



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLICUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة باجي مختار - عنابة
UNIVERSITE BADJI MOKHTAR - ANNABA

FACULTE DES SCIENCES

DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

LABORATOIRE DE BIOLOGIE ANIMALE APPLIQUEE

THESE EN VUE D'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT EN SCIENCE

Spécialité : BIOLOGIE ANIMALE

Intitulé

Biodiversité des moustiques de la région de Souk-Ahras et
lutte chimique : aspects écologique, morphométrique,
biochimique et toxicologique.

Présentée par : M^{me} HAMAIDIA Kaouther

Membres de Jury :

Mme Bendali Fatiha (Pr.)	Présidente	Université Badji Mokhtar, Annaba
M Soltani Noureddine (Pr.)	Directeur de thèse	Université Badji Mokhtar, Annaba
Mme Tadjine Aicha (Pr.)	Examineur	Universté d'El Tarf
Mme Tine-Djebbar Fouzia (MCA)	Examineur	Université de Tébessa

Année universitaire : 2013-2014

REMERCIEMENTS

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination. Mes longues années d'étude et de recherche m'ont permis de bien comprendre la signification de cette phrase toute simple. Ce parcours, en effet, ne s'est pas réalisé sans défis et sans soulever de nombreuses questions pour lesquelles les réponses nécessitent de longues heures de travail.

Un grand merci à Dieu pour m'avoir donné l'opportunité de mener à terme ce travail de thèse.

A l'issue de la rédaction de cette recherche, je suis convaincue que la thèse est loin d'être un travail solitaire. En effet, je n'aurais jamais pu réaliser ce travail sans le soutien d'un grand nombre de personnes dont la générosité, la bonne humeur et l'intérêt manifestés à l'égard de ma recherche m'ont permis de progresser dans cette phase délicate.

*Je remercie très sincèrement **Mme BENDALI Fatiha** (Université Badji-Mokhtar, Annaba) pour avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*J'ai beaucoup de reconnaissance et d'admiration à témoigner d'abord à mon cher directeur de recherche, le **Professeur SOLTANI Noureddine**, mon modèle professionnel, pour la confiance qu'il m'a accordée en acceptant de diriger ce travail, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire (Laboratoire de Biologie Animale Appliquée (LBAA) de l'Université Badji Mokhtar, Annaba),*

pour ses multiples conseils et pour toutes les heures qu'il a consacrées à diriger cette recherche. Il a su me guider et me faire partager ses connaissances de la phase expérimentale à la phase rédactionnelle. Il a toujours été à l'écoute de mes nombreuses interrogations et je le remercie vraiment pour tout !

*Je tiens également à remercier, **Mme TADJINE Aicha** (Université d'El Taref) et **Mme TINE-DJEBBAR Fouzia** (Université de Tébessa) pour l'intérêt qu'elles ont porté à ce travail en acceptant d'être membre de ce jury.*

*Je tiens à exprimer toute ma gratitude au **Professeur SMAGGHE Guy**, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire (Agrozoologie, Université de Gent, Belgique) au titre d'un stage de courte durée, au cours duquel j'ai réalisé l'essai *in vitro* sur l'activité des RCIs sur les lignées cellulaires.*

*Un grand merci à **Mme TINE-DJEBBAR fouzia** et **M. TINE Samir** pour tout ce qu'ils ont fait pour moi, depuis mon magistère à ce moment là.*

*Je voudrais remercier **Mlle CAPELLE Kaat**, doctorante à l'université Gent, Belgique. Elle m'a encouragé et fait part de ses expériences et astuces de jeunes chercheurs. Je lui souhaite de belles envolées professionnelles et personnelles. Merci pour son aide et pour les bons moments passés ensemble. Je lui adresse mes plus sincères encouragements et leur souhaite beaucoup de réussite.*

*Je tiens à remercier également **Mlle SIFI Karima** et **M. BAAROUR Chokri**.*

Si ce travail a été concrétisé c'est surtout grâce aux efforts prodigués par mon mari. Je lui remercie, pour son aide si précieuse tout au long de ses années, sa bonne humeur, son soutien et ses encouragements. Merci pour ce que tu fais pour nous. Soyez assuré de mon attachement et de ma profonde gratitude.

Je veux aussi remercier énormément mes Parents qui m'ont apporté un soutien sans faille depuis le début. Merci de dépasser vos limites pour nous. Merci pour votre confiance, vos sacrifices, vos attentions bienveillantes et vos encouragements.

Je terminerai en remerciant mes deux sœurs et mon frère pour m'avoir encouragé. Merci d'avoir été là pour me soutenir à tout moment.

