

MEMOIRE

En vue de l'obtention du diplôme de Magistère en Biologie et physiologie animal.

Option : Ecotoxicologie

THEME

Etude comparative de deux molécules ,le méthoxyfinozide (RH-2485) et le *Bacillus thuringiensis* var . *israëlis* ( *Vecto Bac W.D .G 3000 UTI/mg* ) à l'égard des larves de *Culiseta morsitans* : Aspects toxicologiques et le potentiel reproducteur .

Présentée par :

M<sup>lle</sup> Nassima SERRADJ

Devant la commission d'examen :

Président : M <sup>me</sup> N. SOLTANI-Mazouni	Professeur	Université d'Annaba
Directeur de recherche : M <sup>me</sup> N. REHIMI	Maître de conférences	Université d'Annaba
Examineur : M K. KHELILI	Professeur	Université d'Annaba
Examinatrice : M <sup>me</sup> O. DAAS	Maître de conférences	Université d'Annaba

2009/2010

## SOMMAIRE DES FIGURES

N°	FIGURES	Pages
1	Localisation des deux stations d'étude dans lac des oiseaux.	5
2	Lac des oiseaux, Station 1.	7
3	Lac des oiseaux, Station 2.	7
4	Cycle de développement d'un Culicinae.	9
5	Structure chimique du méthoxyfinozide.	11
6	Schématisation d'un cycle vital d'un <i>Bacillus thuringiensis</i> .	15
7	Représentation schématique du mode d'action des cristaux de <i>Bacillus thuringiensis</i> .	17
8	Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des doses.	23
9	Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des doses .	26
10	Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des doses .	29
11	Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des doses.	32
12	Répartition du taux de mortalité corrigée après le traitement du Méthoxyfinozide quatrièm de <i>Cs. morsitans</i>	33
13	Répartition le taux de mortalité du <i>Bacillus thuringiensis</i> après traitement de <i>Cs. morsitans</i> .	35
14	Comparaison de l'efficacité de LC50 de RH-2485 ( $\mu\text{g/ml}$ ) et <i>Bacillus thuringiensis</i> ( $\mu\text{g/ml}$ ) .	36
15	Les taux d'éclosion (%) des œufs pondus après traitement avec le RH-2485.	37
16	Les taux d'éclosion (%) des œufs pondus après traitement avec le <i>Bacillus thuringiensis</i>	39

## SOMMAIRE DES TABLEAUX

N°	TABLEAUX	pages
1	Effet du RH-2584 (mg /l) sur des larves du quatrième stade chez <i>Cs. morsitans</i> : Mortalité observée (%) ( $m \pm s$ , $n = 3$ ).	20
2	Effet du RH-2584 (mg /l) sur des larves du quatrième stade chez <i>Cs. morsitans</i> : Mortalité corrigée (%) ( $m \pm s$ , $n = 3$ ).	21
3	Effet du RH-2584 (mg /l) sur des larves du quatrième stade nouvellement exuvieés chez <i>C. morsitans</i> : Transformation Angulaire	21
4	Effet du RH-2584 (mg /l) sur des larves du quatrième chez <i>Cs. morsitans</i> : Analyse de la variance des donnée transformées.	22
5	Transformation en probit des mortalités corrigées et des doses en logarithmes décimaux.	22
6	Efficacité du RH-2485 (mg/l) sur des larves du quatrième stade chez <i>Cs. morsitans</i> : Analyse des probits.	23
7	Effet du RH-2584 (mg /l) après traitement de quatrième stade larvaire de <i>Cs. morsitans</i> : Mortalité observée cumulée (%) ( $m \pm s$ , $n = 3$ ).	24
8	Effet du RH-2584 (mg /l) après traitement de quatrième stade larvaire de <i>Cs. morsitans</i> . Mortalité corrigée (%) ( $m \pm s$ , $n = 3$ ).	24
9	Effet du RH-2584 après traitement de quatrième stade larvaire <i>Cs. morsitans</i> : Transformation Angulaire.	25
10	Effet du RH-2584 après traitement de quatrième stade larvaire <i>Cs. morsitans</i> : Analyse de la variance des donnes transformées.	25
11	Transformation en probits des mortalités corrigé et des doses en logarithmes décimaux des doses.	26
12	Analyse des probits après traitement des larves du quatrième stade <i>Cs. morsitans</i> : Analyse des probits avec le RH-2485.	26
13	Effet du <i>Bacillus thuringiensis</i> ( $\mu\text{g/ml}$ ) sur des larves de <i>Cs. morsitans</i> : Mortalité observée directe (%) ( $m \pm s$ , $n = 3$ ).	27
14	Effet du <i>Bacillus thuringiensis</i> ( $\mu\text{g/ml}$ ) sur des larves de <i>Cs. morsitans</i> : Mortalité corrigée directe (%).	27
16	Effet du <i>Bacillus thuringiensis</i> sur des larves de <i>Cs. morsitans</i> : Analyse de la variance des donnes transformées.	28

17	Effet du <i>Bacillus thuringiensis</i> sur des larves du quatrième stade chez <i>Cs. morsitans</i> : Transformation en probits des mortalités corrigé.	29
18	Efficacité du <i>Bacillus thuringiensis</i> sur des larves du quatrième stade chez <i>Cs. morsitans</i> : Analyse des probits.	30
19	Effet du <i>Bacillus thuringiensis</i> ( $\mu\text{g/ml}$ ) après traitement de quatrième stade larvaire de <i>Cs. morsitans</i> : Mortalité observée cumulé (%).	30
20	Effet du <i>Bacillus thuringiensis</i> ( $\mu\text{g/ml}$ ) après traitement de quatrième stade larvaire de <i>C. morsitans</i> : Mortalité corrigée .	31
21	Effet du <i>Bacillus thuringiensis</i> ( $\mu\text{g/ml}$ ) après traitement de quatrième stade larvaire de <i>Cs. morsitans</i> : Transformation angulaire.	31
22	Effet du <i>Bacillus thuringiensis</i> ( $\mu\text{g/ml}$ ) après traitement de quatrième stade larvaire de <i>Cs. morsitans</i> : Analyse de la variance des données transformées	31
23	Effet du <i>Bacillus thuringiensis</i> ( $\mu\text{g/ml}$ ) après traitement de quatrième stade larvaire sur <i>Cs. morsitans</i> : Transformation en probits des mortalités corrigé et des doses en logarithmes décimaux des doses.	32
24	Efficacité du <i>Bacillus thuringiensis</i> après traitement de quatrième stade larvaire de <i>C. morsitans</i> :Analyse des probits .	33
25	Récapitulatif des principaux résultats de l'effet de (RH-2485) et l'efficacité du <i>Bacillus thuringiensis</i> sur les larves de <i>C. morsitans</i> .	34
26	Effet du RH-2584 sur le taux d'éclosion des œufs (%) chez <i>Cs. morsitans</i> : ( $m \pm s, n = 3$ ).	38
27	Efficacité du <i>Bacillus thuringiensis</i> sur le taux d'éclosion des œufs (%) chez <i>Cs. morsitans</i> : ( $m \pm s, n = 3$ )	39
28	Pourcentages des types morphogénétiques induit après le traitement avec le méthoxyfinozide.	42
29	Pourcentages des types morphogénétiques induit après le traitement avec le <i>Bacillus thuringiensis</i> .	43

## *Sommaire*

<b>1. Introduction</b> .....	1
<b>2. Matériel et méthode</b> .....	4
2.1. Matériel biologique.....	
2.1.1. Description générale et localisation .....	4
2.1. 2.Aperçu géologique .....	4
2.1.4. Choix des stations .....	6
2. 1. 5. Echantillonnage .....	6
2.1.6 Clés d'identification des espèces .....	6
2 .2. Modèles biologiques .....	8
2.2.1. Présentation de la famille des Culicidae .....	8
2.2.2. Présentation de l'espèce .....	10
2.2.3. Elevage en laboratoire .....	10
2.3. Présentation de l'insecticide et bioinsecticide.....	11
2.3.1. Présentation du méthoxyfinozide .....	11
2.3.1.1. Mode d'action le méthoxyfinozide.....	12
2.3.2. Présentation de <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	12
2.3.2.1. Mode d'action du <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	15
2.4. Traitement.....	16
2.4.1. Méthoxyfinozide .....	16
2.4.2. <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	16
2.4.3. Analyse statistique.....	16
<b>3. Résultats</b> .....	19
3.1. Etude toxicologique .....	19
3.1.1 .Effet du méthoxyfinozide .....	19

3.1.2.Effet du <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	26
3.1.3.Comparaison de l'efficacité des produits utiliser .....	32
3.1.4. Répartition du taux de mortalité corrigée.....	34
3.2. Potentiel reproducteur .....	36
3.2.1..Effet le méthoxyfinozide sur le taux d'éclosion des œufs.....	36
3.2.2.Effet <i>Bacillus thuringiensis</i> sur le taux d'éclosion des œufs .....	36
3.3. Les types morphogénitiques .....	40
<b>4. Discussion</b> .....	44
<b>5. Conclusion et perspectives</b> .....	50
<b>6. Références Bibliographiques</b> .....	54

## 1. Introduction

Les Arthropodes sont l'un des embranchements les plus importants du monde animal 85% des espèces animales connues, soit plus d'un million d'espèces dont les trois quarts sont des insectes. Parmi les, un peu plus d'une centaine ont un intérêt médical, soit comme simple nuisance, soit comme hôtes d'agent pathogènes, soit surtout comme vecteurs de maladies (Dumon & Faugere, 1995).

Les moustiques font partie de la classe des hexapodes de l'ordre des Diptères, de la famille des Culicidés qui compte de part le monde environ 3500 espèces et sous-espèces, parmi lesquelles trois sont particulièrement importantes en pathologie humaine : *Anophèles*, *Aedes* et *Culex*. Ce sont des insectes piqueurs hématophages, ils introduisent dans le sang les allergènes contenus dans leur salive. On dit qu'ils sont solénophages car, lors de la piqûre, ils n'aspirent que du sang à l'inverse des taons et des simuliés qui aspirent à la fois du sang et de la lymphe et qui sont de ce fait dénommés telmophages (Bouchet *et al.*, 1999). Les moustiques possèdent de longues et fines pièces buccales qui, après avoir traversé les tissus sous-cutanés, perforent avec précision les capillaires veineux dont ils absorbent le sang en deux à trois minutes, durée habituelle du repas. De 1,5 à 3 mg de sang sont prélevés à chaque piqûre. Les moustiques sont présents sur tous les continents sauf en Antarctique, à proximité de pièces d'eau stagnant, nécessaires au développement des stades immatures (Clements, 1999).

Tous les moustiques ne piquent pas l'homme, mais par le biais du repas de sang, les espèces qui le font représentent une menace, car elles sont potentiellement vecteurs de pathogènes, transmis à l'hôte par la salive injectée au cours de la piqûre. Les moustiques sont ainsi impliqués dans la transmission de dizaines de maladies humaines ou vétérinaires comme le paludisme, la dengue dans le cas de cette dernière l'agent pathogène transmis par un moustique du genre *Aedes* est un arbovirus du flavivirus, infectant chaque année 50 millions de personnes dans le monde (OMS, 2002).

Dans le cas du paludisme, maladie responsable d'un million de décès chaque année et endémique dans 107 pays, un protozoaire du genre *plasmodium* est transmis par une femelle *Anopheles* (OMS, 2005).

Les zones tropicales du globe sont les plus touchées parce que les conditions climatiques, la diversité d'habitats favorisent la prolifération des moustiques, et que l'hygiène et la santé des populations humaines accroît leur vulnérabilité. Les milieux humides dans lesquels se développent les moustiques sont des écosystèmes complexes souvent exposés à des perturbations environnementales importantes causées par l'accumulation des polluants chimiques et agricoles.

Les premiers insecticides utilisés pour lutter contre des moustiques étaient des substances naturelles comme la nicotine et la roténone. La première molécule de synthèse, le DDT (dichlorodiphényltrichloroéthane) fut largement utilisée à travers le monde pour combattre le typhus, les fièvres des tranchées et le paludisme pendant la 2<sup>ème</sup> guerre mondiale (Smith, 2000). Lui succédèrent une longue liste de molécules que l'on regroupe par familles aux modes différents : les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoides.

L'utilisation de prédateur se nourrissant des larves de moustiques s'est présentée comme une approche naturelle du problème. Sous d'autres latitudes, des poissons larvivores furent parmi les premiers organismes employés pour lutter contre les insectes piqueurs (Krumholz, 1948 ; Courtenay & Meffe, 1989 ; Hammer *et al.*, 2002). Au début des années 80, la lutte biologique contre les insectes piqueurs (moustiques et mouches noires) a été mise de l'avant comme alternative aux approches chimiques (Coldrey & Bernard, 1990 ; Bourassa, 2000). À ce jour, les recherches les plus prometteuses concernent l'utilisation d'agents microbiens, en particulier la bactérie *Bacillus thuringiensis* var. *israëlis* (Becker, 2006). Les chercheurs étudient également divers virus, bactéries, champignons et protozoaires parasites (Bourassa, 2000 ; Weiser, 1991 ; Davidson & Becker, 1996 ; Becker, 2003).

L'emploi d'insecticides en démoustication rencontre des contraintes d'ordres écotoxicologique et écologique. La première limite est liée à la capacité des population de moustiques à développer des résistances à certains insecticides au fil des générations (Hemingway *et al.*, 2004).

L'emploi récurrent du même insecticide durant plusieurs années peut induire chez les individus une tolérance ou une mutation leur permettant de contrer l'effet de la matière active. L'emploi alterné de différents insecticides est donc nécessaire pour éviter l'apparition de résistances chez les populations de moustiques.

Toutes les connaissances acquises en physiologie des arthropodes et des insectes, en particulier, ont permis de développer ces dernières années des molécules non polluantes pesticides agissant de manière sélective en perturbant des éléments vitaux dans le développement des organismes visés (Dhadialla *et al.*, 1998). Ces composés nouveaux interfèrent notamment avec les mues, métamorphose et leur conditionnement endocrinologique sont appelés régulateurs de croissance des insectes ou IGRs (Insect Growth regulators) (Degheele, 1990 ; Ishaaya, 1990). Les régulateurs de croissance d'insecte sont des produits de synthèse simulant l'action de l'hormone juvénile ou de l'ecdysone, les deux hormones dont les rôles principaux sont de contrôler la croissance et le développement chez les insectes.

La fin des années 60, Williams (1967) promulgua l'idée de développer des agents de contrôle imitant l'action de l'hormone juvénile afin de perturber le développement normal de l'insecte visé. Par la suite, des analogues de l'ecdysone, l'hormone de la mue, ont été développés et commercialisés. Les analogues de l'hormone juvénile (ex. méthoprène, fénoxycarbe, pyriproxifène et dioféolan) 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 & Gordon, 1989; Mauchamp *et al.*, 1989). Quant aux produits simulant l'ecdysone (ex. RH-5849, tébufénozide et méthoxyfénozide RH-2485), leur principale activité réside dans leur capacité à induire une mue prématurée.

Ce travail vise à évaluer l'efficacité de deux molécules un agoniste de l'hormone de mue, le méthoxyfénozide 22,1% (RH -2485) et un bioinsecticide le *Bacillus thuringiensis* var . *israëlis* ( *Vecto Bac W.D.G 3000 UTI/mg* ) à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta morsitans*, espèce d'importance vétérinaire et la plus abondante du lac des oiseaux, avec la comparaison de leur effet toxicologique , et leur effet sur le potentiel reproducteur .

