem, 67:* 306-

**Dumser, J. B. 1980.** The regulation of spermatogenesis in insects. *Ann. Rev. Entomol. 25,* 341-369.

**Ferron P. 1999.** Protection intégrée des cultures : évolution du concept et de son application. *Cahier agricultures, 8,*389-396.

**Friedländer, M. 1997.** Control of eupyrene-apyrene sperm dimorphism in Lepidoptera. *J. Insect Physiol. 43,* 1085-1092.

**Gade G.and Hoffman K.H 2005.** Neuropeptides regulating development and reproduction in insect. *Physiol. Entomol. 30:* 103-121.

**Gadenne, C., Grenier, S., Mauchamp, B. et Plantevin, G. 1990.** Effects of a juvenile hormone mimetic, fenoxycarb, on post-embryonic development of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. *Experientia* **46**, 744-747.

**Gaouaoui R. 2006.** Activité d'un agoniste des ecdysteroides, le tébufénozide, sur la maturation sexuelle et le potentiel reproducteur d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*. Thèse de magister écotoxicologie animale, Département de Biologie, Université Badji-Mokhtar Annaba.

**Gelman, D. B., Woods, C. W. et Borkovec, A. B. 1988.** Effects of ecdysone and 20-hydroxyecdysone on apyrene spermiogenesis in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *J. Insect Physiol.* **35**, 733-738.

**Giebultowicz, J. M., Feldlaufer, M. et Gelman, D. B. 1990.** Role of ecdysteroids in the regulation of sperm release from the testis of the gypsy moth, *Lymantria dispar*. *J. Insect Physiol.* **36**, 567-571.

**Giebultowicz, J. M., Blackburn, M. B., Thomas-Laemont, P. A. et Raina, A. K. 1993.** Sterilization of the gypsy moth by disruption of sperm release from testes. Dans ACS Conference Proceedings: *Series on pest management: biological based technology*. Lumsden, R. D. and Vaughn, J. L. (eds), ACS, Washington, D.C. p. 114-116.

**Goldsworkey, G. J, Mordue, W. And Guthkelsh J; 1972.** Studies on insect adipogenic. *Comp. Endocrinol.* **18 (3)**:545.

**Gramdi, 2007.** Impact de l'hormone de mue, le RH-2485 sur le potentiel reproducteur d'un ravageur des denrées stockées *Ephestia kuehniella*. Thèse de magister, Université de Annaba, Algérie.

**Grimnes, K. A. et Happ, G. M. 1987.** Ecdysteroids *in vitro* promote differentiation in the accessory glands of male mealworm beetles. *Experientia* **43**, 906-907.

**Hagedorn, H. H. 1985.** The role of ecdysteroids in reproduction. Dans Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. Kerkut, G. A. et Gilbert, L. I. (Eds), Pergamon, Oxford, Vol 8. pp. 205-262.

**Hami M ; 2004.** Effet de quelques régulateurs de croissance mimétiques de l'hormone de mue en application topique sur le développement et la reproduction d'un ravageur des denrées stockées, *Ephestia kuehmiella* (Zeller), thèse de magistère université d'Annaba Algérie.

**Hami M, Taibi F, Smaghe G, Soltani-Mazouni N. 2005.** Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the Mediterranean flour moth. *Comm. Appl. Biol. Sci*, Ghent University, 70/4:767.

**IshaYaa .I; 1990.** Benzoylphenul –ureas and other selective control agent, mechamism and application in: *JE cassida* (Eds) *Pesticides and alternatives* PP: 365-376. Elsevier science, Amesterdam.

**Jacob F. and Monod J., 1961.** Genetic regulatory mechanism in the synthesis of proteins. *J. Biol. Med. N° 3*: 318-321.

**Jacob T.A. and Cox P.D. 1976.** The influence of temperature and humidity on the life cycle of *E.kuehniella*.Z (Lepidoptera: Pyralidae).*J.Srored. Pro. Res.***13**:107-118.

**Jenifer A.and al. 2003.**Effects of Methoxyfenozide-treated surfaces on the Attractiveness and Responsiveness of adult codling moth (Lepidoptera: Tprticidae),*cydia pomonella*. Departement of entomology. Universite of Missouri,Columbia.

**Kaakeh W., Scharf M.E. et Benett G.W., 1997.** Comparative contact activity and residual life of juvenile hormone analogs used for *German cockroach* (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.* **90** (5): 1247-1253.