MERCI

SOMMAIRE





Sommaire

	P.
1. INTRODUCTION	1
2. MATERIEL ET METHODES	4
2.1. Présentation de la région d'étude	4
2.1.1. Situation géographique.....	4
2.1.2. Milieu naturel.....	4
2.2. Présentation des sites d'étude	7
2.3. Données climatiques de la région d'étude	10
2.3.1. Précipitations.....	10
2.3.2. Température.....	10
2.3.3. Humidité.....	11
2.4. Classification du climat	11
2.5. Caractéristiques physicochimiques de l'eau des sites	13
2.5.1. Oxygène dissous.....	13
2.5.2. Potentiel hydrogène.....	13
2.5.3. Conductivité électrique.....	13
2.6. Méthodologie d'échantillonnage et identification des Culicidés	13
2.6.1. Echantillonnage des larves.....	13
2.6.2. Montage et identification des larves.....	14
2.6.3. Techniques de reconnaissance des Culicidae.....	14
2.7. Indices écologiques	14
2.7.1. Indices écologiques de composition.....	15
2.7.2. Indices écologiques de structure.....	16
2.8. Insectes et élevage	17
2.8.1. Présentation de <i>Culex pipiens</i>	17
2.8.1.1. Généralités.....	17
2.8.1.2. Cycle biologique.....	18
2.8.2. Elevage.....	19
2.9. Présentation des lignées cellulaires	20
2.10. Présentation des insecticides	20
2.11. Traitement <i>in vivo</i>	21
2.12. Traitement <i>in vitro</i>	22



2.13. Analyse des probits	23
2.14. Durées de développement	23
2.15. Prélèvement et morphométrie des gonades	23
2.16. Extraction et dosage des principaux constituants biochimiques	24
2.16.1. Dosage des protéines totales.....	26
2.16.2. Dosage des glucides totaux.....	26
2.16.3. Dosage des lipides totaux.....	27
2.17. Indices caloriques	28
2.17.1. Contenu calorique.....	28
2.17.2. Contenu calorique spécifique à la taille.....	28
2.18. Analyses statistiques	28
3. RESULTATS	29
3.1. Inventaire des Culicidés	29
3.1.1. Biodiversité culicidienne.....	29
3.1.2. Présentation des espèces inventoriées.....	30
3.1.3. Inventaire des moustiques dans la région de Souk-Ahras.....	45
3.1.4. Analyse de la faune culicidienne par des indices écologiques.....	47
3.1.4.1. Indices écologiques de composition.....	47
3.1.4.2. Indices écologiques de structure.....	54
3.1.5. Variation saisonnière de la densité larvaire.....	55
3.1.5.1. Effets du climat.....	55
3.1.5.2. Effets des caractéristiques physico-chimiques de l'eau.....	60
3.2. Toxicité du kinoprène à l'égard de <i>Cx. pipiens</i>	63
3.3. Toxicité comparée du kinoprène et du méthoxyfenozone sur les lignées cellulaires..	65
3.4. Effets du kinoprène sur le développement	68
3.4.1. <u>Traitement des œufs</u>	68
3.4.1.1. Effets sur la morphométrie des œufs.....	68
3.4.1.2. Effets sur la viabilité des œufs.....	69
3.4.1.3. Effets sur la durée de développement des stades larvaires.....	70
3.4.1.4. Effets sur la morphométrie des stades larvaires.....	71
3.4.2. <u>Traitement des larves du quatrième stade</u>	74
3.4.2.1. Effets sur la durée du développement des stades L4 et nymphal.....	74
3.4.2.2. Effets sur la morphométrie des stades L4, pupes et adultes.....	74



3.5. Effets du kinoprène sur la composition biochimique	76
3.5.1. <u>Traitement des œufs</u>	76
3.5.1.1. Effets sur la biochimie des œufs.....	76
3.5.1.2. Effets sur la biochimie des stades larvaires.....	76
3.5.2. <u>Traitements des larves du quatrième stade</u>	79
3.5.2.1. Effets sur la biochimie des L4, pupe et adultes.....	79
3.5.2.2. Effets sur les indices caloriques.....	81
3.6. Effets du kinoprène sur la reproduction	85
3.6.1. Effets sur la morphométrie des gonades.....	85
3.6.2. Effets sur la biochimie des gonades.....	87
4. DISCUSSION	89
4.1. Inventaire des culicidés	89
4.2. Toxicité du kinoprène contre <i>Cx. pipiens</i>	93
4.3. Toxicité du kinoprène et du méthoxyfenozone sur les lignées cellulaires	94
4.4. Effets du kinoprène sur le développement	96
4.5. Effets du kinoprène sur la composition biochimique	97
4.6. Effets du kinoprène sur la reproduction	98
5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES	100
6. REFFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	102
7. RESUMES	117
8. ANNEXES	
- Tableaux des données.	
- Production scientifique.	
- Publication.	