## 2..Matériel et méthode :

### 2.1. Présentation de la zone d'étude :

#### 2.1.1. Description générale et localisation :

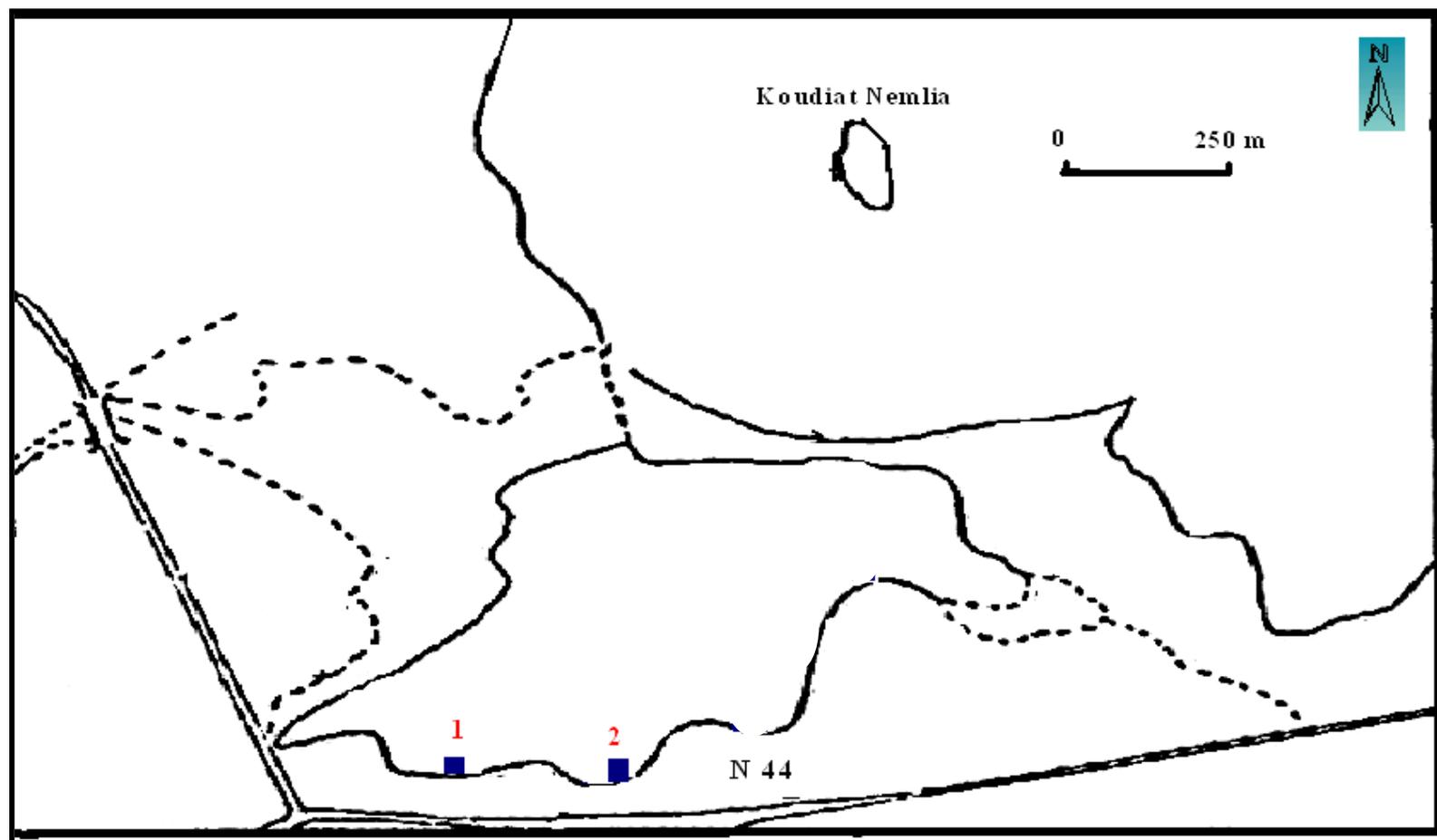
Le lac des Oiseaux est situé à 36° 47' de latitude Nord et 0,8° 7' longitude Est, il doit son nom au grand nombre d'oiseaux migrateurs qui y passent l'hiver (Samraoui *et al.*, 1992). Ce lac se situe à 45 km respectivement, à l'Ouest et à l'Est des villes d'El-Kala et d'Annaba, au bord de la route nationale 44 près d'un village portant le même nom. C'est un lac d'eau douce d'une superficie de 70 hectares en période hivernale et 40 hectares en période sèche. Seul un chemin de Wilaya le sépare de la partie la plus orientale du Marais de la Mekhada, avec lequel il partage le même bassin versant. C'est une cuvette qui se penche vers Koudiat Nemlia au Nord et au Nord-Est et djebel Bou Abed au Sud et au Sud-Est (Figure1). L'alimentation hydrologique se fait naturellement par les eaux superficielles du ruissellement du bassin versant et par les eaux souterraines des grès de Numidie du Sud. Le lac a connu trois assèchements au total, le dernier remonte à l'année 1992 où il a été mis en culture pendant l'été (Gehu *et al.*, 1993).

#### 2.1. 2. Aperçu géologique :

Le fond argileux et sablonneux du lac explique sa permanence à l'eau (Samraoui *et al.*, 1992). Les rives du lac sont : Sablonneuses en surface et argileuses en profondeur au Sud-Est. et riches en humus avec de l'argile épaisse au Nord-Est.

#### 2.1.3. Végétation aquatique :

L'eau libre du lac est occupée de l'extérieur vers l'intérieur par une variété d'espèces (Samraoui *et al.*, 1992) . Les berges sont recouvertes sur une large bande (cinq mètres environ) de Sripes, de Typha, de Renouées et de Roseaux, la végétation émergée pénètre par endroits jusqu'à 70 mètres vers l'intérieur du lac. Le substratum du plan d'eau libre est recouvert d'une végétation submergée très dense poussant sur un sol de vase riche. Elle est représentée notamment par des Potamotsdes Myriophiles, des Ceratophylles, des Renoncules : *Ranunculus aquatilis*, *Lemna minor* et *Nymphaea alba* (Berrak ,2009).



**Figure 1.** Localisation des deux stations d'étude dans lac des oiseaux  
(Samraoui *et al.*, 1992).

#### **2.1.4. Choix des stations :**

Une station correspond à une surface dont les paramètres écologiques sont homogènes. Il est difficile de faire un choix judicieux des stations typiques de prélèvements. Cependant, nous avons pu le faire en tenant compte de plusieurs critères : la végétation, la profondeur et l'accessibilité. Deux stations ont été donc retenues sur toute la rive (Figure 2, 3)

#### **2.1.5. Echantillonnage :**

Notre travail consiste en un échantillonnage qualitatif et quantitatif à la fréquence de trois sorties durant le mois de Novembre et Décembre 2008. Les échantillons pré-imaginaux ont été récoltés à l'aide d'une louche de 500 millilitres pour les larves. Le tri des larves et des nymphes se fait au laboratoire en vue d'une étude systématique.

#### **2.1.6. Clés d'identification des espèces :**

La systématique des Culicidae a été étudiée principalement à l'aide d'un logiciel d'identification (Moustique d'Europe) (Schaffner *et al.*, 2001) et une clé dichotomique (Himmi *et al.*, 1995). L'identification de la femelle repose sur la morphologie externe : répartition et couleur des écailles, structure de l'aile et celle de l'extrémité postérieure abdominale, la répartition des soies et des écailles sur le thorax permettant la distinction des genres et des espèces. Chez les mâles la structure et la chétotaxie de l'hypopygium sont nécessaires pour la détermination du genre et des espèces. Les larves du quatrième stade sont très utilisées dans ce domaine, vu la facilité de leur pêche et leur chétotaxie qui permet l'identification des espèces et des sous espèces.



**Figure 2.** Lac des oiseaux, Station 1



**Figure 3.** Lac des oiseaux, Station 2

## 2.2. Modèles biologiques :

### 2.2.1. Présentation de la famille des Culicidae :

Les moustiques sont des Arthropodes appartenant au sous-embranchement des Antennates, à la classe des [Insectes](#) de l'ordre des [Diptères](#) et du sous-ordre des [Nématocères](#). Ils sont regroupés dans la famille des Culicidae qui est caractérisée par des individus aux antennes longues et fines à multiples articles et par des femelles possédant de longues pièces buccales en forme de trompe rigide de type piqueur suceur.

Le développement des moustiques se caractérise par deux phases distinctes. Un cycle pré imaginal qui se déroule en milieu aquatique et regroupe l'oeuf, les quatre stades larvaires et la nymphe (Figure .4).

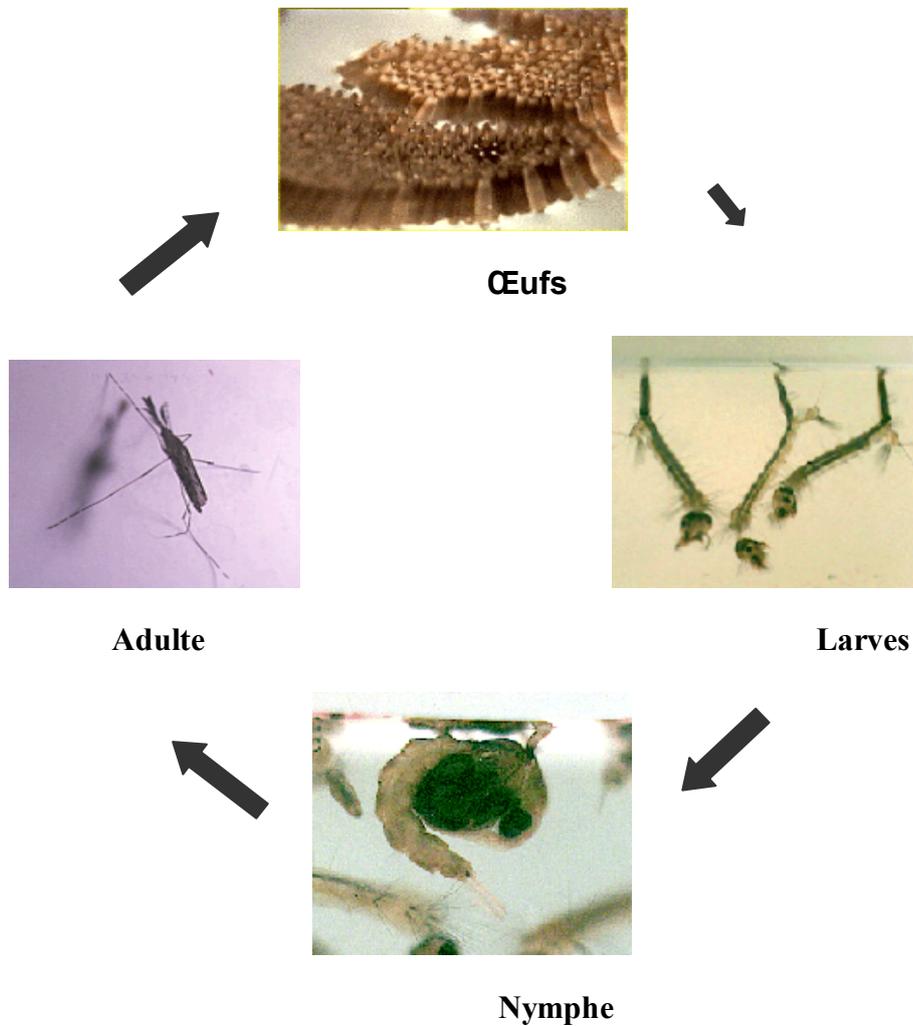
**Œufs :** Les œufs, fusiformes, mesurent environ 1 millimètre de longueur : ils sont déposés soit à la surface de l'eau, isolément (*Aedes* et *Anopheles*) ou groupés en nacelles de 50 à 200 œufs (genres *Culex*, *Culiseta*, *Orthopodomyia* et *Uranotaenia*), soit sur un substrat humide susceptible d'être inondé (*Aedes*).

**Larve :** Les mues larvaires des Culicidae sont au nombre de quatre, les trois premiers stades présentent généralement des caractères chétotaxiques variables, ne permettant pas une identification sûre des espèces et une bonne dichotomie dans une éventuelle clé de détermination. Ce stade est aquatique. Les larves de *Culicidae* se différencient des autres insectes aquatiques par l'absence de pattes. Ces larves sont clairement constituées de trois parties : une tête pourvue d'une paire d'antennes, une paire de mandibules armées de dents sur leur bord distal qui forment avec le mentum l'appareil masticateur, qui est flanqué d'une paire de brosses buccales qui entraînent les aliments vers cet appareil. Un thorax plus large que la tête. Un abdomen pourvu au niveau du huitième segment d'un siphon respiratoire pour deux des trois sous-familles *Toxorhynchitinae* et *Culicinae*.

**Nymphe :** La nymphe présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires. L'extrémité abdominale est aplatie en palettes ou nageoires. Au niveau du céphalothorax se distinguent les ébauches de divers organes : yeux, proboscis, pattes, ailes

La nymphe ne se nourrit pas mais, durant ce stade, le moustique subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte.

**Adulte** : Au stade adulte, leur taille varie selon les genres et espèces de 3 à 20 mm mais elle ne dépasse que très rarement les 10 mm.



**Figure 4.** Cycle de développement d'un Culicinea.

(Berrak,2009)

### 2.2.2. Présentation de l'espèce :

L'espèce la plus abondante du lac des oiseaux est, les larves de *Culiseta morsitans* apparaissent à la faveur des pluies d'automne. C'est une espèce univoltin qui se développe d'une manière ralentie (Schaffner, 1992), hiberne au stade de l'œuf (Morris *et al.*, 1976) et il ne se produit qu'une génération d'adulte de grande longévité par saison (Wood *et al.*, 1979). Les larves se développent dans les marse temporaire, mais aussi dans les drains encombrés de végétation, dont l'eau est courant. Ces gîtes peuvent être ombragés ou ensoleillé. Les adultes éclosent à la fin du printemps.

La position systématique selon (Schaffner *et al.*, 2001) est la suivante :

Embranchement	Arthropoda
Sous embranchement	Antennata
Classe	insecta
Sous classe	Pterygota
Ordre	Diptera
Sous ordre	Nematocera
Famille	Culicidae
Sous famille	Culicinae
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèce	<i>morsitans</i> (Theobald, 1901)

### 2.2.3. Elevage en laboratoire :

Les larves de *Culiseta morsitans* proviennent d'un élevage de laboratoire qui ont fait l'objet d'une identification selon le logiciel moustique d'Europe de (Schaffner *et al.*, 2001).

#### 2.2.3.1. A l'état larvaire :

Les larves de *Culiseta morsitans* ont été récoltées dans le lac des oiseaux, et sont élevées dans des récipients contenant 350 ml d'eau et nourries avec du mélange biscuit-levure (75% -25%) selon Rehimy et Soltani (1999), la levure permet apport un protéique pour la vitéllogénèse. Une fois que les larves atteignent le stade nymphal, elles sont disposées dans des cages où elles se transformeront en adulte.

### 2.2.3.2. A l'état adulte :

Dès l'émergence, les adultes se nourrissent liquide sucré des dattes suspendues dans la cage, un repas sanguin est indispensable à la ponte des femelles, elles l'obtiennent par l'introduction d'un pigeon dans une cage, puis on place des récipients contenant de l'eau déchlorénisé, ou elles peuvent pondre, ensuit les œufs en amas, flottent a la surface de l'eau.

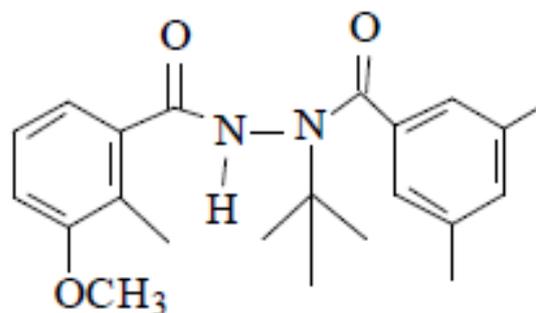
## 2.3. Présentation de l'insecticide et bioinsecticide :

### 2.3.1. Présentation du méthoxyfinozide (RH-2485):

La matière active de l'insecticide Intrepid 240F, connu sous le nom de méthoxyfénozide, appartient à la catégorie des insecticides du groupe des bisacylhydrazines , qui sont des agonistes de deuxième génération de l'ecdysone. Ce produit agit principalement par ingestion. Comme l'insecticide Intrepid 240F. Les caractères du méthoxyfinozide sont les suivants:

Matière active	méthoxyfinozide
Nom commercial	Interpid 240F
Nom chimique	2-(3,5-diméthylbenzoyl)-2-(1,1-diméthyl) hydrazide de l'acide3-méthoxy-2-méthylbenzoïque
Formule moléculaire	C <sub>22</sub> H <sub>28</sub> N <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Poids moléculaire	368,47 g

Structure chimique (Figure 5)



**Figure 5.** Structure chimique du méthoxyfinozide (Dhadiala *et al.* , 1998).

Le méthoxyfinozide ( RH-2485 ) est un régulateur de croissance des insectes, agoniste de l'hormone de mue, 20-hydroxyecdysone (20 E ) , qui mime l'action de l'hormone de mue en se fixant aux récepteurs nucléaires spécifiques (EcRs) des ecdystéroïdes naturels (Winget *al* .,1988 ; Carlson *et al.*,1994, Oberlander *et al* .,1995). 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, (Dhadialla *et al* ., 2005 ).

### **2. 3.3. Présentation du *Bacillus thuringiensis* var . *israëlis* ( Vecto Bac W.D .G 3000 UTI /mg )**

Plusieurs variétés de bactéries ont été associées aux différents types d'insectes, les plus importantes sont celles qui appartiennent à l'ordre Eubactérie de la famille de Bacillaceae, où se trouve l'une des bactéries les plus toxiques nommée : *Bacillus thuringiensis*, découverte pour la première fois en 1901 par le bactériologiste japonais S .Ishiwata à partir de vers à soie *Bomby mori* infecté.

En 1911, en Allemagne, E.Berliner a rédigé la première description scientifique de la bactérie au sein de ses études pour déterminer les types de bactéries pathogènes pour les insectes, ce dernier a pu classer la bactérie en 1915 immédiatement après l'étude de ses caractéristiques biologiques en tant que la forme, le mouvement, la ventilation, la couleur et la nature spécifique de flagelles (Beegle & Yamamoto, 1992).

La bactérie a la forme d'un bâtonnet de 5µm de longueur sur 1µm de largeur, aérobie, Gram positif et est pourvue de courts flagelles ciliés , elle produit des spores au cours de son cycle biologique, se rencontre dans différents milieux : le sol, l'eau, l'air et sur le feuillage (Hofte & Whiteley ,1989 ; Martin ,1994). Le professeur Margatit a découvert une bactérie qui n'a jamais été illustrée au monde jusqu' au premier temps et celui était dans le cadre de l'étude classifiée des parasites pathogènes pour les insectes en Israël , où il a été trouvé dans un gîte , des laves mortes de *Culex pipiens*

Après son analyse d'échantillon, il a prouvé la présence de nouvelle lignée de bactérie de *Bacillus thuringiensis* qui a été nommée *Bacillus thuringiensis israelensis* ou *Bacillus thuringiensis serotype* (Goldberg & Margalit , 1977).