**Kadano-Okuda. K., Kuwano. E., Eto. M., And Yamashita .O. ;1987.** Inhibitory action of imidazole compound on ecdysone synthesis in prothoracic glands of the silkworm, *Bombyx mori*: *Growth. Diff.* **29**: 527-533.

**Kawamura, N., Sahara, K et Fugo, H. 2003.** Glucose and ecdysteroid increase apyrene sperm production *in vitro* cultivation of spermatocysts of *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* **49**, 25-30.

**Keely L.L., 1985.** Physiology and biochemistry of fat body, pp. 211-248. In G.A. Kerkut and L.I. Gilbert (eds): *Comprehensive insect Biochemistry, Physiology and pharmacology, vol. 3, pergamon press. Oxford.*

**Kelly T.J., Maesler E.P., Thigaraga B.S., Bell A. et Imberski R.B., 1992.** Development of *in vitro* assay for prothoracicotropic hormone of the gypsy moth, *Lymantria dispar (L)* following studies on identification, titers and synthesis of ecdysteroids in last instar females. *Comp. Physiol B.*, **162**: 581-587.

**Khebeb M.E.H., Gaouaoui R. et Bendjeddou F. 2008.** Les effets du tébufénozide sur les potentiels reproducteurs d'*Ephestia kuehniella*. Université de Annaba. Algérie.

**Koolman J ; 1990** .Ecdysteroids ,*Zool sci*, 7,503 .

**Koopmaqshap. A.B and de kort C.A.D; 1991.** A juvenile hormone analogue affects the protein pattern of hemolymph in last instar larvae of *locusta migratoria* .*J. insect physiol*; **37(2)** / 87-93.

**Kibly B.A., 1963.** The biochemistry of the insect Fact. Adv. Insect Physical. 1: 112-174

**Loeb M , Woods C . W . Brandit E. P et Borkovec A. B ; 1982.** Larval testes of tobacco budworm ; *a new source of insect ecdysteroids science*, **218**:896-898.

**Loeb, M. J. et Hakim, R. S. 1991.** Development of genital imaginal discs of *Heliothis virescens* culture *in vitro* with 20-hydroxyecdysone and fat body or testis sheaths. *Invert. Reprod. Dev.* **20**, 181-191.

**Maamcha Z., 1997.** Etude bioécologique de la pyrale de la farine *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). Effet du Flucycloxuron à l'égard des nymphes sur la sécrétion cuticulaire thèse de Magister. Université Annaba. Algérie.

**Marec F. et Mirichi R., 1990.** Genetic control of the pest Lepidoptera: Gamma-ray induction of translocation between chromosome of *E.kuehniella*. *J. of Stored research* **26** (2): 109-116.

**Minitab Inc., 2003.** MINITAB statistical software, Release 14 for Windows, State College, Pennsylvania.

**Mitlin N., Wiygul G. and Hayenes J.W., 1977.** Inhibition of DNA synthesis in Boll Weevils (*Anthonomus grandis Boheman*) sterilized by Dimlin. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **7**: 559-563.

**Muyle, H. et Gordon, R. 1989.** Effects of selected juvenile hormone analogs on sixth-instar larvae of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* Clemens (Lepidoptera: Tortricidae). *Can. Entomol.* **121**, 1271-1272.

**Nauen R. et Bretchneider T. 2002.** New modes of action of insecticides. *Pestic outlook.* 241-245.

**Nijhout. H.F; 1994.** Insect hormone. princeton *University Press* . New jersey. U.S.A.

**Osanai, M., Kusaga, H. et Aigaki, T. 1987.** Physiological role of apyrene spermatozoa of *Bombyx mori*. *Experientia* **43**, 593-596.

**Payene N.D. and Retnakaran A. 1966.** The differential effects of environmental factors Upon *Micibraco hebetor* and its most *Ephestia kuehniella*. *Boil. Bull. Mar. Biol. Lab.*

**Rachedi, 2002.** Evaluation de l'effet d'un régulateur de croissance agoniste des ecdysteroides (RH-0345) sur un insecte a intérêt médical *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae), Analyse quantitative de l'Acide Desoxyribonucléique (ADN) ovarien et hemolymphatique. Université de Annaba, Algérie.