LISTE DES FIGURES





Liste des figures

	P.
Figure 1. Présentation des sites d'étude.....	5
Figure 2. Station 1 de Souk-Ahras ville.....	7
Figure 3. Station 2 de Souk-Ahras ville.....	7
Figure 4. Station 1 de Hanancha.....	8
Figure 5. Station 2 de Hanancha.....	8
Figure 6. Station 1 de Sedrata.....	9
Figure 7. Station 2 de Sedrata.....	9
Figure 8. Station 1 de Ain Soltane.....	9
Figure 9. Station 2 de Ain Soltane.....	9
Figure 10. Diagramme Ombrothermique de la région de Souk-Ahras (2011-2012).....	12
Figure 11. Cycle de vie de moustique.....	19
Figure 12. Structure chimique du kinoprène (A) et du méthoxyfenozone (B).....	21
Figure 13. Extraction des glucides, protéines et lipides totaux.....	25
Figure 14. Tergites abdominaux de <i>Cx. pipiens</i>	30
Figure 15. Aile de <i>Cx. pipiens</i>	30
Figure 16. Antenne de <i>Cx. theileri</i>	31
Figure 17. Dent distale du peigne siphonal de <i>Cx. theileri</i>	31
Figure 18. Écailles à longues épines médianes du peigne du 8 ^{ème} segment de <i>Cx. theileri</i>	31
Figure 19. Localisation des soies siphonales 8-P.....	32
Figure 20. Forme des soies siphonales 8-P de <i>Cx. modestus</i>	32
Figure 21. Epines (flèches) du peigne du 8 ^{ème} segment de <i>Cx. simpsoni</i>	33
Figure 22. Soies 1a-S siphonales (flèche) à 6 branches de <i>Cx. quinquefasciatus</i>	34
Figure 23. Mentum de <i>Cx. hortensis</i>	35
Figure 24. Dent distale du peigne siphonal de <i>Cx. hortensis</i>	35
Figure 25. Aile de <i>Cx. hortensis</i>	35
Figure 26. Position de la soie 1a-S de <i>Cx. arbieeni</i>	36
Figure 27. Selle complète d' <i>Ae. punctator</i>	37
Figure 28. Dents du 8 ^{ème} segment abdominal d' <i>Ae. quasirusticus</i>	38
Figure 29. Abdomen d' <i>Ae. quasirusticus</i>	38
Figure 30. Thorax d' <i>Ae. quasirusticus</i>	38



Figure 31.	Petite dent au point d'insertion des soies 11-M et 11-T de <i>Ae. pulcritarsis</i> ...	39
Figure 32.	Antenne de <i>Cs. longiareolata</i>	40
Figure 33.	Touffe basale siphonale de <i>Cs. longiareolata</i>	40
Figure 34.	Taches d'écailles sombres sur l'aile de <i>Cs. longiareolata</i>	40
Figure 35.	Trois bandes blanches longitudinales de <i>Cs. longiareolata</i>	40
Figure 36.	Fémur de la patte III de <i>Cs. longiareolata</i>	40
Figure 37.	Patte de <i>Cs. fumipennis</i>	41
Figure 38.	Soies du lobe basal du génitalia de <i>Cs. fumipennis</i>	41
Figure 39.	Proboscis d' <i>Or. pulcripalpis</i>	42
Figure 40.	3 ^{ème} patte annulée d' <i>Or. pulcripalpis</i>	42
Figure 41.	Gonocoxite du genitalia mâle d' <i>Or. pulcripalpis</i>	42
Figure 42.	Localisation des soies siphonales 8-C.....	43
Figure 43.	Branches de la soie 8-C d' <i>An. algeriensis</i>	43
Figure 44.	Localisation des soies clypéales 2-C et 3-C.....	43
Figure 45.	Distance entre les soies clypéales 2-C est inférieure à la distance entre 2-C et 3-C d' <i>An. algeriensis</i>	43
Figure 46.	Trois plaques du segment V abdominal d' <i>An. labranchiae</i>	44
Figure 47.	Soies antennaires d' <i>An. labranchiae</i>	44
Figure 48.	Distribution de la richesse spécifique dans les sites d'étude.....	47
Figure 49.	Abondance relative de chaque espèce récoltée dans les quatre sites étudiés de la région de Souk Ahras (décembre 2011-novembre 2012).....	49
Figure 50.	Fréquence d'occurrence de chaque espèce récoltée dans les quatre sites étudiés (décembre 2011-novembre 2012).....	51
Figure 51.	Fréquence d'occurrence de chaque espèce récoltée dans Souk-Ahras.....	51
Figure 52.	Fréquence d'occurrence de chaque espèce récoltée dans Sedrata.....	52
Figure 53.	Fréquence d'occurrence de chaque espèce récoltée dans Hanancha.....	53
Figure 54.	Fréquence d'occurrence de chaque espèce récoltée dans Ain-Soltane.....	53
Figure 55.	Variation numérique des récoltes des larves de culicidés en fonction des précipitations mensuelles moyennes (mm) dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).....	55



Figure 56.	Variation numérique des récoltes des larves de culicidés en fonction des températures mensuelles moyennes (mm) dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).....	56
Figure 57.	Variation numérique des récoltes des larves de culicidés en fonction d'humidité relative mensuelle moyenne (%) dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).....	57
Figure 58.	Variation saisonnière des effectifs larvaires des culicidés dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).....	58
Figure 59.	Variation saisonnière des effectifs larvaires dans les sites d'étude (décembre 2011-novembre 2012).....	59
Figure 60.	Variation saisonnière des valeurs moyennes de l'oxygène dissous (mg/l) dans les sites d'étude (décembre 2011-novembre 2012).....	60
Figure 61.	Variation saisonnière des valeurs moyennes du pH dans les sites d'étude (décembre 2011-novembre 2012).....	61
Figure 62.	Variation saisonnière des valeurs moyennes de la conductivité ($\mu\text{s}/\text{cm}$) dans les sites d'étude (décembre 2011-novembre 2012).....	62
Figure 63.	Aberrations morphologiques après traitement avec le kinoprène chez <i>Cx. pipiens</i>	64
Figure 64.	Effets du kinoprène appliqué à différentes concentrations sur la viabilité de différentes lignées cellulaires.....	66
Figure 65.	Effets du méthoxyfénoside appliqué avec différentes concentrations sur la viabilité cellulaire de différentes lignées.....	67
Figure 66.	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL_{50} et CL_{90}) sur le pourcentage d'éclosion (viabilité des œufs) chez <i>Cx. pipiens</i>	69
Figure 67.	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL_{50} et CL_{90}) sur la durée (jours) des différents stades larvaires chez <i>Cx. pipiens</i>	70
Figure 68.	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL_{50} et CL_{90}) sur le poids corporel (mg) des différents stades larvaires chez <i>Cx. pipiens</i>	71
Figure 69.	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL_{50} et CL_{90}) sur La largeur du thorax (mm) des différents stades larvaires chez <i>Cx. pipiens</i> ...	72
Figure 70.	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL_{50} et CL_{90}) sur le volume corporel (mm^3) des différents stades larvaires chez <i>Cx. pipiens</i> ...	73