Cette bactérie a été isolée à partir de différents milieux tels que le sol et l'aire pour déterminer la relation qui existe entre ses protéines cristallisées et sa toxicité contre les moustiques (Martin & Traves ,1989), et elle est restée une théorie jusqu' à sa confirmation par les expériences pour être utilisées comme un agent biologique pour la lutte des insectes en1981 , ou il a été démontré que cette bactérie était toxique pour certains types d'insectes surtout contre les moustiques,ou elle été utilisée comme pesticides biologiques sous plusieurs formes : un granulé , un poudre et suspension (Thiery *et al.*, 1996)

La Position systématique est la suivante :

Embranchement	Fermicutes
Sous embranchement	Eubacterie
Classe	Bacilli
Ordre	Bacillales
Famille	Bacillaceae
Genre	<i>Bacillus</i>
Espèce	<i>thuringiensis</i>
Sous –genre	<i>israelensis</i>

**2.3.3. 1. Cycle biologique du bactérie:** comprend les phases suivantes (Figure 6).

**a. Phase de germination :**

Basée sur la Réhydratation de la spore et production de la cellule végétative.

**b. Phase active:**

Caractérisée par la croissance et la multiplication des cellules végétative, chaque cellule se divise en deux cellules génétiquement identiques, lorsque le milieu devient appauvri pour l'un des nutriments essentiels,

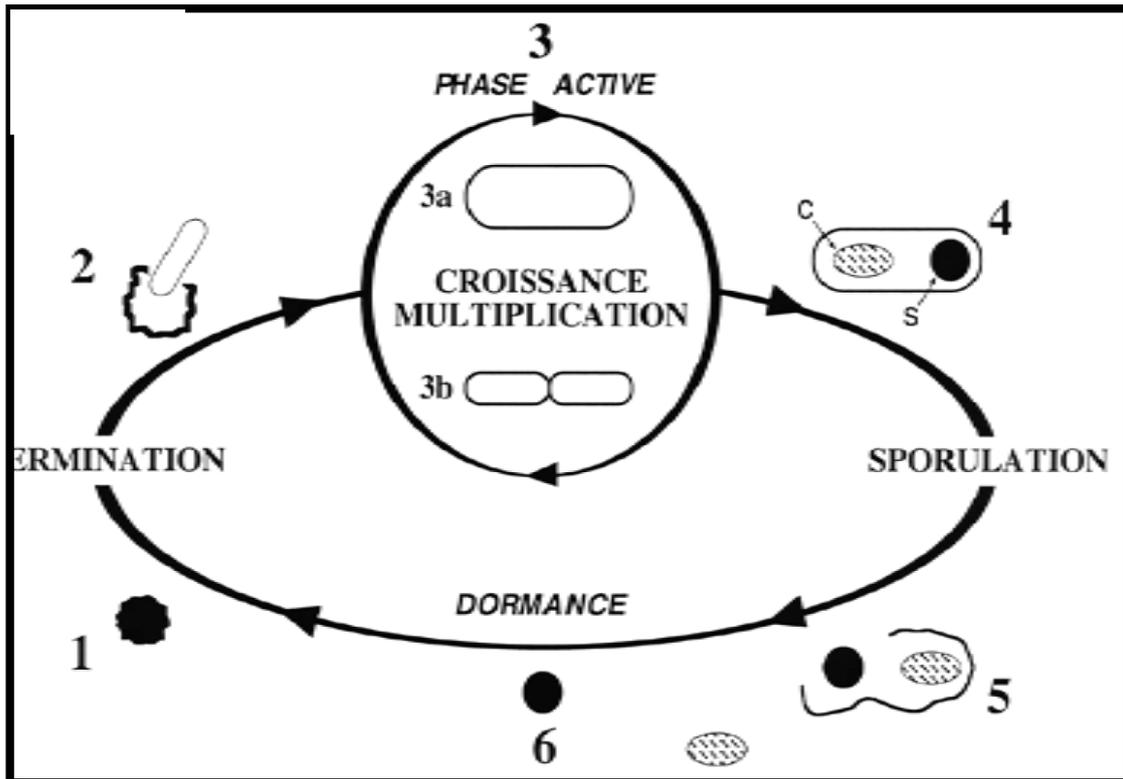
La bactérie entre alors en phase stationnaire et s'engage dans un processus qui aboutit à la formation des spores, où elle subit des modifications physiologiques et biochimiques aboutissant aux formations des protéines cristallines.

**c. Phase de sporulation :**

Dans les conditions défavorables, les spores se forment et les membranes des cellules bactériennes s'éclatent en libérant la spore.

**d. Période de dormance :**

La spore résiste aux conditions défavorables (Alimentation, température, pH), le cycle biologique reprend de par la transformation des spores en de nouvelles cellules bactériennes (Lereclus *et al*, Honnée & Visser, 1993 ; Mrgalith & ben-dov, 2000)

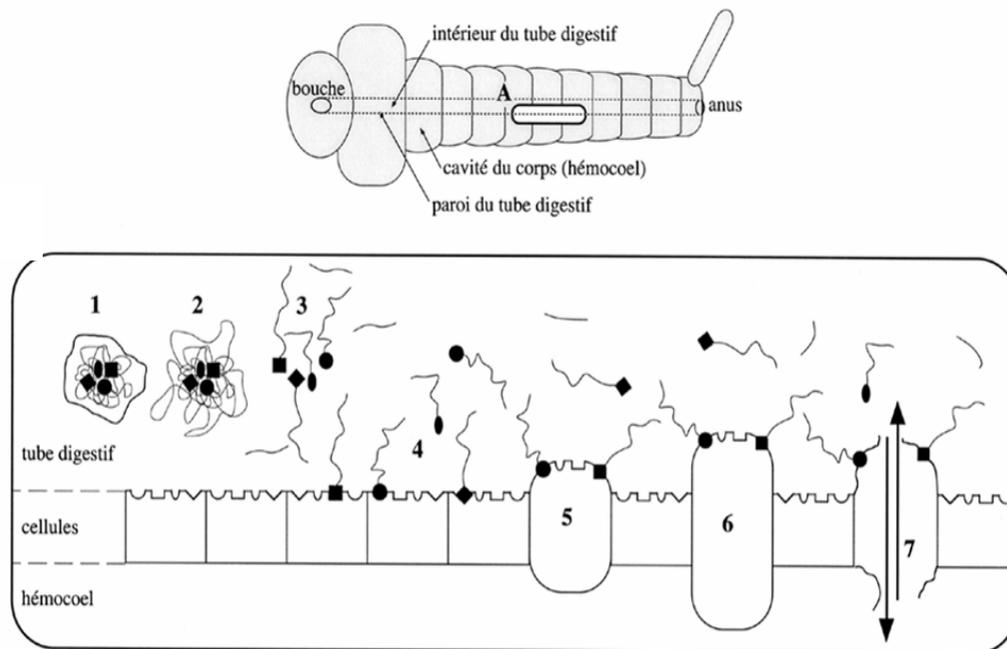


**Figure 6.** Schématisation d'un cycle vital d'un *Bacillus thuringiensis*  
(Lacousiere & Boisvert , 2004)

- 1-Germination : réhydratation de la spore.
- 2-Production de la cellule végétative.
- 3- Croissance et multiplication.
- 4-Sporulation (S) formation de la spore, (C) l'inclusion.
- 5-Lyse.
- 6-Période de dormance.

### 2.3.3.2. Mode d'action

La bactérie produit une protéine cristallisée, qui est toxique durant l'étape de sporulation de son cycle de uniquement pour les larves de moustiques et de mouches noires. Ces cristaux microscopiques sont ingérés par les larves des insectes lorsque celles-ci se nourrissent. Dans le milieu alcalin de l'appareil digestif de ces insectes sensibles, les cristaux se dissolvent et se transforment en molécules protéiques toxiques qui détruisent les parois de l'estomac. Les insectes cessent habituellement de se nourrir dans les heures qui suivent leur exposition au Bti et meurent en quelques jours (Figure 7) .



**Figure 7.** Représentation schématique du mode d'action des cristaux de *Bacillus thuringiensis* (Lacousiere & Boisvert, 2004).

- 1 - Dissociation des cristaux dans le liquide alcalin du tube digestif.
- 2 - Libération de longues chaînes de protéines.
- 3 - Sectionnement des protéines par des enzymes pour produire les segments toxiques.
- 4 - Fixation des enzymes sur des récepteurs spécifiques.
- 5-6-7 – Gonflement, éclatement des cellules affectées et perforation de la paroi du tube digestif.

## 2.4. Traitement

### 2.4.1. Méthoxyfinozide (RH-2485) :

Une formulation du méthoxyfinozide 22,1 % de matière active à été fournie par le professeur Smaggh (Laboratoire d'Agrozoologie Université de Gent,Belgique ) , a été diluée a fin d'obtenir les concentrations 0,012 - 0,024 - 0,036 - 0,048 - 0,072 - mg/l (Bouauina ,2008) on a fait trois répétitions avec les témoins . Les différent concentrations on été appliquées dans des récipients contenant, chacun 200 ml d'eau et 25 larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta morsitans* selon les recommandation de l'organisation mondial de la santé (OMS, 1983). Après 24h de traitement, les larves sont rincées et placées dans des nouveaux récipients contenant de l'eau déchlornisée et de la nourriture. Le test a été suivi on engesetrant les taux de mortalité des défferents concentrations jusqu'à l'émergence.

### 2.4.2. *Bacillus thuringiensis var. israelensis* :

Avant le traitement des larves de moustique avec le bioinsecticides de *Bacillus thuringiensis israelensis*, on prépare la solution mère de 25 mg de bioinsecticide qui a été dispersé dans 1 litre d'eau, on a fait trois répétitions avec les témoins. Les diverses dilutions utilisés au cours des tests de toxicité a fin d'obtenir les concentrations suivante 4,67- 7,01 - 9,35 - 23,37 ( $\mu\text{g/ml}$ ), ont été appliquées dans des récipients contenant, chacun 200 ml d'eau et 25 larves du quatrième stade nouvellement exuviées, selon le protocole experimental et les meme condition de laboratoire.

### 2.4.3. Analyse statistique

Une analyse statistique a été menée afin de déterminer l'effet du méthoxyfinozide et le *Bacillus thuringiensis var. israelensis* à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta morsitans* et d'estimer la concentration létale  $CL_{50}$  et ces l'intervalles de confiance pour chaque produit.

- **La Mortalité observée (%) :**

La mortalité observée est enregistrée à partir de 24 heures jusqu'à la dernière larve traitée morte et l'émergence du dernier adulte .elle est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée (\%)} = \frac{\text{mortalité des individu morts après le traitement}}{\text{Nombre total d'individus traité}} \times 100$$

- **La Mortalité corrigée (%) :**

La mortalité observée est corrigée par la formule d'Abbott (1925), afin d'éliminés la mortalité naturelle, elle est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Mortalité corrigée (\%)} = \frac{\text{mortalité des traités} - \text{mortalité des témoins}}{100 - \text{mortalité observés des témoins}} \times 100$$

**Transformation angulaire :**

Après transformation angulaire des pourcentages de mortalité selon Bliss , cité par Fisher et Yates (1957) les données ainsi normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification réalisée grâce à un logiciel Minitab (Weisberg, l'écart type  $m \pm s$ ).

**Analyse des probits :**

Les pourcentages de mortalité corrigée subissent une transformation en probits (Finney, 1971). Les logarithmes des doses en fonction des probits nous permettent de déterminer la droite de régression, à partir de laquelle la concentration létale CL 50 est estimée.

La méthode de Swaroop (1957), précise l'intervalle de confiance avec une probabilité de 95% deux paramètres sont nécessaires :

- 1<sup>er</sup> paramètre est le slope, noté par (S), est donné par la formule :

$$S = \frac{CL_{84} / CL_{50} + CL_{50} / CL_{16}}{2}$$

- 2<sup>ème</sup> paramètre est  $f$  CL 50 est donnée par la formule :

$$f \text{ CL50} = S^{2,77} \sqrt{N}$$

N : effectif total des individus morts entre 16 % et 84 %

$$\text{Log } f \text{ CL50} = \log S^{2,77} \sqrt{N}$$

$$f \text{ CL } 50 = \text{Antilog } \frac{2,77 \times S}{\sqrt{N}}$$

$$\text{Limite supérieure} = f \text{ CL } 50 \times \text{CL } 50$$

$$\text{Limite inférieure} = f \text{ CL50} / \text{CL50}$$

#### **Test t de student :**

La comparaison des taux d'éclosion des œufs pondus par les femelles *Cs morsitans* émagés après le traitement des larves du quatrième stade de *Cs morsitans* chez les séries témoins et traités est réalisée avec le test t de student.

### 3. Résultats

#### 3.1. Etude toxicologique

L'étude toxicologique a permis de déterminer les taux de mortalité enregistrés après le traitement à partir des calculs de la mortalité directe pour le stade traité et une mortalité cumulée pour tous les stades qui suivent.

##### 3.1.1. Effet du méthoxyfénazine :

###### 3.1.1.1. Mortalité observée directe :

L'efficacité du produit commercial, le méthoxyfénazine (RH-2485) a été évaluée aux concentrations 0,012 - 0,024 - 0,036 - 0,048 et 0,072 (mg/l) sur des larves du quatrième stade nouvellement exuvies chez *Cs. morsitans*. La mortalité observée est mentionnée dans le tableau 1, qui met en évidence une meilleure efficacité à la concentration la plus élevée de 0,072 mg/l avec une moyenne de  $66,66 \pm 4,61$  % comparativement au témoin, on observe une augmentation des taux de mortalité. La mortalité observée (%) sont corrigées (Tableau 2), comme le montre des moyennes qui varient entre  $8,69 \pm 7,3$  et  $63,84 \pm 3,84$  respectivement pour les concentrations de 0,012 et 0,072 mg/l. Après une transformation angulaire des mortalités corrigées (Tableau 3), l'analyse de la variance des données révèle un effet dose hautement significatif ( $P < 0,001$ ) (Tableau 4)

**Tableau 1.** Effet du RH-2584 (mg /l) sur des larves du quatrième stade chez *Cs. morsitans* :  
Mortalité observée (%) ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

Concentrations (mg/l) / Répétitions	Témoins	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	4	8	28	40	44	64
2	8	36	32	32	40	64
3	12	24	28	32	36	62
$m \pm s$	$8,00 \pm 4,00$	$16,00 \pm 8,00$	$29,33 \pm 2,3$	$34,66 \pm 4,61$	$40,00 \pm 4,00$	$66,66 \pm 4,61$

**Tableau 2.** Effet du RH-2584 (mg /l) sur des larves du quatrième stade chez *Cs. morsitans*:  
Mortalité corrigée (%) ( $m \pm s$ , n = 3).

Concentrations (mg/l) Répétitions	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	4,16	25	37,5	41,66	52,5
2	17,39	26,08	26,08	34,78	60,86
3	4,54	18,18	22,72	27,27	68,18
$m \pm s$	$8,69 \pm 7,3$	$23,08 \pm 4,28$	$28,76 \pm 7,74$	$34,57 \pm 7,19$	$63,84 \pm 3,84$

**Tableau 3.** Effet du RH-2584 (mg /l) sur des larves du quatrième stade chez *Cs. morsitans* :  
Transformation Angulaire.

Concentrations (mg/l) Répétitions	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	11,54	30,00	37,46	39,82	51,94
2	24,39	30,66	30,66	35,67	50,77
3	11,54	25,10	27,92	31,31	55,55
$m \pm s$	$15,82 \pm 6,05$	$28,59 \pm 2,47$	$32,01 \pm 4,01$	$35,6 \pm 3,47$	$54,75 \pm 2,98$

**Tableau 4.** Effet du RH-2584 sur des larves du quatrième stade chez *Cs. morsitans* :

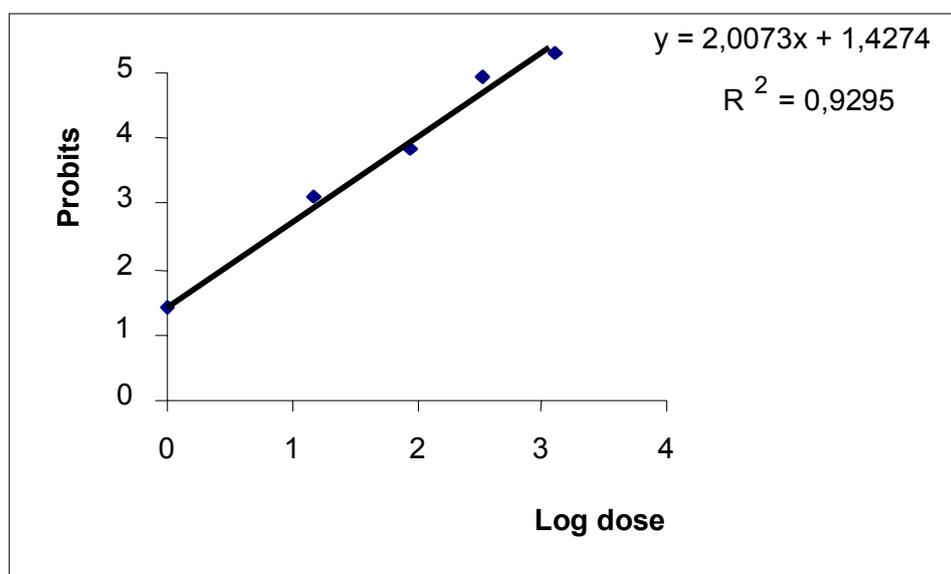
Analyse de la variance des données transformées.