**Ramaswamy S. B Shengquang , Yong I.P and Fanrong Z ;1997.** Dynamics of juvenile hormone mediated gonadotropin in the lepidoptera. *Arch .Insect biochem. Physiol.* **32** : 539-558 .

**Redjehimi-bouteldja, 2006.** Evaluation d'un Angiotenseur le Captopril sur les ovaires de *Tenebrio molitor* : Aspects cellulaire, biochimique et endocrinien. Thèse de magister, Ecole normale supérieure de Kouba, Alger.

**Renée Dallaire, 2003.** Effets sous-Létaux du tébufénozide, sur la communication chimique et le succès reproducteur chez *Choristoneura fumiferana* et *C. rosaceana*. Université Larva Québec.

**Retnakaran, A., Hiruma, K., Palli, S. R. et Riddiford, L. M. 1995.** Molecular analysis of the mode of action of RH-5992, a lepidopteran-specific, non-steroidal ecdysteroid agonist. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **25**, 109-117.

**Retnakaran A., Gelbic I., Sundaram M., Tomkins W.L., et al., 2001.** Mode of action of the ecdysone agonist tébufénozide (RH-5992), and an exclusion mechanism to explain resistance to it. *Pest. MgtP Sci.* **57**:951-957.

**Riddiford L.M., 1994.** Cellular and Molecular action of juvenile hormone I. General considerations and premetamorphic actions. *Adv. Insect. Physiol.*, **24**: 213-243.

**Riddiford, L.M. 1996.** Molecular aspects of juvenile hormone action in insect metamorphosis. In: *Gilbert L.I., Tata J.R. and Atkinson B.G. (eds): Metamorphosis.* Vol. **6**, PP. 223-243 Academic Press, Inc.

**Seth. R. K., Rao, D. K. et Reynolds S. E. 2002.** Movement of spermatozoa in the reproductive tract of adult male *Spodoptera litura*: daily rhythm of sperm descent and the effect of light regime on male reproduction. *J. Insect Physiol.* **48**, 119-131.

**Shibko S, Kaivistoinen P., Tratnyck C. A , Newhell A. R . And Freidman L., 1966.** A method for the sequential quantitative separation and determination of protein , RNA . DNA .lipid and glycogena from a single rat liver homogenate a from a sub cellular fraction. *Analytic Biochem* **19**: 514-528.

**Shinbo, H. et Happ, G. M. 1989.** Effects of ecdysteroids on the growth of the post-testicular reproductive organs in the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* **35**, 855-864.

**Schneider W.C., 1957.** Determination of nucleic acids in tissues by pentose analysis, *In* : Methods in enzymology, S.P.Colowich et N.O. Kaplan (eds). *Acad. Press, New-york*: vol.3. pp. 680-684.

**Smagghe, G. et Degheele, D. 1994.** The significance of pharmacokinetics and metabolism to the biological activity of RH-5992 (tebufenozide) in *Spodoptera exempta*, *Spodoptera exigua*, and *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest. Biochem. Physiol.* **49**, 224-234.

**Smagghe, G., Eelen, H., Verschelde, E., Richter, K. et Degheele, D 1996a.** Differential effects of nonsteroidal ecdysteroid agonist in Coleoptera and Lepidoptera : analysis of evagination and receptor binding in imaginal discs. *Insect. Biochem. Molec. Biol.* **26**, 687-695.

**Smagghe G., Dhadialla T.S., and Lezzi M. 2002.** Comparative toxicity and ecdysone receptor affinity of non-steroidal ecdysone agonists and 20-hydroxyecdysone in *Chironomus tentans*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **32**:187-192.

**Smagghe G., Bylemans D., Medna P., Budia F., Avilla J. and Vinuela E. 2004.** Tebufenozide distored codling moth larval growth and reproduction, and controlled field populations. Laboratory of Agrozoology, Department of Crop Protection, Faculty of Bioscience Engineering, *Ghent Univ, Coupure Links, Belgium*. *ANN. appl. Biol.* **145**: 291-298. *printed in UK.*

**Smith S.L ;1985.** Regulation of ecdysteroid titer ; synthesis in comprehensive *insect physiology . biochemistry and pharmacology Kerkut ; A. G. and Gilbert . L I (Eds) oxford ; Pergamon Press.* 295-341.