LISTE DES TABLEAUX





Liste des tableaux

P.

Tableau 1 :	Répartition mensuelle des précipitations (mm) sur une période d'une année (décembre 2011-novembre 2012) dans la région de Souk-Ahras.....	10
Tableau 2 :	Températures moyennes (°C) enregistrées durant une année (décembre 2011-novembre 2012) dans la région de Souk-Ahras.....	11
Tableau 3 :	Humidités relatives (%) moyennes enregistrées durant une année (décembre 2011-novembre 2012) dans la région de Souk-Ahras.....	11
Tableau 4 :	Régulateurs de croissance d'insectes (RCIs) : nom commercial, type de formulation, concentration maximale recommandée (MFRC) (en mg ai/L) et structure chimique.....	21
Tableau 5 :	Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.....	26
Tableau 6 :	Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.....	27
Tableau 7 :	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.....	27
Tableau 8 :	Liste des espèces culicidienne inventoriées dans la région de Souk-Ahras.....	29
Tableau 9 :	Espèces récoltées dans les quatre sites dans la région de Souk-Ahras.....	45
Tableau 10 :	Nombre et pourcentage des genres dans les différents sites.....	46
Tableau 11 :	Distribution de la richesse spécifique dans les sites d'étude.....	47
Tableau 12 :	Abondance relative de chaque espèce récoltée dans les quatre sites étudiés.....	48
Tableau 13 :	Fréquence d'occurrence de chaque espèce récoltée dans les quatre sites étudiés (décembre 2011-novembre 2012).....	50



Tableau 14:	Indice de diversité de Shannon-Weaver et d'équitabilité des espèces culicidiennes récoltées dans les sites étudiés.....	54
Tableau 15:	Effet du kinoprène appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Cx. pipiens</i> , sur le taux observé de mortalité cumulée.....	63
Tableau 16 :	Efficacité du kinoprène appliqué sur des larves du quatrième stade chez <i>Cx. pipiens</i> : mortalité corrigée.....	63
Tableau 17 :	Efficacité du kinoprène appliqué sur des larves du quatrième stade chez <i>Cx. pipiens</i> : analyse des probits.....	64
Tableau 18 :	Effets du kinoprène appliqué à différentes concentrations sur les lignées...	65
Tableau 19 :	Effets du méthoxyfenozone appliqué à différentes concentrations sur la viabilité cellulaire de différentes lignées.....	67
Tableau 20 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le poids ($\times 10^{-9}$ g), la largeur (mm) et la longueur (mm) des œufs chez <i>Cx. pipiens</i>	68
Tableau 21 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur la durée (jours) du quatrième stade larvaire et nymphal chez <i>Cx. pipiens</i> ($m \pm s$, n=4 répétitions contenant chacune 10 individus).....	74
Tableau 22 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le poids corporel (mg) des différents stades chez <i>Cx. pipiens</i>	75
Tableau 23 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le volume corporel (mm ³) des différents stades chez <i>Cx. pipiens</i>	75
Tableau 24 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur la composition biochimique ($\mu\text{g}/\text{œuf}$) des œufs chez <i>Cx. pipiens</i>	76
Tableau 25 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur les contenus en protéines, glucides et lipides dans le corps entier ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des stades larvaires chez <i>Cx. pipiens</i>	78



Tableau 26 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur les contenus en protéines, glucides et lipides dans le corps entier (µg/individu) des différents stades de développement chez <i>Cx. pipiens</i> ...	80
Tableau 27 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le contenu calorique (CC) des métabolites (Cal) chez les différents stades de développement de <i>Cx. pipiens</i>	82
Tableau 28 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur le contenu calorique spécifique à la taille (CCST) (Cal/mm ³) des principaux métabolites chez les différents stades de développement de <i>Cx. pipiens</i>	84
Tableau 29 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur la longueur et la largeur (mm) des testicules et des ovaires des adultes à différents âges chez <i>Cx. pipiens</i>	86
Tableau 30 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur les contenus en protéines, glucides et lipides dans les testicules (µg/paire de testicules) à différents jours après l'émergence chez <i>Cx. pipiens</i>	88
Tableau 31 :	Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL ₅₀ et CL ₉₀) sur les contenus en protéines, glucides et lipides dans les ovaires (µg/paire d'ovaire) à différents jours après l'émergence chez <i>Cx. pipiens</i>	88