Sources de variation	ddl	SCM	CM	Fobs	<i>p</i>
Factorielle	4	2140,08	533,2	22,91	0,000***
Résiduelle	10	233,6	23,4		
Totale	14	2374,4			

L'équation de la droite de régression des probits du pourcentage de la mortalité corrigée est exprimée en fonction du logarithme décimal des doses du RH-2485 (Tableau 5, figure 8), le coefficient de détermination ( $R^2 = 0,92$ ) révèle une liaison positive entre les probits et le logarithme des doses testées.

**Tableau 5.** Transformation en probit des mortalités corrigées et des doses en logarithmes décimaux.

Doses ( $\mu\text{g/l}$ )	12	24	36	48	72
Log doses	1,0791	1,3801	1,5563	1,6812	1,8572
Mortalité corrigée (%)	8,69	23,08	28,76	34,57	63,84
Probits	3,6405	4,2612	4,4408	4,6039	5,3531



**Figure 8.** Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des doses.

La concentration létale  $CL_{50}$  est déterminée à partir de la droite de régression dont 0,059 mg/l, la valeur est limitée entre les intervalles de confiance, l'inférieur égale 0,021 et le supérieur 0,077 mg/l, avec un slope de 3,12 (Tableau 6).

**Tableau 6 :** Efficacité du RH-2485 (mg/l) sur des larves du quatrième stade chez *Cs. morsitans* : Analyse des probits.

Traitement	Equation de régression	Slope	$CL_{50}$ mg/l	Intervalle de confiance (mg/l)
RH-2485	$y = 2,0077x + 1,4274$	3,12	0,059	0,021 - 0,077

### 3.1.1.2. Mortalité observée cumulée :

Les résultats obtenus après le traitement des larves du quatrième stade et suivie jusqu'à l'émergence, nous ont permis de calculer les taux de mortalité différée mentionnée dans le tableau 7 avec une relation dose-réponse. Les moyennes enregistrées varient de  $9,33 \pm 2,3$  % pour la concentration de  $0,012$  mg/l et  $30,66 \pm 2,3$  % pour  $0,072$  mg/l comparativement au témoin avec une valeur de  $4,00 \pm 0$  %. D'après le tableau 8 on enregistre une augmentation des taux de mortalité cumulée corrigée. Après une transformation angulaire des mortalités corrigées (Tableau 9), l'analyse statistique des données (Tableau 10), révèle un effet dose hautement significatif ( $P < 0,001$ ).

**Tableau 7.** Effet du RH-2584 (mg /l) après traitement de quatrième stade larvaire de *Cs. morsitans* : Mortalité observée cumulée (%) ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

Concentrations (mg/l) / Répétitions	Témoins	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	4	8	16	20	28	32
2	4	12	12	24	28	32
3	4	8	12	20	24	28
$m \pm s$	$4,00 \pm 0$	$9,33 \pm 2,3$	$13,33 \pm 1,08$	$21,33 \pm 1,99$	$26,33 \pm 1,88$	$30,66 \pm 2,3$

**Tableau 8.** Effet du RH-2584 (mg /l) après traitement de quatrième stade larvaire de *Cs. morsitans*. Mortalité corrigée (%) ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

Concentrations (mg/l) / Répétitions	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	4,16	12,5	16,66	25,00	29,16
2	8,33	8,33	20,83	25,00	29,16
3	4,16	8,33	16,66	20,82	25,00
$m \pm s$	$5,55 \pm 1,96$	$9,72 \pm 2,40$	$18,05 \pm 1,76$	$23,61 \pm 1,08$	$27,77 \pm 1,96$

**Tableau 9.** Effet du RH-2584 après traitement de quatrième stade larvaire *Cs .morsitans* : Transformation Angulaire.

Concentrations (mg/l) / Répétitions	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	11,54	18,43	23,58	30,00	32,58
2	16,43	16,43	26,57	30,00	32,58
3	11,54	16,43	23,58	26,57	30,00
m ± s	13,17 ± 2,3	17,09 ± 1,15	24,57 ± 1,72	28,85 ± 1,61	31,72 ± 1,21

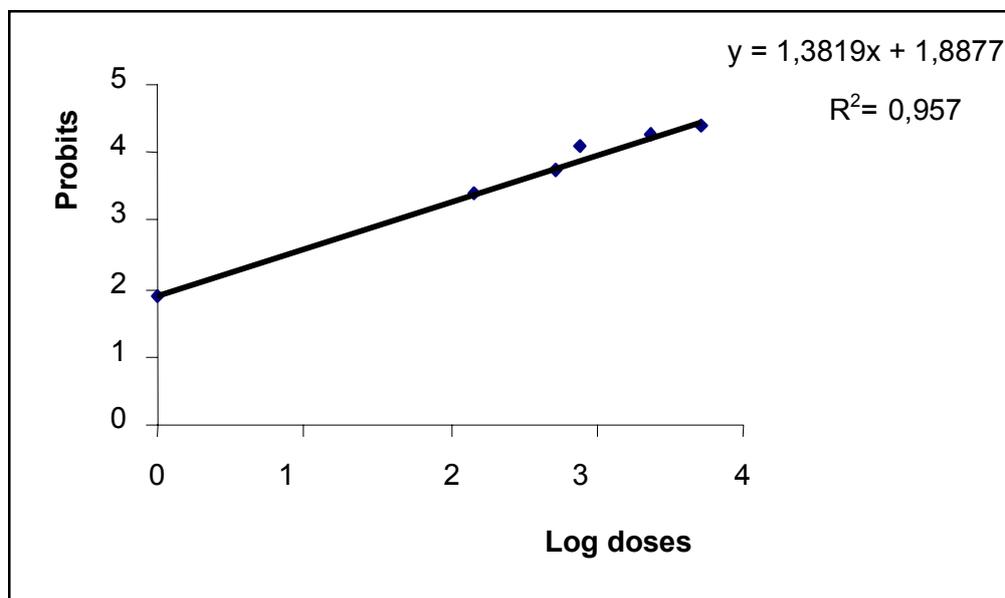
**Tableau 10.** Effet du RH-2584 après traitement de quatrième stade larvaire *Cs . morsitans* : Analyse de la variance des donnes transformées.

Sources de variation	ddl	SCM	CM	Fobs	p
Factorielle	4	711,67	177,92	40,42	0,000***
Résiduelle	10	44,01	4,90		
Totale	14	755,69			

L'équation de la droite de régression est exprimée par les probits du pourcentage des taux des mortalité corrigée en fonction du logarithme décimal des doses du RH-2485 (Tableau 11), le coefficient de détermination ( $R^2 = 0,95$ ) révèle une liaison positive entre les probits et le logarithme des doses testés (Figure 9).

**Tableau 11** .Transformation en probits des mortalités corrigé et des doses en logarithmes décimaux des doses.

Doses (µg/l)	12	24	36	48	72
Log doses	1,0791	1,3801	1,5563	1,6812	1,8572
Mortalité corrigée (%)	5,55	9,72	18,05	23,61	27,77
Probits	3,4028	3,7012	4,0846	4,2808	4,4082



**Figure 9.** Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des doses ( $R^2 =$  coefficient de détermination).

La Concentration létale CL 50 qui a été déterminée à partir de la droite de régression est de 0,082 mg/l avec intervalles de confiance 0,051 et 0,131 mg/l avec un Slope de 4,46 (Tableau 12).

**Tableau 12** . Analyse des probits après traitement des larves du quatrième stade *Cs morsitans* : Analyse des probits avec le RH-2485.

Traitement	Equation de régression	Slope	CL 50 mg/l	Intervalle de confiance (mg/l)
RH-2485	$y = 1,3819x + 1,8877$	4,46	0,082	0,051 - 0,131

### 3.1.2. Effet du *Bacillus thuringiensis* :

#### 3.1.2.1. La mortalité observée directe

L'activité biologique du *Bacillus thuringiensis*, a été évalué avec des concentrations 4,67 – 7,01 – 9,35 et 23,37 µg/ml sur des larves du quatrième stade nouvellement exuvies chez *Cs morsitans*. Les taux de mortalité observés enregistrés pour les différentes concentrations montrent que *Bit* a un effet sur la mortalité des larves en particulier pour la dose la plus forte 23,37 µg/ml comparativement au témoin, on observe une augmentation des taux de mortalité (Tableau 13). Les valeurs corrigées (Tableau 14). Subissent une transformation angulaire avec des moyennes variant entre  $30,44 \pm 0,38$  et  $56,49 \pm 4,79$  pour la concentration plus élevée (Tableau 15). L'analyse de la variance des données transformées montre l'impact des différentes concentrations utilisée, sur la mortalité des larves qui révèle un effet dose hautement significatif ( $P < 0,001$ ), comme le montre le tableau 16.

**Tableau 13.** Effet du *Bacillus thuringiensis* (µg/ml) sur des larves de *Cs morsitans* : Mortalité observée directe (%) ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ )

Concentrations (µg/ml) Répétitions	Témoins	4,67	7,01	9,35	23,37
1	8	32	36	60	68
2	4	28	48	48	72
3	8	32	40	52	64
$m \pm s$	$6,66 \pm 2,3$	$30,66 \pm 2,3$	$41,33 \pm 4,98$	$52,00 \pm 6,92$	$69,33 \pm 2,3$

**Tableau 14.** Effet du *Bacillus thuringiensis* ( $\mu\text{g/ml}$ ) sur des larves de *Cs. morsitans* :  
Mortalité corrigée directe (%).

Concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ ) Répétitions	4,67	7,01	9,35	23,37
1	26,08	30,43	56,52	65,21
2	25,00	45,83	45,83	70,83
3	26,08	34,78	47,82	65,21
m $\pm$ s	25,72 $\pm$ 0,62	37,01 $\pm$ 7,93	50,05 $\pm$ 5,68	67,08 $\pm$ 3,24

**Tableau 15.** Effet du *Bit* sur des larves de *Cs. morsitans* : Transformation angulaire.

Concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ ) Répétitions	4,67	7,01	9,35	23,37
1	30,66	33,21	48,45	53,73
2	30,00	42,13	42,13	56,70
3	30,66	35,67	43,28	53,73
m $\pm$ s	30,44 $\pm$ 0,38	37,82 $\pm$ 3,73	44,62 $\pm$ 3,36	56,49 $\pm$ 4,79

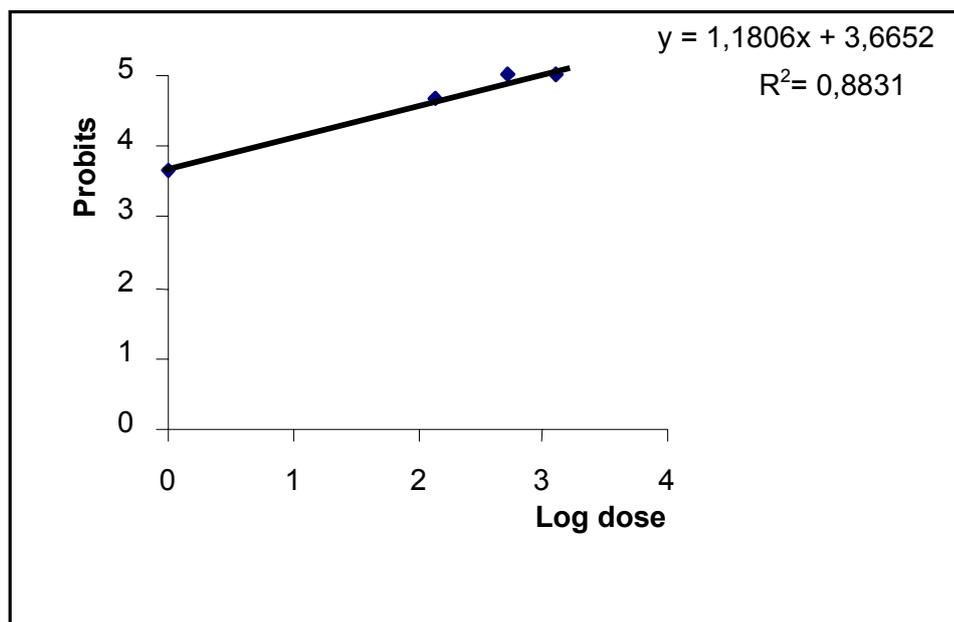
**Tableau 16.** Effet du *Bacillus thuringiensis* sur des larves de *Cs. morsitans* :  
Analyse de la variance des données transformées.

Sources de variation	ddl	SCM	CM	Fobs	p
Factorielle	3	980,68	326,89	36,69	0,000***
Résiduelle	8	71,29	8,91		
Totale	11	1051,96			

La droite de régression (Figure 10) est réalisée par les probits du pourcentage de mortalité corrigée est exprimée en fonction du logarithme décimal des doses dans le Tableau 17. Le coefficient de détermination ( $R^2 = 0,88$ ) révèle une liaison positive entre les probits et le logarithme des doses testés.

**Tableau 17.** Effet du *Bacillus thuringiensis* sur des larves du quatrième stade chez *Cs. morsitans* : Transformation en probits des mortalités corrigée.

Doses (µg/ml)	4,67	7,01	9,35	23,37
Log doses	0,669	0,849	0,9708	1,368
Mortalité corrigée (%)	25,72	37,01	50,05	67,08
Probits	4,3474	4,6681	5,0000	5,1986



**Figure 10 .** Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des doses ( $R^2 =$  coefficient de détermination).

La concentration létale CL 50 déterminée a partir de la droite de régression est de 13,50 µg/ml, limité entre la dose létale inférieur 0,01 µg/ml et la supérieur 18,09 µg/ml avec un Slope de 4,26 (Tableau 18).

**Tableau 18.** Efficacité du *Bacillus thuringiensis* sur des larves du quatrième stade chez *Cs. morsitans* : Analyse des probits.

Traitement	Equation de régression	Slope	CL50 µg/ml	Intervalle de confiance µg/ml
<i>Bacillus thuringiensis</i>	$y = 1,1806x + 3,6652$	4,26	13,5	0,01 – 18,09

### 3.1.2.2. Mortalité observée cumulé :

Les résultats mentionnés dans le tableau 19, montrent que l'effet du *Bti* sur la mortalité cumulée varie entre  $10,66 \pm 2,3$  % et  $29,33 \pm 1,02$  % respectivement pour les concentrations 4,67 et 23,37 µg/ml . Dans le tableau 20, on observe une augmentation de taux de motrtalité corrigée, qui enregistre entre  $4,22 \pm 0,10$  pour 4,67 µg/ml et  $26,81 \pm 3,13$  pour 23,37 µg/ml .Après une transformation angulaire des mortalités corrigée (Tableau 22) révèle un effet dose hautement significatif ( $P < 0,001$ )

**Tableau 19.** Effet du *Bacillus thuringiensis* (µg/ml) après traitement de quatrième stade larvaire de *Cs. morsitans* : Mortalité observée cumulé (%) ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

Concentrations (µg/ml)	Témoins	4,67	7,01	9,35	23,37
Répétitions					
1	4	8	20	28	28
2	8	12	16	24	32
3	4	12	16	20	28
$m \pm s$	$5,33 \pm 2,4$	$10,66 \pm 2,3$	$17,33 \pm 1,88$	$24,00 \pm 4,00$	$29,33 \pm 1,02$

**Tableau 20.** Effet du *Bacillus thuringiensis* (µg/ml) après traitement de quatrième stade larvaire de *Cs. morsitans* : Mortalité corrigée (%) ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

Concentrations (µg/ml) / Répétitions	4,67	7,01	9,35	23,37
1	4,16	16,66	25,00	25,00
2	4,34	8,69	17,39	30,43
3	4,16	13,04	16,66	25,00
$m \pm s$	$4,22 \pm 0,10$	$12,79 \pm 3,99$	$19,68 \pm 3,77$	$26,81 \pm 3,13$

**Tableau 21.** Effet du *Bacillus thuringiensis* (µg/ml) après traitement de quatrième stade larvaire de *Cs. morsitans* : Transformation angulaire.