**Soltani-Mazouni N, Delachambre J.et Soltani N; 1993.** Le diflubenzuron et la reproduction chez *Tenebrio molitor* ; effets sur l'incorporation ovarienne de précurseurs triés . *Med .Fac . landbouw Univ .Gent .* **58: (2b) : 625-633.**

**Soltani N . Khebbab M.E. H And Delachanbre J ; 1997.** Lipid metabolism during the sexual maturation of the meal worm (*Tenebrio molitor*) effect of ingested diflubenzuron . *Pest .Biochem .Physiol* ; **58**: 209-217.

**Soltani-Mazouni N. Taibi F., Zerguine K., et Soltani N., 2001.** Effects of the imidazol derivative (KK-42) on ecdysteroids and reproduction in adult females of *Tenebrio molitor*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* (Submitted).

**Soltani N Aribi . Berghiche H .Lakbarc . Smagghe G ;2002.** Activity of RH -0345 on ecdysteroid production and cuticule secretion in *Tenebrio molitor* pupae *in vivo* and *in vitro* .*Pastic Biochem .Physiol* **72**:83-90 .

**Spindler K.P. et Spindler barth M., 1991.** Ecdysteroid production and metabolism by an epithelial cell line from *Chironomus tentaus*. *Natur wisenchaften.*, **78** (2): 78-79.

**Sridevi, R., Bajaj, P. et Dutta-Gupta, A. 1988.** Ecdysteroid stimulated protein synthesis in the male accessory glands of *Spodoptera litura*. *Invert. Reprod. Dev.* **14**, 177-186.

**Stay B, and Weodhead A ; 1993.** Neuropeptid regulators of insect corpora allata . *Amer .Zool* ; **33** ; 357-364 .

**Sun X, Barrett B.A. 1999.** Fecundity and fertility changes in adult codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) exposed to surfaces treated with tebufenozide and methoxyfenozide. *Journal Economic of Entomology* **92**: 1039-1044.

**Sun X., Barrett B.A., Biddinger D.J. 2000.** Fecundity and fertility reductions in adult leafrollers exposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonists tebufenozide and methoxyfenozide.*Entomol Expermentalis et Applicata* **94**: 75-83.

**Sundaram, M., Palli, S. R., Krell, P. J., Sohi, S. S., Dhadialla, T. S. et Retnakaran, A. 1998.** Basis for selective action of a synthetic molting hormone agonist, RH-5992 on lepidopteran insects. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **28**, 693-704.

**Taibi F. , Guy Smaghe, Amrani L. , Soltani-Mazouni N.; 2003.** Effect of ecdysone agonist RH-0345 on reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*.

**Taibi, 2007.** Etude comparée du développement et de la reproduction chez deux ravageurs des denrées stockées *Ephestia kuehniella* et *Tenebrio molitor* : Aspect endocrinien en rapport avec l'impact d'un mimétique de l'hormone de mue RH-0345.

**Thorson, B. J. et Riemann, J. G. 1982.** Effects of 20-hydroxyecdysone on sperm release from the testes of the mediterranean flour moth, *Anagasta kuehniella* (Zeller). *J. Insect Physiol.* **28**, 1013-1019.

**Traut W., et Traut G., 1991.** A new useful genetic marker, white body, in *E. kuehniella*. *Journ. Stor. Prod. Rec.* **27** (23): 161-162.

**Tumaz H. And Uygum N, 2004.** Insect growth regulators for insect pest control. *Turk. J.Agric.* **28**: 377-387.

**Vanhendsen H. and Candlaw J.H., 1989.** An insect transport particle promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *J. Biol. Chem.* **264**: 17287-17292.

**Weaver D.K. et Farlane J.E. 1990.** The effects of larval density on growth and development of *Tenebrio molitor*. *J. Insect Physiol.* **36**: 531-536.

**Weiranther E., 1989.** Require mints for screening pigment. Migration in the eye of *E.kuehniella*. *Jour.Inc.Phys.*, **35**:925-934.

**Wiens A.W. and Gilbert T., 1967.** Regulation of carbohydrate mobilization and utilization in leucophaco maderae. *J. Insect physiol.* **13**: 779-794.

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

**Wing K.D., Aller H.E., 1990.** Ecdysteroid agonists as novel insect growth regulators. *In: Casida J.E. (ed) ,pesticides and alternatives. Elsevier, Amsterdam, pp.* 251-257.

**Wing K .D : 1998. RH-5849, a non steroidal ecdysone agoniste ; effets on a drosophila cell line . sciences ; 241 : 467-469 .**