LISTE DES ABREVIATIONS



Liste des abréviations

RCIs :	Régulateurs de croissance des insectes.
HJ :	Hormone juvénile.
AHJs :	Analogues de l'hormone juvénile.
20E	20- hydroxyecdysone
OD :	Oxygène dissous.
CE :	Conductivité électrique.
DMSO :	Dimethylsulfoxyde.
TCA :	Acide trichloracétique.
C.C :	Contenu calorique.
C.C.S.T :	Contenu calorique spécifique à la taille.
m±SD :	moyenne ± l'écart-type.
<i>Cx.</i> :	<i>Culex.</i>
<i>Ae.</i> :	<i>Aedes.</i>
<i>An.</i> :	<i>Anopheles.</i>
<i>Cs.</i> :	<i>Culiseta.</i>
<i>Or.</i> :	<i>Orthopodomyia.</i>
CL ₅₀ :	Concentration létale d'un composé qui tue 50% de la population exposée.
CL ₉₀ :	Concentration létale d'un composé qui tue 90% de la population exposée.
Ni :	Nombre d'individus de l'espèce considérée.
F (%) :	Fréquence d'occurrence.
C :	Abondance relative.
S :	Richesse spécifique.
E :	Indice d'équitabilité.
H' :	Indice de Shannon-Weaver.
H' _{max} :	Diversité maximale.
Pi :	Abondance relative de l'espèce prise en considération.

INTRODUCTION





INTRODUCTION

Les moustiques sont considérés comme la première préoccupation dans l'environnement à cause de leur double rôle d'abord écologique dans les écosystèmes aquatiques et terrestre, et ensuite économique par leur impact sur la santé publique. Plusieurs espèces de moustiques, appartenant essentiellement aux genres *Anopheles*, *Aedes* et *Culex*, sont des vecteurs de pathogènes (arbovirus, protozoaires,...) et sont la cause indirecte de la plus grande morbidité et mortalité pour les humains par rapport aux autres organismes (Severson & Behura, 2012 ; Taraphdar *et al.*, 2012). Dans les pays du bassin méditerranéen, *Cx. pipiens* transmet la filariose, le virus West-Nile et l'encéphalite virale (Farajollahi *et al.*, 2011 ; Kilpatrick *et al.*, 2011), *Ae. albopictus*, transmet les virus de chikungunya (Thiboutot *et al.*, 2010) et de la dengue (Lambrechts *et al.*, 2010), et *An. sacharovi* le principal vecteur du malaria (Hadjinicolaou & Betzios, 1972 ; Sedaghat *et al.*, 2003).

La distribution des adultes des moustiques est liée aux préférences d'habitats des stades immatures. L'étude de la distribution et les exigences écologiques des larves apparaît cruciale pour une gestion efficace des gîtes potentiels, ainsi que pour une meilleure prévision des maladies à transmission vectorielle lors d'un programme de biosurveillance.

La pertinence d'un milieu pour un moustique dépend des interactions complexes des facteurs abiotiques comme les précipitations, la température, l'humidité et le type du sol (Buckner *et al.*, 2011), et les facteurs biotiques comme la compétition (Reiskind & Wilson, 2008), la prédation (Chase & Shulman, 2009) et la disponibilité de la nourriture (Palik *et al.*, 2006 ; Yee & Juliano, 2006). Une altération naturelle ou anthropique d'un de ces facteurs engendre des changements au niveau des habitats, ce qui peut affecter l'oviposition et la survie des larves (Leisnham *et al.*, 2005; Reiter & Lapointe, 2007), par conséquent l'abondance et la structure des communautés des moustiques.

L'utilisation des ressources naturelles par l'homme a changé la composition de la communauté des moustiques (Johnson *et al.*, 2008 ; Reiter & Lapointe, 2007) ainsi que leurs capacités comme vecteurs des maladies (De Groot *et al.*, 2008 ; Norris, 2004). Les écologistes et les biologistes mesurent la biodiversité d'un site ou d'une région donnée pour plusieurs raisons, le plus souvent pour analyser les changements spatio-temporels dans la diversité, la similarité, et la dominance des espèces en considérant les processus écologiques et évolutifs en cause (Magurran, 2006).



A l'heure actuelle, les moustiques sont généralement contrôlés par les insecticides conventionnels (carbamates, organophosphorés, pyréthrinoides...). Malgré les progrès réalisés, leur utilisation abusive a provoqué l'apparition de souches de plus en plus résistantes. Aujourd'hui avec la résistance de moustiques vecteurs aux insecticides (Konan *et al.*, 2011, Toto *et al.*, 2011) et celle des parasites aux médicaments, l'élimination des moustiques s'annonce très ardue. Même si les spécialistes s'accordent à aller vers la recherche d'alternatives aux produits disponibles actuellement, la mise au point de nouveaux insecticides de remplacement semble être une entreprise longue et coûteuse. En effet, l'industrie chimique a pu développer, grâce aux différentes connaissances acquises en physiologie de l'insecte, des pesticides non polluants agissant sur des processus physiologiques et biochimiques spécifiques aux organismes visés, les régulateurs de croissance des insectes (RCIs) ce qui peut contribuer à une gestion durable de l'environnement.