Concentrations (µg/ml) / Répétitions	4,67	7,01	9,35	23,37
1	11,54	30	37,46	39,82
2	24,39	30,66	30,66	35,67
3	11,54	25,10	27,92	31,31
$m \pm s$	$15,82 \pm 5,24$	$28,58 \pm 2,48$	$32,01 \pm 4,01$	$35,6 \pm 3,47$

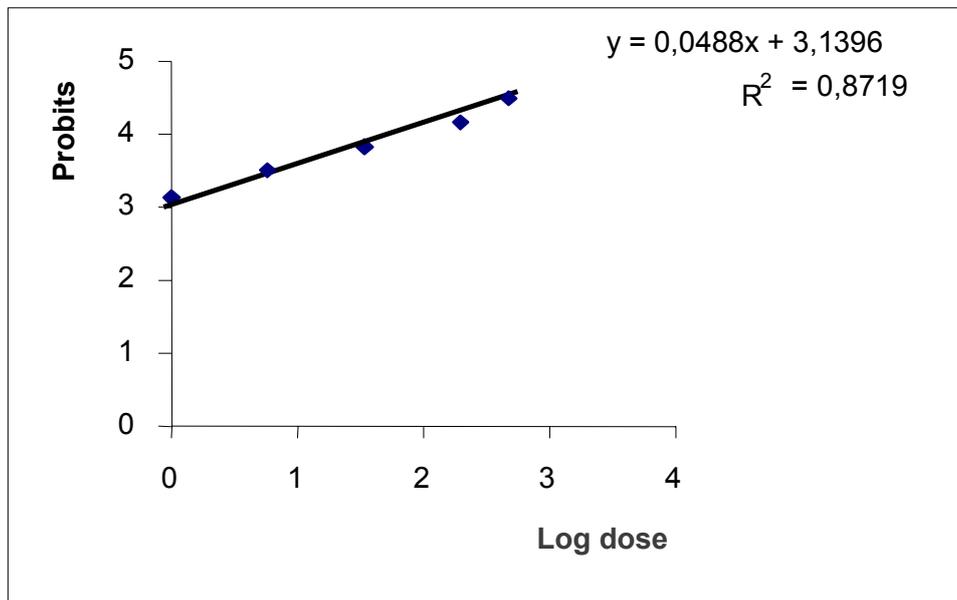
**Tableau 22.** Effet du *Bacillus thuringiensis* (µg/ml) après traitement de quatrième stade larvaire de *Cs. morsitans* : Analyse de la variance des données transformées.

Sources de variation	ddl	SCM	CM	Fobs	<i>p</i>
Factorielle	3	629,72	209,91	29,04	0,000 ***
Résiduelle	8	57,82	7,23		
Totale	11	687,54			

L'équation de la droite de régression (Figure 11) du probit du pourcentage de mortalité corrigée est exprimée en fonction du logarithme décimal des doses du (Tableau 24 ) le coefficient de détermination ( $R^2 = 0,87$ ) révèle une liaison positive entre les probits et le logarithme des doses testés .

**Tableau 23.** Effet du *Bacillus thuringiensis* ( $\mu\text{g/ml}$ ) après traitement de quatrième stade larvaire sur *Cs . morsitans* : Transformation en probits des mortalités corrigé et des doses en logarithmes décimaux des doses.

Doses ( $\mu\text{g/l}$ )	4,67	7,01	9,35	23,37
Log doses	0,669	0,845	0,970	1,368
Mortalité corrigée (%)	4,22	12,79	19,68	26,81
Probits	3,2721	3,8593	4,1470	4,3811



**Figure 11.** Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des doses .

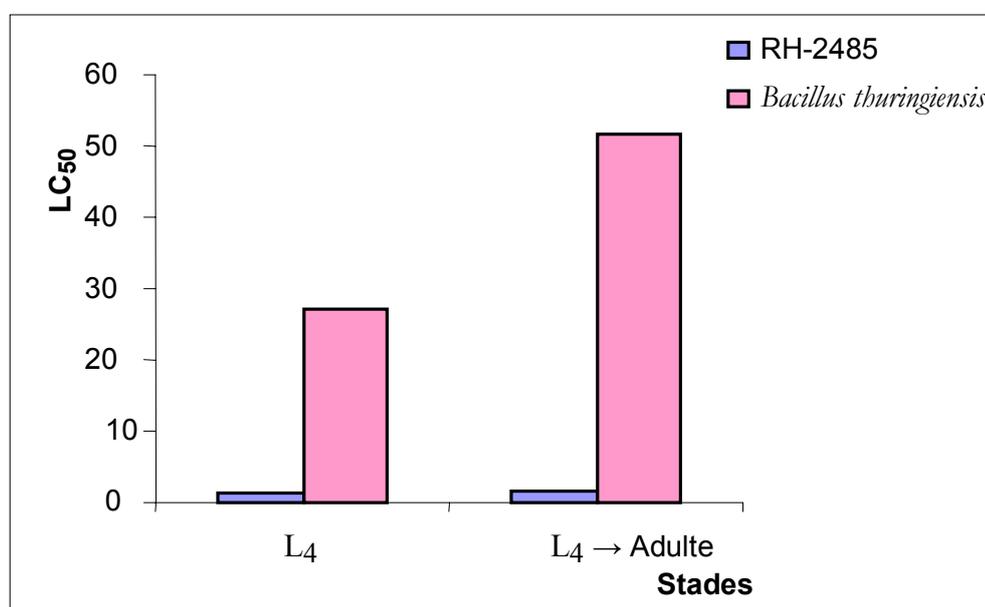
La Concentration létale CL<sub>50</sub> déterminée à partir de la droite de régression est de 25,76 µg/ml avec intervalle de confiance 18,80 et 35,29 µg/ml est un Slope de 2,48 (Tableau 24).

**Tableau 24.** Efficacité du *Bacillus thuringiensis* après traitement de quatrième stade larvaire de *Cs morsitans*: Analyse des probits.

Traitement	Equation de régression	Slope	CL <sub>50</sub> (µg/ml)	Intervalle de confiance (µg/ml)
<i>Bacillus thuringiensis</i>	$y = 0,0488x + 3,1396$	2,48	25,76	18,80 - 35,29

### 3.1.3. Comparaison de l'efficacité des produits utiliser :

A fin de comparer l'efficacité des produits nous avons converti les valeurs de LC<sub>50</sub> de mg/l en ppm, les doses létales (LC<sub>50</sub>) de RH-2485 (0,059 mg/l) et de *Bacillus thuringiensis* 13,50 (mg/l), déterminées sur les larves de *Cs morsitans*, causent une mortalité observée directe hautement significative (Tableau 25). Ainsi la concentration létale 0,082µ/ mg/l pour le RH-2485 et 25,76 mg/l pour le *Bacillus thuringiensis* enregistre une mortalité observée cumulé qui révèle un effet dose hautement significatif ( $P < 0,001$ ). En effet les résultats montrent que le méthoxyfinozide est plus efficace que le *Bacillus thuringiensis* (Figure 12).



**Figure 12.** Comparaison de l'efficacité de LC<sub>50</sub> de RH-2485 et *Bacillus thuringiensis*

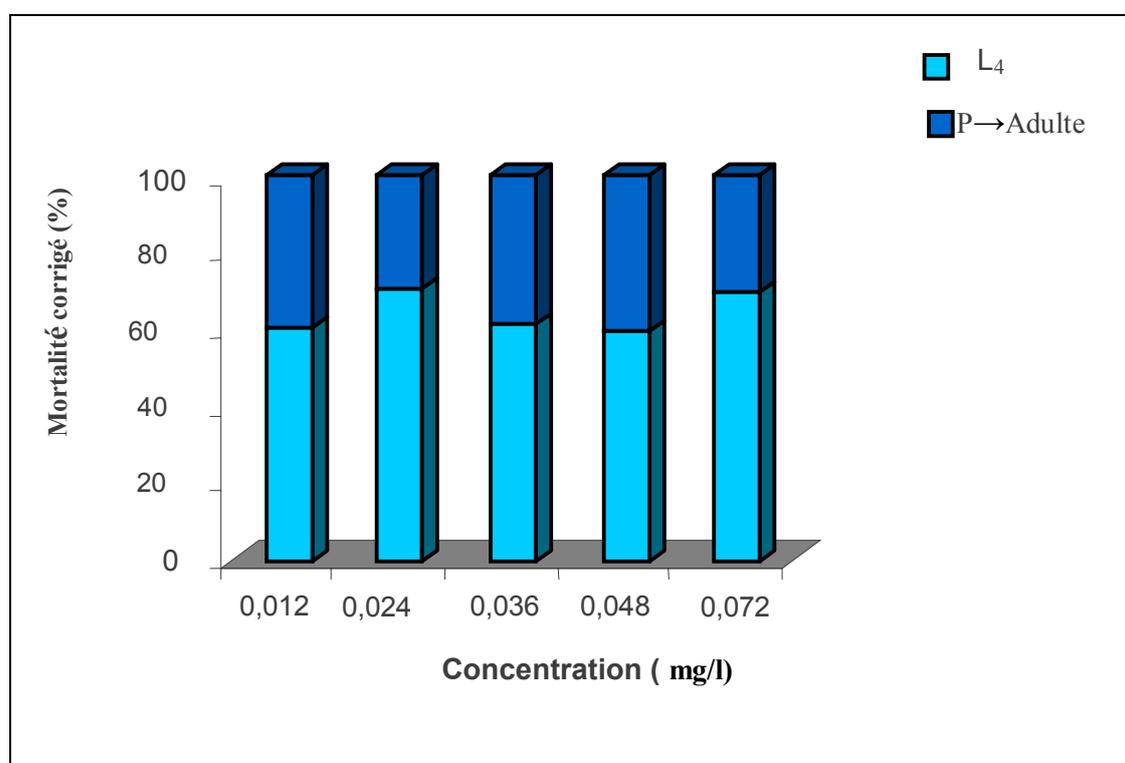
**Tableau 25.** Récapitulatif des principaux résultats de l'effet du (RH-2485) et le *Bacillus thuringiensis* à l'égard des larves de *Cs morsitans*.

Produits		Fobs	Equation de régression	CL <sub>50</sub>	Slope (s)	f LC50	Intervalle de confiance
<b>RH-2485</b>	L <sub>4</sub>	22,91	Y=2,0073X+1,4274	0,059 mg/l	3,12	1,29	0,021 < 0,059 < 0,077 (mg/l)
	L <sub>4</sub> →Adulte	40,42	Y= 1,3819+1,8877	0,082 mg/l	4,46	1,59	0,051 < 0,082 < 0,131 (mg/l)
<i>Bacillus thuringiensis</i>	L <sub>4</sub>	30,41	Y=1,1806X +3,6656	13,50 µg/ml	4,26	1,34	0,01 < 13,50 < 18,09 (µg/ml)
	L <sub>4</sub> →Adulte	29,04	Y= 1,4596X 2,1392	25,76 µg/ml	2,48	1,37	18,80 < 25,76 < 35,29 (µg/ml)

### 3.1.3. Répartition du taux de mortalité corrigée :

#### 3.1.3.1. Répartition du taux de mortalité corrigée des larves traité par le RH-2485 :

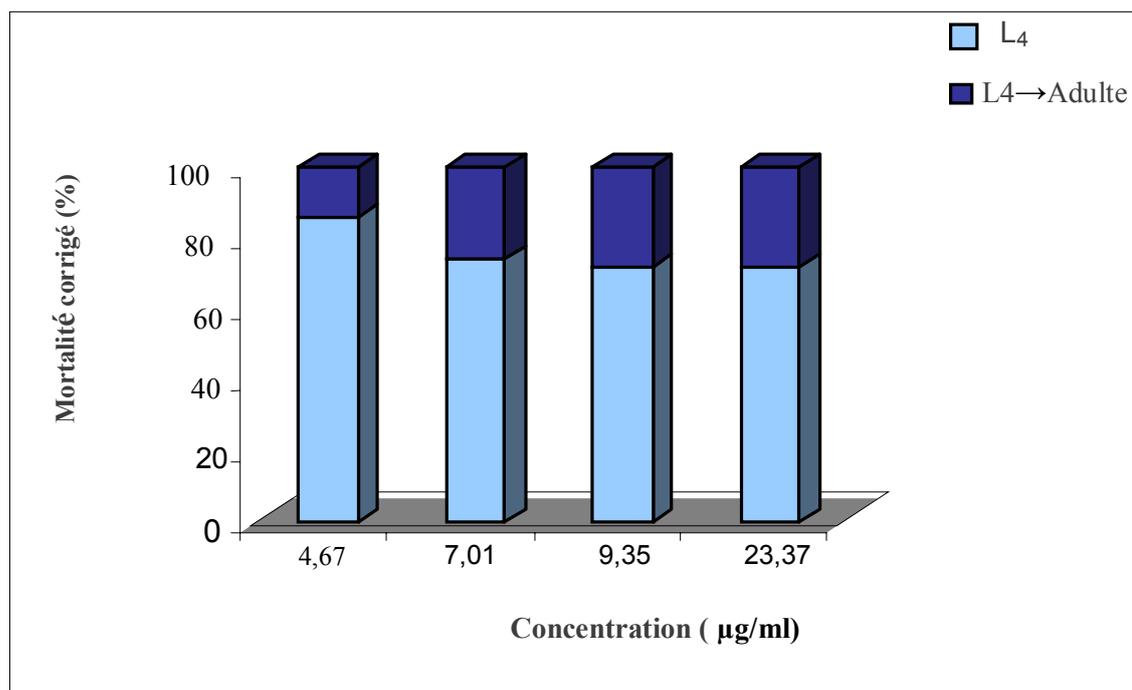
L'effet de RH-2485 sur les larves de *Cs.morsitans* montre une mortalité observée directe et une mortalité cumulée sur les nymphes et les adultes pour les différentes concentrations. La répartition du taux de mortalité corrigée mentionnée dans la figure 13, révèle une mortalité plus élevée qui varie entre 60 et 70 % pour le quatrième stade comparativement aux stades suivants (P→Adulte). Les stades larvaires se sont les avérés plus sensible vis-à-vis du RH-2485.



**Figure 13.** Répartition du taux de mortalité corrigée après le traitement du RH-2485 quatrième stade larvaire de *Cs.morsitans*.

### 3.1.3.1. Répartition du taux de mortalité corrigée des larves traité par le *Bacillus thuringiensis* :

Les résultats obtenus sur l'efficacité du *Bacillus thuringiensis* après traitement de quatrième stade larvaire de *Cs.morsitans* avec plusieurs concentrations, montre que cette bactérie a des effets sur la mortalité des larves du quatrième stade qui varie entre 70 et 90 % (Figure 14), par rapport aux stades qui suivent. La sensibilité du Bti affecte beaucoup plus les stades larvaires.

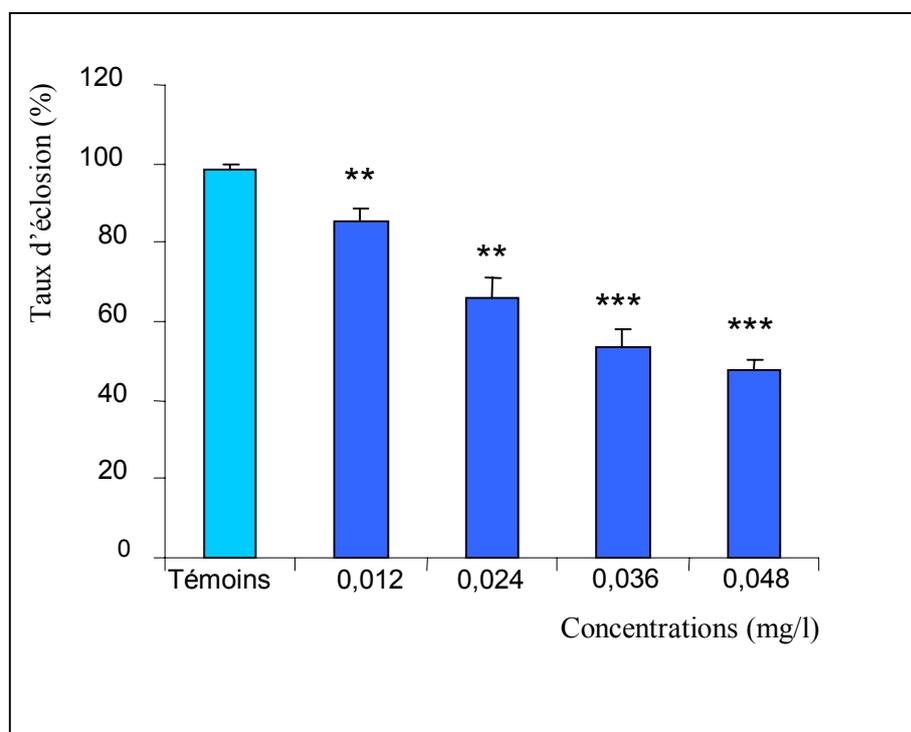


**Figure 14.** Répartition du taux de mortalité corrigée du *Bacillus thuringiensis* après traitement de quatrième stade larvaire de *C s. morsitans*.

### 3.2. Potentiel reproducteur :

#### 3.2.1. Effet le RH-2485 sur les taux d'éclosion des œufs :

L'évaluation de l'efficacité du méthoxyfénazine est basée sur le nombre des adultes de *Culiseta morsitans* viables obtenus pour chaque concentration utilisée, et exprimée en pourcentage d'éclosion des œufs. Les résultats ont mis en évidence une meilleure efficacité du RH-2485 avec une moyenne de  $47,68 \pm 2,42$  % de réduction d'éclosion des œufs à la concentration 0,048 mg/l comparativement au témoin qui enregistre  $98,20 \pm 1,87$ %. L'analyse statistique a mis en évidence un effet dose hautement significatif ( $P < 0,001$ ) (figure 15). D'autre part on a constaté la concentration de 0,012 mg/l, avec une réduction d'éclosion des œufs très significatifs ( $P < 0,01$ ). Comparativement au témoin montre une moyenne de  $85,46 \pm 2,48$  %. Par ailleurs à la concentration la plus élevée 0,072 mg/l, nous avons obtenus une inhibition total de la ponte, avec l'apparition de l'effet ovicide du méthoxyfénazine sur les femelles émerger après traitement des larves.