La spécificité d'action neurotoxique exclut d'emblée la plupart des larvicides chimiques conventionnels (Suman *et al.*, 2010). L'attention des expérimentateurs s'est alors portée vers les biolarvicides (composés d'origine naturelle) et les inhibiteurs du développement des insectes : deux classes de composés qui se caractérisent par leurs mécanismes d'action originaux sur les insectes. Les RCIs constituent une nouvelle classe de composés biorationnels qui perturbent la croissance, le développement et la métamorphose des insectes cibles. Par leur grande sélectivité d'action, ils préservent l'homme, la faune, la flore et l'environnement. L'hormone juvénile (HJ) est l'une des principales hormones du développement chez les insectes. Elle contrôle plusieurs aspects physiologiques et comportementaux. Les analogues de l'hormone juvénile (AHJs), comme le kinoprène, sont des composés imitateurs de structure et/ou d'activité biologique de l'HJ (Dhadialla *et al.*, 2010 ; Hui *et al.*, 2013). Ce sont des molécules alternatives aux insecticides conventionnels et très attractives pour la gestion du phénomène de résistance aux insecticides.

En Algérie, les moustiques ont fait l'objet de plusieurs études, que se soit toxicologiques ou taxonomiques (Bendali *et al.*, 2001; Boudjelida *et al.*, 2005; Tine-Djebbar & Soltani, 2008 ; Messai *et al.*, 2010 ; Bouaziz *et al.*, 2011 ; Tine-Djebbar *et al.*, 2011 ; Bouabida *et al.*, 2012). Beaucoup de RCIs ont été étudié au niveau de notre laboratoire sur *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae) mais jamais le kinoprène (AHJ). Les molécules suivantes ont été testées : teflubenzuron et diflubenzuron (Rehimi, 2004), flucycloxuron (Soltani & Rehimi, 2002), triflumuron (Soltani *et al.*, 1999), méthoxyfénoside (Djebbar, 2008) et halofénoside



(Boudjelida *et al.*, 2005). On constate que pour le kinoprène, il existe peu de données toxicologiques (Cloyd, 2003 ; Rothwangl *et al.*, 2004 ; Mommaerts *et al.*, 2006), particulièrement sur les moustiques. Il est donc important de compléter les études existantes sur cette molécule pour apporter des informations sur sa toxicité et ses effets. L'originalité de ce travail réside dans l'étude des effets du kinoprène sur *Cx. pipiens*.

Notre travail s'articule autour cinq grandes parties :

☞ Dans une première partie, notre étude a été consacrée à l'inventaire systématique des espèces de moustiques (Diptera : Culicidae) dans la région de Souk-Ahras (Nord-Est algérien) réalisé en une année, de décembre 2011-novembre 2012. Dans laquelle, nous avons présenté la région et le choix des stations d'étude, la description des méthodes utilisées pour l'échantillonnage et l'identification des culicidés. Durant cette étude, le taux de précipitations et les mesures de température et d'humidité relative ont été pris en compte pour mieux décrire le climat de la zone d'étude. Les résultats sont soutenus par des indices écologiques ;

☞ La deuxième partie, vise à évaluer la toxicité d'une molécule agoniste de l'hormone juvénile, peu étudiée, le kinoprène, à l'égard de *Cx. pipiens*, agent de nuisance dans les sites urbain et rural et ayant un intérêt médical en vue de déterminer les paramètres de létalité à l'égard des larves du quatrième stade.

☞ Dans une troisième partie, nous avons évalué, par une étude *in vitro*, l'effet de deux RCIs, le kinoprène et le méthoxyfenozone, sur trois lignées cellulaires, CF-203, Sf9 et S2.

☞ Une quatrième partie consiste à déterminer l'impact du kinoprène sur le développement de *Cx. pipiens*. Pour y répondre, nous avons établis des essais par application de deux concentrations létales du kinoprène sur des œufs nouvellement pondus ou des larves du quatrième stade nouvellement exuviées. Nous avons étudié la viabilité des œufs, la durée de vie, la croissance pondérale et linéaire du cœps entier de tous les stades de développement, ainsi que sur les gonades des adultes mâles et femelles.

☞ La cinquième partie est consacrée à la détermination de la composition biochimique (protéines, glucides et lipides) du corps entier des différents stades de développement de *Cx. pipiens* et dans les gonades mâles et femelles. Les indices caloriques sont également calculés.



MATERIEL ET METHODES



2. MATERIEL ET METHODES

2.1. Présentation de la région

2.1.1. Situation géographique

La wilaya de Souk-Ahras est localisée au Nord-Est algérien ($36^{\circ}17'11''\text{N}$, $7^{\circ}57'4''\text{E}$). La wilaya est limitée au Nord-Est par la wilaya d'El Tarf, au Nord-Ouest par la wilaya de Guelma, au Sud par la wilaya de Tébessa, au Sud-Ouest par la wilaya d'Oum El Bouaghi et à l'Est par la Tunisie (Fig. 1). La wilaya de Souk-Ahras s'étend sur une superficie de 4.359,65 km², ne représente que 0,18% de l'ensemble du territoire national. Elle est divisée en 26 communes, notre étude couvre quatre d'entre elles : Souk-Ahras ville, Hanancha, Sedrata et Ain Soltane.

2.1.2. Milieu naturel

2.1.2.1. Relief et géologie

La wilaya de Souk-Ahras se distingue par deux caractéristiques essentielles : le Nord à caractère montagneux faisant partie de l'Atlas Tellien. Le Sud faisant partie des hautes plaines. Selon la classification des pentes et du climat dominant, la wilaya de Souk-Ahras se caractérise par trois régions :

- *Région Nord-Est* : c'est une région montagneuse présentant des pentes très rudes variant de 15% à plus de 20% et faisant partie de la chaîne Tellienne, et qui constitue le patrimoine forestier.
- *Région Sud-Ouest* : est une région médiane constituée de piedmonts. Cette région est le prolongement des hauts plateaux, elle est caractérisée par de plaines agricoles et de pâturage.
- *Région Sud* : les terres sont de vastes étendues caractérisées par un relief plat, le sol est dégradé et de faible profondeur aggravé par une exposition aux divers aléas climatiques de faibles pluviométries, c'est l'espace des hauts plateaux.

2.1.2.2. Réseau hydrographique

Le réseau hydrographique couvre pratiquement toute la wilaya ; la rareté de l'eau s'explique essentiellement par des conditions climatiques dont les précipitations sont nettement insuffisantes d'une part et le manque de moyen et d'infrastructure de récupération



et de stockage de l'eau d'autre part. Trois grands oueds sillonnent la wilaya avec des débits irréguliers vue les conditions climatiques :

- Oued Mellegue : d'une superficie de 1442 Km² (un débit moyen de 210 million m³ /an).
- Oued Medjerda : d'une superficie de 1377 Km² (un débit moyen de 400 million m³ /an).
- Oued Echaref : d'une superficie de 1040 Km² (un débit moyen de 99 million m³ /an).

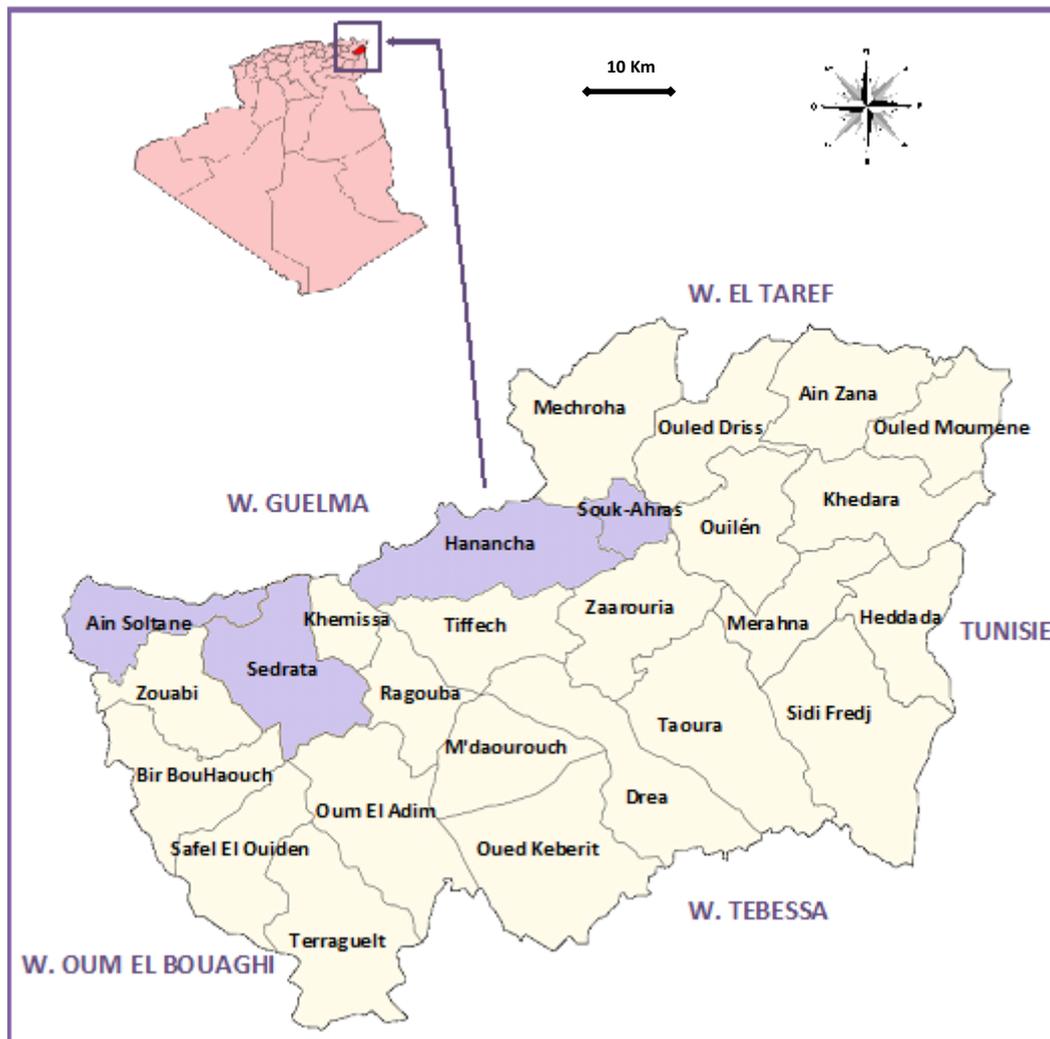


Figure 1. Présentation des sites d'étude.