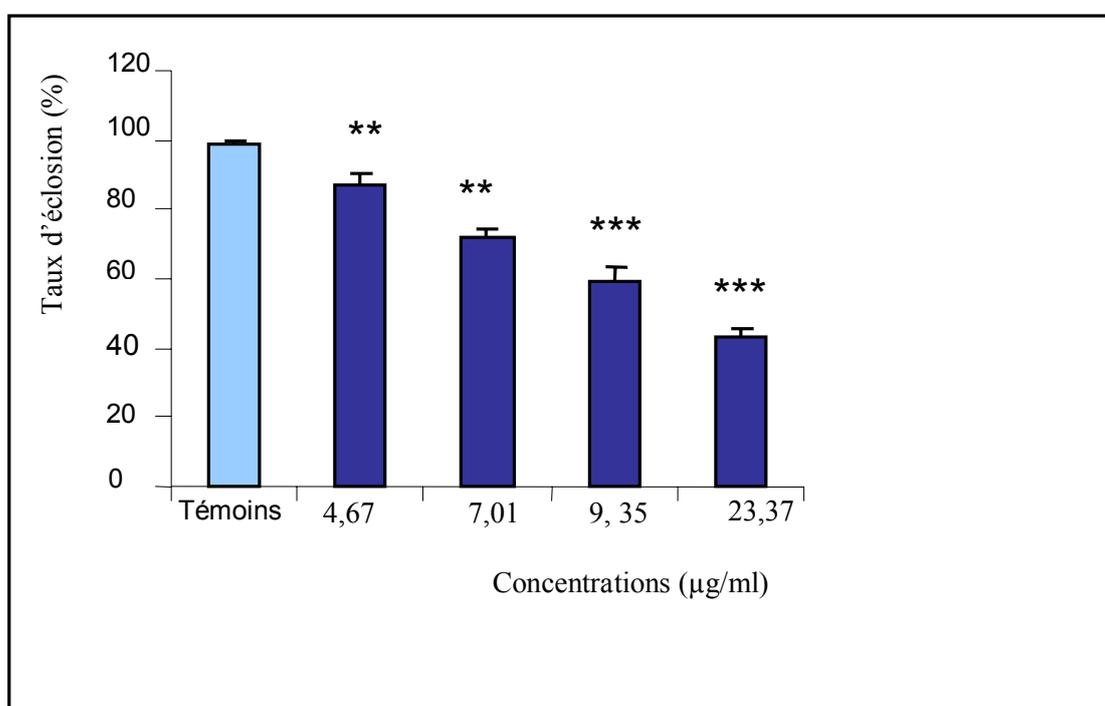
**Figure 15.** Les taux d'éclosion (%) des œufs pondus après traitement avec le RH-2485.

**Tableau 26.** Effet du RH-2584 sur le taux d'éclosion des œufs (%) chez *Cs. morsitans* : ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

Concentrations (mg/l)  Répétitions	Témoins		0,012		0,024		0,036		0,048		0,072
	Nombre des œufs	Eclosion (%)	—								
1	54	96,29	29	86,20	23	65,21	73	53,42	61	50,81	—
2	60	98,33	52	82,69	33	60,50	25	48,00	49	44,89	—
3	80	100	38	87,50	33	72,72	59	59,32	38	47,36	—
$m \pm s$	$98,20 \pm 1,87$		$85,46 \pm 2,48$		$66,17 \pm 6,16$		$53,58 \pm 5,66$		$47,68 \pm 2,97$		—

### 3.2.2. *Bacillus thuringiensis* sur le taux d'éclosion des œufs :

L'efficacité *Bacillus thuringiensis* sur le nombre des œufs pondus par les femelles témoins et traités de *Cs.morsitans*, après l'émergence on comparant le pourcentage d'éclosion pour chaque concentration utilisée. Les résultats obtenus l'effet du *Bacillus thuringiensis* sur la réduction d'éclosion des œufs à la concentration la plus élevée de 23,37 µg/ml, L'analyse statistique met en évidence un effet dose hautement significatif ( $P < 0,001$ ) dans la figure 16, La concentration 7,01 et 9,35 µg/ml, l'éclosion des œufs en révèle un effet dose très significatif ( $P < 0,01$ ). Comparativement au témoin qui enregistre  $98,70 \pm 0,95$  % (Tableau 27).



**Figure 16.** Les taux d'éclosion (%) des œufs pondus après traitement avec le *Bacillus thuringiensis*

**Tableau 27.** Efficacité du *Bacillus thuringiensis* sur le taux d'éclosion des œufs (%) chez *Cs .morsitans* : ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ )

Concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ ) Répétitions	Témoins		4,67		7,01		9,35		23,37	
	Nombre des œufs	Eclosion (%)								
1	61	98,36	59	86,44	43	69,76	68	60,29	35	42,85
2	89	97,75	93	91,39	69	71,01	41	54,09	61	45,9
3	77	100	38	84,21	40	75,00	89	64,04	22	40,9
$m \pm s$	98,70 $\pm$ 1,16		87,34 $\pm$ 3,67		71,92 $\pm$ 2,73		59,47 $\pm$ 5,02		43,21 $\pm$ 2,52	



### 3.3. Les types morphogénétiques :

Le traitement avec les agonistes de l'hormone de mue, ou d'autres molécules entraîne d'après leur mode d'action une accélération du processus de mue avec l'apparition des stades intermédiaires (larves-pupes ou pupes adultes qui se différencient des individus normaux morphogénétiques, ou malformation. Durant notre étude on a pu constater et sélectionner plusieurs types morphologiques dans trois catégories, et on a déterminés le pourcentage de chaque type selon les concentrations utilisées de chaque molécule.

- **Les types morphogénétiques du stade larvaire :**

Mortalité précoce du quatrième stade immédiatement après le traitement.

- **Les types morphogénétiques du stade nymphale :**

- Nymphes blanches : suite au blocage du processus de tannage.
- Nymphes brunes : les résultats de l'exuvation larvaire donnent des nymphes de petite taille.
- Adultes bloqués dans l'exuviation nymphale : incapacité des adultes à s'exuvier, et elles restent bloquées dans l'exuvie nymphale et meurent

- **Les types morphogénétiques au stade adulte :**

- Exuviation partielle des adultes : pièces buccales, et les ailes ainsi que les pattes restent attachées à l'exuvie nymphale
- Emergence totale sauf que les pattes postérieures restent attachées à l'exuvie nymphale.

Les résultats obtenus avec le RH-2485 montrent une variation des types morphogénétiques selon les concentrations. Pour la mortalité du stade larvaire on a enregistré une moyenne de  $19,55 \pm 4,16$  (%) pour la plus faible concentration avec une augmentation de  $30,35 \pm 5,25$  (%) la concentration la plus élevée pour  $0,072$  mg/l (Tableaux 28). Par contre la nymphe blanche était le type le plus répandu avec une moyenne de  $55,55 \pm 9,78$  (%).

Les bioessais avec la Bti ont donné quelques types morphogénétiques, à l'exception des adultes où aucune malformation a été enregistrée (tableau 29). La concentration la plus forte induisant des types morphogénétiques ayant entraîné un taux de mortalité le plus élevé est de  $23,37$  µg/ml, avec une moyenne de  $26 \pm 2,6$  (%), et  $25,66 \pm 3,68$  respectivement pour les larves et les nymphes.

**Tableaux 28.** Pourcentages des types morphogénitiques induit après le traitement avec le méthoxyfinozide.

Types morphogénitiques Concentrations (mg/l)	stade larvaire	stade nymphal		stade adulte	
	Mortalité précoce	Nymphe blanche	Nymphe brune	Mues partielles	Mues totales
0,012	19,55 ± 4,16	—	—	—	—
0,024	22,22 ± 3,92	22,19± 3,81	—	19,83 ± 7,65	—
0,036	22,22 ± 5,99	46,66± 7,16	27,22 ± 4,88	22,22 ± 3,92	17,26 ± 5,52
0,048	24,58± 5,60	55,55± 9,78	42,54 ± 4,00	31,11± 8 ,31	22,33± 6,13
0,072	30,35± 5,25	52,38±4,12	47,31 ± 3,40	38,88 ± 7,85	25,85 ± 6,52

**Tableaux 29.** Pourcentages des types morphogénétiques induit après le traitement avec le *Bacillus thuringiensis*.

Types morphogénétiques Concentrations ( µg/ml)	stade larvaire	stade nymphal		stade adulte	
	Mortalité précoce	Nymphe blanche	Nymphe brune	mues partielles	mues total
4,67	—	—	—	—	—
7,01	—	19,45± 2,55	—	—	—
9,35	14,33± 1,88	24,00± 1,08	—	—	—
23,37	26,33 ± 2,61	25,66 ±3,68	22,17 ± 1,10	—	—

## 4. Discussion

### 4.1 .Etude toxicologique :

#### 4.1.1. Effet du méthoxyfinozide (RH-2485)

Au cours de l'évolution, les insectes nuisibles sont parmi les insectes qui ont su le mieux développer stratégies comportementales. La lutte contre ces insectes a pris beaucoup d'ampleur avec le temps grâce aux pesticides renouvelés, améliorés et sélectionnés d'une année à l'autre le but de préserver à la fois des espèces bénéfiques mais aussi l'environnement. Les régulateurs de croissance d'insecte, développés au cours des vingt dernières années, sont des produits de synthèse simulant l'action de l'hormone juvénile ou de l'ecdysone, les deux hormones dont les rôles principaux sont de contrôler la croissance et le développement chez les insectes (Dhadialla *et al.*, 1998).

Les analogues de l'hormone juvénile 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). Quant aux produits simulant l'ecdysone (ex. RH-5849, tébufénozide et méthoxyfenozide), leur principale activité réside dans leur capacité à induire une mue prématurée (Wing *et al.*, 1988).

Nos expériences menées sur des larves du quatrième stade nouvellement exuvée de *Culiseta morsitans*, montrent que le méthoxyfinozide (RH-2485) appliqué à différentes dose pendant 24 heures, provoque des mue précoces l'étales (larvaire et pupal) avec une mortalité relativement importante par rapport a la mortalité observé dans les autres stades (pupes et adultes), et enregistre taux de mortalité observée direct 100% comparativement au témoin avec la doses la plus élevée 0,096 mg/l qu'on a éliminée. De notre étude la concentrations létale LC<sub>50</sub> (59,54 µg/l) obtenu durant notre expérience sur les larves *Cs morsitans* est supérieure à celle utilisées contre les larves du quatrième stade d'*Ochlerotatus nigripesqui* qui est équivalente a 41 µg/l dans les même condition de laboratoire (Bouaouina, 2008).

Le (RH-2485) a manifesté aussi la même toxicité avec la concentration de 36 µg/l à l'égard de *Culiseta longiareolata* dans les travaux de Djebbar, 2009.

Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par application d'un inhibiteur de la synthèse de la chitine l'Asystine sur *Culex pipiens* (Rehimi et Soltani, 1999), et aussi les travaux d'autres molécules de la famille du benzoylphényurée. Telque Teflubenzuron (drat), Flucycloxuron (Andalin) et Triflumuron (Alsystine) à l'égard des larves de *Culex pipiens pipiens* dans les mêmes conditions d'expérience (Rehimi, 2004), qui ont provoqué des mortalités semblables à celles du (RH-2485). Par ailleurs, des effets similaires ont été observés avec les autres analogues de l'hormone de mue à l'égard des moustiques (Spielman & Williams, 1966).

De plus, les DL<sub>50</sub> du méthoxyfinozide (RH-2485) et l'halofénozide (RH-0345) déterminées sur *Culex pipiens* et *Culex longiareolata* montre que l'halofénozide (RH-0345) est plus toxique et plus efficace que le méthoxyfinozide (Djebar, 2009). Dans d'autres études, les deux agonistes (RH-2485) et (RH-0345) ont la même toxicité pour des concentrations de 25,5 et 100 mg/l, respectivement, contre le dernier stade larvaire de *Harmonia axyridis* (Carton *et al.*, 2003). Ainsi, (Beckage *et al.*, 2004) a classé les trois agonistes de l'hormone de mue appliqués avec différentes concentrations sur trois espèces de moustiques : *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* et *Anophele gambiae* selon leur efficacité en RH-2485 > RH-5992 > RH-5849.

D'autres expériences ont montré que le méthoxyfinozide (RH-2485) est plus efficace que le tébufénozide (RH-5992) (Ishaaya *et al.*, 1995 ; Smagghe *et al.*, 1999), confirmés par d'autres essais prouvant que l'affinité du RH-2485 aux récepteurs est très grande par rapport à celle du RH-5992. Chez *Plodia interpunctella* (Pyralidae) (Carlson *et al.*, 2001), ingéré par les larves du sixième stade avec une concentration de 0,001 ppm, et la plus efficace avec une dose létale pour 50% des larves (LC<sub>50</sub>) située à 0,05 ppm chez *Lobesia botrana* (Eudémis) (Harmillot, 2004).

Dans l'étude de l'activité résiduelle obtenue montrent du méthoxyfinozide et du tébufénozide, les résultats obtenus que les œufs de *Cydia pomonella* sont plus sensibles aux deux produits testés que les œufs *molesta grapholita* (Lépidoptera : Tortricidae) (Borchet *et al.*, 2004), et que le RH-2485 avec une LC<sub>50</sub> de 0,049 mg/kg était quatre fois plus efficace que le RH-5992 avec une LC<sub>50</sub> de 0,185 mg/kg chez *Diatraea grandiosella* (Trisyono & Chippendale, 1997).

#### 4.1.2. Effet le *Bacillus thuringiensis* (Vecto Bac W.D .G 3000 UTI/mg)

L'efficacité du Bti dans le milieu alcalin l'appareil digestif de ces insectes sensibles, les cristaux se dissolvent et se transforment en molécules protéiques toxiques qui détruisent les parois intestinales. Les recherches de la lutte biologique en utilisant des bioinsecticides contre les larves de moustiques nouvellement éxuviées entraînent une toxicité à différents degrés et la mort des larves traitées selon les doses. L'effet biologique des matières toxique internes ( $\delta$ - endotoxines) produites par cette *Bti* (Schnepf ,1998) détruit l'intestin moyen des larves en provoquant la mort (Ruiz *et al.*,2004 ; Aronsonet Shair , 2001 ; Gill ,1992).

Vu la spécificité du *Bacillus thuringiensis* , ce travail a été réalisé pour connaître et déterminer son efficacité contre les larves du quatrième stade larvaire. En effet les concentrations qui varient entre 4,67 et 7,01  $\mu\text{g/ml}$  provoqué un effet dose-réponse. Les essais biologiques du *Bti* sur les larves de *Cs morsitans* ont provoqué une mortalité hautement significative. Des travaux similaires effectués par Ati , 2008 Ati sur les larves de *Culex pipiens* les mêmes conditions de traitement , ont provoqué un taux de mortalité hautement significatif ( $P < 0,001$ ) .

Les travaux de Norberd *et al* .,1994 ont certifié que l'efficacité de cette bactérie change avec le changement des types de matière interne toxique, et avec les genre de moustiques il a trouvé une différence au niveau de l'effet toxique lors du traitement des larves des moustiques : *Aedes cantans* , *Culex pipiens* et *Aedes vexon* utilisant trois types différents de bioinsecticide .

Les recherche de Becker *et al* .,1992 sur trois especes de moustiques : *Culex pipiens* , *Aedes vexoan*, *Aedes aegypti* et cela en utilisant le bti , qui révèle un effet lié à d'autre facteurs tels que la température et la quntité de l'eau . Par contre Isabelle *et al.*, 1996 a prouvé que l'activité du traitement des larves d' *Aedes aegypti* avec un bioinsecticide est beaucoup plus efficace durant l'étape de sporulation de leur cycle de vie, *Bti en* produisant une protéine cristallisée, qui est toxique uniquement contre les larves de *Aedes sp*, *Anophèles sp* , et contre les larves de *Culex sp*.Le produit n'ont donc aucun effet sur les autres insectes comme l'abeilles, que les poissons, les oiseaux ou les mammifères.

Les espèces de moustiques démontrent des différents niveaux de susceptibilité aux cristaux de *Bti*. et généralement, les larves de *Culex* sont les plus sensibles, que les larves d'*Aedes* et *Ochlerotatus* qui présentent une susceptibilité. Cette différence est, aussi présente à l'intérieur des espèces du même genre (ex. les espèces appartenant aux genres *Culex*, *Aedes*, *Ochlerotatus* ou *Anopheles*), qui serait causée par des variations comportementales (Aly *et al.*, 1988) et physiologiques des différentes espèces, mais elle est clairement reliée au comportement des cristaux dans l'environnement (Aly et Mulla 1986; Rashed & Mulla, 1989; Mulla, 1990). Les larves de *Culex* et d'*Aedes* deux genres sont donc en position d'ingérer une quantité létale de cristaux durant cette période. Par contre, Les larves d'*Anopheles* démontrent une augmentation des taux de mortalité si les cristaux de *Bti* sont livrés par une formulation flottante (Cheung & Hammock, 1985; Aly *et al.*, 1987).

Tout comme les larves en phase de mue, les nymphes sont totalement insensibles aux cristaux de *Bti* puisqu'elles ne s'alimentent pas. Il existe toujours une partie de la population en phase de mue (l'éclosion des oeufs et le développement larvaire sont asynchrone pour plusieurs espèces), un traitement larvicide ne peut donc induire la mortalité chez 100 % de la population. De même, un traitement tardif sur une population en nymphose ne produira que des résultats mitigés.

## 4.2 Effet sur le potentiel reproducteur :

### 4.2.1. Le méthoxyfinozide :

L'hormone juvénile, fut reconnue très tôt comme étant impliquée dans la reproduction. Wigglesworth en 1936, fut le premier à démontrer son activité gonadotrope au niveau du développement des ovocytes chez *Rhodnius prolihus*. Or, ce n'est que 40 ans plus tard que l'ecdysone fut identifiée dans les ovaires des femelles chez le moustique *Aedes aegypti* (Hagedorn *et al.*, 1975) et ainsi suspectée de jouer un rôle dans la reproduction des insectes. Puisque les glandes prothoraciques qui synthétisent l'ecdysone au stade larvaire dégénèrent rapidement chez l'adulte, il a été longtemps spéculé que cette hormone n'avait aucune fonction reproductive. De leur efficacité larvicide de certains régulateurs de croissance sont dotés d'une activité ovicide plus ou moins marquée et sont éventuellement susceptibles de perturber la fécondité et la fertilité (Charmillot *et al.*, 1994).

L'efficacité du méthoxyfinozide RH-2485 est basée sur le nombre des adultes de *Cs. morsitans* viables obtenus pour chaque concentration utilisée et exprimée en pourcentage de réduction d'éclosion des œufs, ET l'analyse statistique a mis en évidence un effet dose hautement significatif, avec une réduction des nombres des œufs pondus chez les séries traitées comparativement aux témoins, et ce résultat confirme l'effet ovocide du méthoxyfinozide sur d'autres espèces d'insectes telles que les lépidoptères (Smaggh *et al.*, 2004).

D'autres travaux avec la même molécule sur deux espèces de moustiques de la wilaya de Tebessa *Cx.pipiens* et *C. longiareolata* ont eu comme résultat une réduction de nombre d'ovocytes (Djebar, 2009), ce qui fait que le RH-2485 affecte le développement des ovocytes donc au niveau des ovaires femelle des traités donc les nombres des œufs pondus.

Le traitement par le méthoxyfinozide RH-2485 montre cause une réduction, du nombre d'ovocytes chez les deux espèces de moustique étudiées *Cx.pipiens* et *C. longiareolata* (Djebar, 2009). Par contre, Wang & Sehnal, 2002 ont trouvé que le nombre total des œufs pondus par les femelles témoins et traitées par le RH-2485 est similaire, chez *Schistocercia gregaria*. Cependant, une altération de la fertilité a été observée chez les adultes de *Spodoptera littoralis* (Adel *et Sehnal*, 2000).

Les résultats obtenus d'après l'activité résiduelle du méthoxyfinozide et du tébufénozide (RH-5992), ont montré que les œufs de *Cydia pomonella* sont plus sensibles aux deux produits testés que les œufs de *molesta grapholita* (Lépidoptera : Tortricidae) (Borchet *et al.*, 2004), et que le RH-2485 avec une  $LC_{50}$  de 0,049 mg/kg était quatre fois plus efficace que les  $LC_{50}$  (0,185 mg/kg) du RH-5992 chez *Diatraea grandiosella* (Trisyono & Chippendale, 1997).

Plusieurs études ont démontré que le tébufénozide, réduisait la fertilité des femelles et des mâles chez certains Lépidoptères dont *H. zea* (Carpenter et Chandler, 1994), *Cydia pomonella* (Sun *et Barrett*, 1999), et *Argyrotaenia velutiana* et *C. rosaceana* (Sun *et al.*, 2000).

#### **4.2.2. Effet le *Bacillus* sur le taux d'éclosion des œufs**

Nos résultats montrent que le traitement par le *Bti* aux concentrations entre 4,67 et 23,37 µg/ml sur des larves du quatrième stade chez *Cs. morsitans* cause une réduction du nombre des œufs pondus et le pourcentage d'éclosion des œufs et perturbe la fertilité.

Des travaux similaires menés par Ati ,2008 sur une autre espèce de moustique *Cx.pipiens* dans les memes conditions d'expérience, ont confirmé l'effet ovicide du *Bti* avec une réduction des taux d'éclosion des œufs pondus séries traitées.

#### 4.2.2. Effet le *Bacillus* sur le taux d'éclosion des œufs

Nos résultats montrent que le traitement par le *Bti* aux concentration entre 4,67 et 23,37 µg/ml sur des larves du quatrième stade chez *Cs. morsitans* cause une réduction du nombre des œufs pondus et le pourcentage d'éclosion des oeufs et perturbe la fertilité. Des travaux similaires menés par Ati ,2008 sur une autre espèce de moustique *Cx.pipiens* dans les memes conditions d'expérience, ont confirmé l'effet ovicide du *Bti* avec une réduction des taux d'éclosion des œufs pondus séries traitées.

D'autres travaux sur *Ceratatis capitata* utilisant le champignon *Metarhizium anisopliae* enregistrent une réduction de fertilité variant entre 30-50 % après dix jours de traitement chez les adulte (Castillo *et al.* , 2002 ).

De notre étude de Cuesada Manruga *et al* 2004 de l'effet du *Bacillus thuringiensis* sur les nymphes et adultes de *Blattella germanica* avec la concentration  $CL_{50}$  obtenu une diminution du nombre des œufs chez les adultes traité avec un pourcentage variant 46-49 % , ce qui confirme nos résultats induit par les traitement .

#### 4.3. Types morphogénétiques :

Nos résultats ont montrent que le traitement par méthoxyfénazine RH-2485 appliqué à différentes doses sur les larves de *Cs. morsitans* , a provoqué des mues précoces létale (larvo-nymphale ),et un effet direct du RH-2485 se traduisant par l'accélération du développement et la mortalité immédiates des larves traités . et selon le mode d'action , plusieurs types morphogénétiques ont été observés chez les différents stades larvaire ,nymphale et adulte qui varient d'après les concentration utilisés .Nos résultats sont semblables à ceux de Bouaouina ,2008 obtenus avec le meme produit sur *Ochlerotatus nigrips* , avec l'appariation de certains types de malformation . Des mues précoces létales sont aussi observées chez les larves du quatrième stase de *Culex pipiens* après traitement par l'halofénazine (Boudjelida *et al.* , 2002) .

D'autres travaux sur le *Culex pipiens* avec plusieurs régulateurs de croissans de famille du benzoylphenyurée ont provoqué les mêmes types morphologiques à différents doses et des mues létales dû à l'incapacité des stades à s'exuvier (Rehimi,1993,2004)

Le méthoxyfénazine a induit une mue précoce et létale chez *Spodoptera littoralis*, ainsi que la mort pendant la métamorphose, ainsi que la mort pendant la métamorphose (Adel & Sehnal, 2000). L'agoniste RH-2485 utilisé contre le dernier stade larvaire de *Harmonia axyridi* (Coleoptera : Coccinellidae), provoque des mues larvaires prématurées et des nymphoses incomplètes des larves affectées (Carton *et al.*, 2003).

En effet le méthoxyfénazine RH-2485 perturbe l'hormone de mue (l'ecdysone) imitant son mécanisme d'action et provoquant des modifications morphologiques chez les insectes (Smaghe *et al.*, 1999)

Le *Bti* a aussi induit certains types de malformation chez les larves et. Les résultats ont montré des types morphologiques larvo-nymphe, des nymphoses incomplètes, et des exuvies partielles dues à l'incapacité à l'adulte de se débarrasser de l'ancienne cuticule. Et effet ceci revient à la diminution des protéines dans l'hémolymphe, essentiellement due à l'activité toxique de la bactérie perturbant l'activité enzymatique des protéines (Pelmont, 1995).

## 5. Conclusion et perspectives :

L'objectif de cette étude est la comparaison de deux molécules insecticide, un agonists de l'hormone de mue le RH-2485, et un bioinsecticide le *Bacillus thuringiensis israelensis* . Les essais ont effectués sur les larves de *Cs .morsitans*, moustique à l'intérêt vétérinaire, et le plu abondant du lac des oiseaux (EL-TARF) .

Le méthoxyfinozide (RH-2485) a manifesté une toxicité a l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuvieés du *Culiseta morsitans* , avec une mortalité direct et cumulé hautment significativeentre ertre les témoins et les traités . Par ailleurs des types morphogénétiques , ont été observées suite à perturbation du développement, l'apparition des stades intermediares larvo-nymphales et létales.ainsi qu'un effet sur le potentiel reproducteur se traduisant une réduction d'éclosion des œufs comparativement au témoin .

Le traitement avec le *Bacillus thuringiensis israelensis* provoqué une mortalité direct et cumulé hautment significative par apportaux témoins , L'effet biologique des matières toxique internes ( $\delta$ -endotoxines ) produites par cette bactérie détruit l'intestin moyen des larves en provoquant la mort . Une réduction d'éclosion des œufs par apport le témoin et perturbe la croissance des larves traités comparer avec le témoin.

Il serait intéressant en tester le *Bti* avec des concentrations plus élevées que cette utiliséesdans notre étude, et effectuer les mêmes essais sur des stades jeunes. A fin une étude histologique au niveau de l'intestin moyen est nécessaire pour completer notre travaille.

## Résumé

Les moustiques sont responsables de la transmission de la plupart des maladies vectorielle, et généralement contrôlés par des insecticides neurotoxiques. Leur usage abusif a eu des effets secondaires dans l'environnement avec l'apparition des espèces résistantes.

Cette étude à évaluer l'efficacité de deux molécules sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta morsitans* selon les recommandation de l'OMS, un agoniste de l'hormone de mue : le méthoxyfinozides (RH -2485) sur les risques potentiels de toxicité d'un régulateur de croissance des insectes ( agoniste de l'ecdysone ), à différentes concentrations 0,024 - 0,036 - 0,048 et 0,096 mg/l . Et un bioinsecticide le *Bacillus thuringiensis* var . *israëlis* a des concentrations varient entre 4 ,34 et 23,37 µg/ml dans les conditions de laboratoire , pour évaluer la toxicité de la bactérie sur le stade traité . Les données ont été analysées à l'aide de tests statistiques.

Les résultats obtenus montre un effet direct du méthoxyfinozides (RH -2485) se traduisant par des taux de mortalité avec un effet hautement significatif de dose la plus élevée, une accélération du développement, provoquant des mues partielles larvo-pupales et un effet sur le taux d'éclosion des œufs ( $P < 0,001$ ), et en évidence une toxicité limitée du *Bacillus thuringiensis* var . *israëlis* sur les larves traitées et des taux de mortalité provoquant des mues partielles larvo-pupales et un effet sur le taux d'éclosion des œufs ( $P < 0,001$ ),et enfin des types morphologique sont montré une perturbation de croissance .

**Mots clés :** Lac des oisaaux, moustiques, Régulateurs de croissance des insectes, Methoxyfinozide, *Culiseta morsitans* , *Bacillus thuringiensis* var . *israëlis* , Toxicité

## ملخص

اشتملت دراستنا على مقارنة نوعين من المكافحة للحد من الانتشار الواسع للبعوض لره كناقل لمسببات العديد من الامراض لكل من الانسان و الحيوان على السواء. فكانت المكافحة كيميائية باحد مشابهات هرمون الانسلاخ باستعمال المركب التجاري

و اخرى مكافحة بيولوجية لبكتيريا (*Bacillus thuringiensis israelensi*) (Vecto) و قد تمت على يرقات الطور الرابع حديثة الإنسلاخ لنوع السائد *BacW.D.G3000* (ITU/mg) و أخذت التراكيز التالية *Méthoxyfinozide* باستخدام عدة تراكيز بالنسبة لـ *Culiseta morsitans* 0,012 - 0,024 - 0,036 - 0,072 ملغ /ل و كذلك بالنسبة لـ *Bacillus thuringiensis* - باستخدام تراكيز تراوحت ما بين 4,67 - 23,3 ملل/مكغ/ملل بإتباعنا خطوات الطريقة المقترحة من طرف المنظمة العالمية للصحة.

اظهرت النتائج بان *Méthoxyfinozide*

اثر على الطور اليرقي الرابع باحداثه موت مباشر تفاوت حسب التراكيز المستعملة و تأثيرا متاخرا للاطوار الموالية لعملية المعاملة، مع وجود علاقة طردية بين التراكيز المستعملة و نسب الموت لكلا المركبين و النتائج الاحصائية اثبتت وجود فروقات معنوية جدا لكلتا الحالتين.

ما توصلنا اليه ايضا تشوهات مرفولوجية ظهرت بعدة انماط و تبيانت في نسبها حسب التراكيز اكثرها عند المعاملة بمشابه هرمون الانسلاخ فكانت هناك اطوار وسطية بركة-عدراء، عدراء - كاملة . في حين المعاملة بالبكتيريا نتج عنها بعض التشوهات في الاطوار الاولى فقط .

احدث RH-2485 و *Bacillus thuringiensis* اختلال في عملية التكاثر معنوية بالتحليل الاحصائي . فحدث نقص في البيوض الموضوعة من طرف الاناث الناجمة المعاملة . المركبين مع نقص نسب الفقص مقارنة بمجاميع الشاهد.

وعليه فان بمقارنة نتائج التراكيز المميلة ل

**Abstract:**

The mosquitoes are responsible for transmission of the majority of the vectorial diseases, and are generally controlled by neurotoxic insecticide. Their improper use had side effect in the environment with the appearance of the resistant species.

The study related to the impact of pesticide méthoxyfénozide was applied at dose 0,012 - 0,024 - 0,036 - 0,048 and 0,072 mg/l against and the biological activity of bacterium to determine the effectiveness of the *Bacillus thuringiensis* var. *israëlis* ( *Vecto Bac W.D.G 3000 UTI/mg* ) on the fourth stage larva of the *Culiseta morsitans* in the laboratory concentrations varying between 4,67 and 23,37 µg/ml, Following the steps proposed by the World Health Organization has been investigated.

The results showed that pesticide has an effect on the fourth stage larva through the direct death and the delayed impact on the pro-stage. Also a morphological distortion was seen on the treated stage and the other pro-stages, accompanied with a perturbation in the of larva. also, the female fertility index resulting from the treatment of stage four larvae showed the effectiveness of this insecticide on egg masses and their eclosions, as well as its impact on the late stages.

The high toxicity of *Bacillus thuringiensis* on the treated larvae, the morphological types are observed following the disturbance of the development, and finally, the effect on the reproductive potential (% of egg eclosion).

**Références Bibliographiques :**

- Adel , M .M . & Sehna f . 2000.** Azadiractin potentiates the action of ecdysteroid . Agonist RH-2485 in *Spodoptera littoralis* .*J. Insect Physiol* ., **46**:267-274.
- Aly, C. & M. S. Mulla . 1987.** Effect of two microbial insecticides on aquatic predators of mosquito. *Journal of Applied Entomology*., **103** :113-118.
- Aly.C. & M. S. Mulla ., B Z . Xu & W. Schnetter. 1988.** Rate of ingestion by mosquito larvae (Diptera: Culicidae) as a factor of the effectiveness of a bacterial stomach toxin. *Journal of Medical Entomology*., **25** : 191-196.
- Aronson & Shair . 2001 .** Why *Bacillus thuringiensis* insecticidal toxins are so effective , unique feature of their mode of action FEMS microbial lett ., **195**:1-8
- Ati S , 2008 .** Activité biologique du *Bacillus thuringiensis israelensis* sur les larves de *Culex pipiens*, effet sur plusieurs aspects biochimiques et reproduction .Magistère en biologie et physiologie animale option : reproduction animale.Université Annaba .
- Berrak, H .2009 .**Inventaire des moustiques et des hydracariens dans le lac des oiseaux : lutte biologique , Magistère en ecologie animale . Université Annaba.
- Beegle C.C & Yamamoto . T.1992.** Invitation paper ( C.P. A alexander Fun ) : History of *Bacillus thuringiensis* barliner research and development .*Entomol* ., **142**:587-616 .
- Becker & J. Margalit . 1993.** Use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquitoes and blackflies. pp. 147-170. *Bacillus thuringiensis*, an environmental biopesticide: theory and practice. P. F. Entwistle, J. S. Cory, M. J. Bailey et S. Higgs (Eds.), John Wiley & Sons Ltd.
- Becker N., Zgomba M ., Ludwig ., petric d & rettich f.1992.** Factors influencing the activity of *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* treatments *Journal of the American mosquito control association* . vol .8, N° 3.

- Bcker.N. 2003** . Mosquitoes and their control. Kluwer Academic Publishers, London, pp 497.
- Becker .N. 2006** .Biological control of mosquitoes: Management of the upper rhine mosquito population as a model programme. *J. Eilenberg and H.M.T. Hokkanen (eds.), An Ecological and Societal Approach to Biological Control*, 227–245.
- Beckage . N. E ., Marion . K . M ., Walton .W.E .,Writh . M .C . & TanF.F.2004** . Comparative larvicidal Toxicities of three ecdysone agonists on the mosquitoes *Aedes aegypti* ,*Culex quinquefasciatus* et *Anophele gambiae* . *Arch . Insect . biochem and physiol* ., **57** :111-122.
- Borchet , D . M ., Walgenbach . J. E ., Kennedy .G. G. & long .W . 2004** . Toxicité et activité résiduelle du méthoxyfénozide et du tébufénozide sur *Cydia pomonella* (L) et *Molesta grapholita* (B) (Lepidoptera : Tortricidae ).*J.Entomol.Econom.*, **97 (11)** :1342-1352.
- Boudjelida H ., Bouziz A ., Smaggh G & Soltani N.2002**. Insecticidal activity of a monosteroidal moulting hormone agonist on mousquito larvae in effect on ecdysteroid amounts, *Med ,Fac ,Landbou ww . Univ . Gent* ., **67(3)** :657-663.
- Bouaouima A . 2008** . Inventaire des moustiques de la région de Guelema et evaluation de méthoxyfénozide sur les larves de *Ochlerotatus nigrips* .L. Thèse de mgister en Biologie et physiologie animale. Universilé d'Annaba.
- Biosvert , Jacques ., la coursière ., Jean O . 2004**. Le *Bacillus thuringiensis* var. *israëlsensis* et le contrôle insections piqueures au Québec. Ministère de l'environnement. Envirodop no ENV / 2004 / 0278, 101 p. document préparé par l'université des Québec à trois – ravières pour le ministère de l'environnement du Québec.
- Bourassa .Jean-Pierre.2000**. Le Moustique : par solidarité écologique. Les Éditions du Boréal. Montréal, 237 p.

- Carlson G.R ., Dhadialla T . S., Hunter R ., Jansson R.R ., Jany C.S ., Lidert Z & Slawweeki R.A .2001.** The chemical and biological properties of methoxyfenozide .A new insecticidal ecdysteroid agonist . *Pest . Manag , Sci.*, **57**:115-119.
- Charmillot. P. J., Favre .R ., Pasquier.D., Rhyn. M. & Scalco. A. 1994.** Effet du régulateur de croissance d'insectes (RCI) tébufénozide sur les oeufs, les larves et les papillons des vers de la grappe *Lobesia botrana* Den & Schiff. et *Eupoecilia ambiguella* Hb. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* ., **67**: 393-402.
- Castillo M . A .K ., Moya P.,Hernandez E Primo-Yufer F .2002 .** Susceptibility of *Ceratitis capitata* ( Weideman ) (Diptera : Tephritidae ) to entomopathogenic fungi and their extra . *Biol. Control* , **19** : 274-282.
- Carpenter .J. E. & Chandler L . D. 1994 .** Effects of sublethal doses of two insect growth regulators on *Helicoverpa zea* (Lepidoptera : Noctuidae) reproduction. *J. Entomol. Sci.*, **29**: 428-435. 3255-3259. : 32-42.
- Carton ,B., Smagge .G & Tirry , L .2003.** Toxicity to two ecdysone agonists , halofenozide and méthoxyfénoside , agonist the multicoloured Asian ladybeetle *Harmonica axyridis* (col : coccinellidae ) . *J. applied . Entomol .*, **127**. 240 p
- Cheung, P. Y. K . & B. D. Hammock . 1985.** Micro-lipid-droplet encapsulation of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* δ-endotoxin for control of mosquito larvae. *Applied and Environmental Microbiology* ., **50** : 984-988
- Clements A . N. 1999 .** The biology of Mosquitoes , Vol . 2 : Sensory Reception and Behaviour . CABI Publishing , Wallingford , UK .
- Davidson, E.W., & Becker, N. 1996.** Microbial control of vectors. in: *The Biology of Disease Vectors*. (B.J. Beaty, and W.C. Marquardt, eds) , University Press of Colorado, p. 549- 563.

- Degheele . P.1990** .Chitin synthesis inhibitors : Effet on cuticule and componements .In.J.Casida (ed).  
Pesticides and alternatives : pp : 377-388. Elseviesr. Amesterdam .
- Dhadialla , T. S., Carlson, G. R. & Le, D. P. 1998.** New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Ann. Rev. Entomol.*, **43** : 545-569.
- Djebar F .2009** . Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateur de croissance( halofenozide et methoxyfenozide ) a l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiarolata* : toxicologie , morphométrie , biochimie et reproduction . Doc .es . Sciences, Université d'Annaba 170 p.
- Dumon H & Faugere B.1995.** Insectes et phathologie tropical, Médecine d'Afrique noire :1995,**39** (3) .
- Finney D.J. 1971.** Probit analysis (3 rd Edn ) ,Cambeidage University. Press . London . 318 p.
- Fisher S., et Yates. 1957** . Statistical tables for biological agricultural and medical research 5<sup>ème</sup> ed ., Olivies and boyd-london .64-66 p.
- Gehu JM, Kaabeche M & Gharzouli R .1993** .Phytosociologie et typologie des habitats des rives des lacs de la région d'El Kala. Algérie. Colloque phytosociologique 22.Syntaxonomie typologique des habitats, Bailleul, 289 p.
- Gill .SS .1992.** The mode of action of *Bacillus thurngiensis* endo toxine. *Ann.Rev . Entomo.*, **37**:615-636.
- Goldberg L.J & J Margalit .1977.** A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity agonist *Anopheles sergenti* , *Uranoteania unguicultata* , *Culex univittatus sedesae* , and *Culex pipiens* .*Mosquito news.*, **37** : 355.
- Hagedorn, H. H., O.Connor, J. D., Fuchs, M. S., Sage, B., Schlaeger, D. A. & Bohm, M. K. 1975.**  
The ovary as a source of -ecdysone in an adult mosquito. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72.

- Hammer A. J., Lane S.J. & Mahony M . J. 2002.** The role of introduced mosquitifish (*Gambusia holbrooki* ) in excludng the native green and golden bell frog (*Litoria auria* ) from original habitats southeastern Australia . *Ecologia.*, **132**:445-452 .
- Harmillot P. J., Pasquier D. 2004.** Une nouvelle gamme de diffuseurs pour la lutte par confusion contre les vers de la grappe. Revue ou après l'élevage jusqu'à l'émergence des papillons. suisse Vitic., Arboric., Hortic.,**36 (2)** :95-100.
- Hemingway J., Hawkes N.J., Mc.Carroll L . & Ranson H .2004.** The molecular basis of insecticides resistance in mosquitoes .*Insect Biochemistry and Molecular Biology.*, **34** : 653-666.
- Himmi O., Dakki M ., Trari B & Elagbani M.A.1995** .Les Culicidae du Maroc. Clés d'identification avec donnés biologiques et écologiques. *Trav. Inst. Sci., séries Zool.*, 44, Rabat : 50 p.
- Hofte , H &Whiteley ,H.R .1989.** Insecticidal Crystal proteins of *Bacillus thuringiensis* . *Microbiol. Rev.*, **53** : 242-255.
- Honnée G & Visser .1993** . The mode action of *Bacillus thurngiensis* crystal proteins . *Entomologie expérimentales et Appliquée* .,**69** :145-155.
- Hoelscher , J.A. & B arrette , B .A. 2003** . Effets des surfaces traitées avec méthoxyfinozide sur l'attraction et la réponse des adulttes de *Cydia pomonella* ( Lepidoptera : Tortricidae ) . *J. entomol. Econ* ., **96 (3)**:623-628 .
- Ishaaya I ., Yablonski S., & Horowitz A.R .1995.** Copmparative toxicology of tow edysteroid agonints , RH-2485 and RH-5992 on susceptible and pyrethroid – resistance strains of the Egyptain cotton leafworm , *Spodoptera littoralis* .*Phytoparsitica* ., **32**:139-145 .
- Isabelle T ., Christian b ., philippe b & gilbert .1996** . Application *Bacillus thurngiensis* et de *Bacillus sphaericus* dans la demoustication et la lutte contr les vecteurs de maladies tropicales application de *Bacillus thurngiensis* an males de l'institut pasteur actualitie ., **7(4)** :247-260.

- Lacoursière J. O. & G. Charpentier. 1988.** Laboratory study of the influence of water temperature and pH on *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* efficacy against black fly larvae (Diptera: Simuliidae). *Journal of the American Mosquito Control Association.*, **4** : 64-72.
- Lereclus D., Deleclus . A & Lereclus .M . 1993 .** Diversity of *Bacillus thurngiensis* toxins and gens . Pp:37-30 . Dans *Bacillus thurngiensis* an environmental biopesticide : Heary and Patric. P.F.entwistle, J.S. cory ,M.bailey j .Higg. S (Eds) , Jon W et Sons Ltd
- Liton Y .M ., Nisbet A .A. J & Mordue A .J.1997.** The effects of Azadiractine on the the tests the desert locust , *Schistocerca gregaria* ( Farskal) *j. Insect . Physiol.*, **43**:1077-1084.
- Martin P .A.W & Trave R.S .1989.** Worldwide abundance and distribution of *Bacillus thurngiensis* isolates . *Applied and environnement microbiology.*, **55**:2437-2442.
- Mannion C.M ., Carpenter J.E & Goss . H .R .1994.** Potential of the comined use of inheried sterility and a parasitoid *Archytas marmoratus* ( Diptera : Tachinidae ) ; for managing ., *Helicoverpa zea* ( Lepidoptera : Noctidae ) . *environ . entomol .*, **23**:41-46
- Mauchamp. B., Malosse. C. & Saroglia . P.1989.** Biological effects and metabolism of fenoxycarb after treatment of the fourth and fifth instars of the tobacco budworm *Heliothis virescens* F. *Pestic. Sci.* ,**26** : 283-301.
- Morris C.D., Zimmerman R.H & Magnareli .L .A .1976 .**The bionomics of *Culiseta melanura* and *Culiseta morsitans* dyari in Central New York State ( Dipetra : Culicidae ) . *Ann. Entomol .Soc . Amer .*,**69** :101-105.
- Mrgalith Y & Bn-DoV .E .2000.** Biological control by *Bacillus thurngiensis subsp . israalensis* . Pp .243-301 . Dans insect pest management , techniques for environnement protection . F.E . rechcigl et N.A . rechcigl ( ED) CRC press LLC . USA.

- Muyle. H. & 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.
- Mulla. M. S.1990.** Activity, field efficacy, and use of *Bacillus thuringiensis israelensis* against mosquito. Bacterial control of mosquitoes and black flies: biochemistry, genetics and applications of *Bacillus thuringiensis israelensis* and *Bacillus sphaericus*. H. de Barjac and D. J. Sutherland (Eds.), Rutgers University Press, New Brun. pp. 134-160
- Nayar. J. K., J. W. Knight, A. Ali, D. B. Carlson & P. D. O,Bryan . 1999.**Laboratory evaluation of biotic and abiotic factors that may influence larvicidal activity of *Bacillus thuringiensis* serovar. *israelensis* against two Florida mosquito species. *Journal of the American Mosquito Control Association*. **15** : 32-42.
- Norbert B & Rettich F.1994 .**Protocol for the introduction of new *Bacillus thurngiensis var israelensis* products into the routine mosquito control program in Germany. *Journal of the American mosquitos control association*, **10 (4)**:527-533.
- Oberlander.H . 1995.** The imaginal discs. Dans *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*. Kerkut, G. A., Gilbert, L. I. (Eds), vol. 2. Pergamon Press, Oxford, p.151-182.
- O.M.S. 2002.** Utilisation d'emploi des pesticides ; vingtième rapport du Comité O.M.S. d'Experts des insecticides - *Org. Mond. Santé*, sér. Rapport techn., 513.
- O.M.S.1983.** Informal consultation on insect growth regulators.Who/ VBC / **83** :883
- O.M.S.2005.**Mosquitoborne diseases. National Center for infectious Diseases, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia.
- Pelmont J . 1995.** Bacteries et environnement . Ministère de la Recherche et la Technologie . DIST.Délégation à l'information scientifique et technique .Paris .P :77.

- Quesad-morga E ., Sautas-quiros R ., Valverde-Garcia P & A larvez C. 2004 .** Virulence , horizontal transmission , and sublethal reproductive effets of **Metarhizium anisopliae** (Anamorphic fungi ) on the German cockroach (Blattodeae: Blattellidae ) .*J.Invertebr . Pthol.*, **87** : 51-58.
- Rehimi N & Soltani N .1999 .** Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor , aganist *Culex pipiens pipiens* L . (Diptera : Culicidea ) . Effects on development and cuticule secretion .*J .Appl .Entomol.*,**123**:437-441.
- Rehimi N. 2004.** Etude de la reproduction de *Culex pipiens pipens* au niveau morphométrique, comportemental et physiologique, et l'évaluation de quelques inhibiteurs de la systhèse de la chitine sur plusieurs aspects. Thèse de Doctorat d'état en Biologie Animale. Université d'Annaba.
- Rehimi N., 1993 –** Activités biologiques de trois molécules dérivées de la benzoylurée (Dart, Andalin, Alsystin) à l'égard de *Culex pipiens pipiens* L. Thèse de magister en Biologie et Physiologie des invertébrés, option Arthropodologie. ISN. Université d'Annaba.
- Rashed, S. S. & M. S. Mulla. 1989.** Factors influencing ingestion of particulate materials by mosquito larvae (Diptera: Culicidae). *Journal of Medical Entomology.*,**26** : 210-216.
- Samraoui B., De Belair G. & Benyacoub S. 1992 .** A Much-threatened Lake: Lac des Oiseaux in Noortheastern Algeria .*Environmental conservation.*, **19 (3)** : 264 -267 + 276.
- Sayh F ., Fayet . C., Idoman M & Karlinisky .A .1996.** Effect of Azadiractine on vitellogenese of *Labidura riparia* ( Insect : Dermapetra ) . *Tissue and cell.*,**28**:741-749 .
- Schaffner F.1992 .** Les moustiques de Haute – Alsace .1.Systématique . Thèse DRS , Conseil Général du Haut-Rhin .295 p.
- Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Hevry J.P., Rhaiem A. & Brunhes J. 2001 .** Moustique d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification.
- Schmutterer . H & Rémbold H . 1990.** Neemtree- source of unique natural product for integrated pest management , medicine in-dusty and other purposes . Schmutterer . H. ( ad ) . VCH . Weinhein , Germany .

- Schnepfe ., Crickmore N ., Van Rie J ., Iareclous D ., Baun j ., Fritelson J., Zeigler D R ., Dean DH .1998 . *Bacillus thurngiensis* and pesticidal crystal proteins . *microbial and mol . boil . erv* .,62:775-806**
- Smaghe G., Vinuela E., Van Limbergen H .,Budia F., & Tirry L .1999.**Nonsteroidal moulting hormone agonists : Effects on protein synthesis and cuticule formation in Colorado beetle larvae . *Entomol .Exp . Appl* .,93:1-8.
- Smaghe, G., D. Bylemans, P. Medina, F. Budia, J. Avilla, and E. Vinuela. 2004.** Tebufenozide distorted codling moth larval growth and reproduction, and controlled field populations. *Annals of Applied Biology* 145: 291-298.
- Smith .A .G . 2000.** HOW toxic is DDT, *lancent* 356: 267-268.
- Spielman A. & Williams C . M. 1966.** Lethal effects of synthetic juvenile hormone on larvae of the yellow fever mosquito , *Aedes aegypt* . *Science.*, 154:1043-1044.
- Sun .X. & Barrett, B. 1999.** Fecundity and fertility changes in adult codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) exposed to surfaces treated with tebufenozide and methoxyfenozide. *J. Econ. Entomol.*, 92, 1039-1044.
- Sun.X ., Barrett ., B. A. & Biddinger.D. J. 2000.** Fecundity and fertility reductions in adult leafrollersexposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonist tebufenozide and methoxyfenozide. *Entomol. Exp. Appl.*, 94, 75-83.
- Swaroop S.1957.** Statistical methods for malaria eradication programs (World Health Organisation ) Geneva .Switzerland .
- Thiery I C , Back P , Barbazan & Sinère G . 1996.** Application de *Bacillus thurngiensis* et de *Bacillus sphaericus* dans la demoustication et la lutte contre les vecteurs de maladies tropicales .*Ann .Inst .Parteur.*, 7: 247-260

- Theobald , F.V. 1901 .** A monograph of the Culicidae or mosquitodes . Brit . Mus . London . vol .1-5 .
- Trisyono, A. &Chippendale, M. 1997.** Effect of the norsteriodal ecdysone agonists méthoxyfinozide and Tebufénozide , on the European com borer ( Leepidiptera : Pyralidae ) .J. *Econ Entomol .*, **90**: 1486-1492 .
- Undeen, A. H., L. A. Lacey &S. W. Avery. 1984.** A system for recommending dosage of *Bacillus thuringiensis* (H-14) for control of simuliid larvae in small streams based upon stream width. *Mosquito News.*, **44** : 553-559.
- Wang ,f. & Sehnal , F .2002 .** Ecdysteroid agonist RH-2485 injected into *Echistocerca* accelerates oviposition and enhances ecdysteroid contentin eggs .*Appl . Entmol . Zool.*, **37**: 409-414.
- Warren.R. E ., D. Rubenstein. D. J. Ellar., J. M. Kremer & R. J. Gilbert . 1984.** *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*: protoxin activation and safety.The Lancet.March .,**24** : 678-679.
- Weiser, J.1991.** Biological Control of Vectors. John Wiley & Sons Ltd., West Sussex, 189 pp.
- Wing. K. D., Slawecki .R. A. & Carlson .G. R. 1988.** RH- 5849, a nonsteroidal ecdysone agonist : effects on larval Lepidoptera. *Science .*, **241**:470-472.
- Wood D.M ., Dang P.T ., & Ellis R .A. 1979 .** The insects and Archnids of Canada «part 6» ( The mosquitoes of Canada . Diptra : Culicidae ) . Publication 1686 . Agriculture Canada .390 p.
- Williams, C. M. 1967.** The juvenile hormone II. Its role in the endocrine control of molting, pupation, and adult development in the cecropia silkworm.*Biol. Bull.Woods Hole .*,**121**: 572-585.