2.1.2.3. Climat

Située sur les hauteurs de l'Atlas Tellien, la wilaya est exposée aux influences climatologiques méditerranéennes au Nord d'une part, et désertiques au Sud d'autre part. Le climat est caractérisé par un été chaud et sec (25 à 35°C en juillet et août), et un hiver froid et humide (1 à 15°C en janvier). Par ailleurs, on relève un certain nombre de jours de gelée blanche qui augmente du littoral vers l'intérieur. La moyenne de la gelée est de 23 jours/an au Nord et 47 jours/an au Sud. En hiver, les vents dominants sont ceux du Nord-Ouest et de l'Ouest chargés de pluies. En automne, les vents soufflants en direction de l'intérieur ont un rôle adoucissant de la température élevée de la région. Au printemps, la direction des vents est Nord-Ouest.

2.1.2.4. Couverture forestière

La wilaya de Souk-Ahras renferme d'importantes potentialités non négligeables, notamment dans le domaine forestier qui peut être un facteur de relance économique très important. En effet, elle recèle une richesse exceptionnelle de par la diversité de sa couverture forestière estimée à plus de 89 000 ha, soit les 21% de sa surface totale, dont 43 625 ha de pin d'Alep et 23 431 ha réservés au chêne gland et liège.

Sur le volet de la réalisation, quelque 1890 ha ont été reboisés récemment. La correction torrentielle, quant à elle, est de l'ordre de 23 000 m³. Près de 1 270 ha ont été réservés à la plantation fruitière. Les surfaces boisées de pin d'Alep situées dans les communes de Merahna, Sidi Fradj, Oum El Adim, Hanancha, M'daourouch, Khemissa, Ouled Driss et Ain Soltane.

Considérée comme la plus importante couverture forestière dans la wilaya de Souk-Ahras, le chêne liège permet de collecter environ 5 700 q de liège annuellement depuis 1992. Quelque 16% du patrimoine forestier constitué de chêne liège sont répartis à travers la région du nord-est de la wilaya, notamment les communes de Mechroha, Ain Zana, Ouled Driss. La subéraie de Souk Ahras (12000 ha) représente 12,47 % des forêts de chêne liège en Algérie.



2.2. Présentation des sites d'étude

Une prospection préliminaire effectuée en zones urbaine et rurale nous a permis d'inventorier quelques gîtes larvaires potentiels. Parmi ces gîtes, quatre sites ont retenu notre attention. Les critères pris en compte dans le choix des gîtes larvaires sont la représentativité des larves de Culicidés dans un lot de gîte productif, l'accessibilité, la pérennité et le non traitement. Cette étude a eu lieu de décembre 2011 à novembre 2012. Elle a porté sur des échantillons dans quatre sites: Souk-Ahras, Sedrata, Hanancha et Ain-Soltane comportant chacun deux stations. Les prélèvements ont été bi mensuels.

2.2.1. Souk-Ahras ville

Le territoire de la commune de Souk-Ahras est situé au Centre-Est de la wilaya de Souk-Ahras (36°17'11"N, 7°57'4"E), elle occupe une superficie totale de 812 km². Elle est limitée au Nord par Ouled Driss et Mechroha, le Nord-est Ouillen et Ouled Moumen, au Sud par Merahna et Taoura, le Sud-est par Sidi Fredj, Sud-ouest M'daourouch, à l'Est par Hddada et l'Ouest par Sedrata, et Tiffeche. La ville de Souk-Ahras est située dans une cuvette, entourée de montagnes boisées comme le Djebel Beni Salah ou Djbel Ouled Moumen, traversée par un des principaux oueds maghrébin, le Medjerda. L'étude a été effectuée sur deux stations présentées par des gîtes artificiels (bassin et fosse d'accumulation routière). Le bassin est situé au nord de Souk-Ahras au près de l'université Mouhammed Cherif Messaadia (Fig. 2), et la fosse d'accumulation routière est au sud de la ville (Fig. 3).



Figure 2. Station 1 de Souk-Ahras ville.



Figure 3. Station 2 de Souk-Ahras ville.



2.2.2. Hanancha

Hanancha est une commune de la wilaya de Souk Ahras, située à environ 20 km au sud-ouest du chef lieu de la wilaya ($36^{\circ} 13' 00''$ N $7^{\circ} 50' 00''$ E). Limitée au Nord par la wilaya de Guelma, au Sud par Tiffeche et Zarouria, à l'Ouest par Khemissa tandis qu'à l'Est, elle est limitée par Souk-Ahras. L'étude a été effectuée sur deux stations: la première est un gîte naturel (retenue de l'Oued Medjerda) située à l'Est de la ville (Fig. 4), et la deuxième station (bassin) est au centre de la ville dans une ferme (Fig. 5).



Figure 4. Station 1 de Hanancha.



Figure 5. Station 2 de Hanancha.

2.2.3. Sedrata

Située à environ 60 km au sud-ouest de son chef-lieu de la wilaya ($36^{\circ}7'42''$ N, $7^{\circ}31'53''$ E), Sedrata s'étend sur une superficie de 196 Km². En fait, Sedrata est située sur le piedmont sud de l'atlas tellien, limitée au nord par les monts de la Meida et au sud par les monts de Tiguilatine. Sedrata est limitée à l'Est par les communes de Khemissa et Ragoba, à l'Ouest par les communes d'Ain Soltane et Zouabi. Au Nord, elle est limitée par la wilaya de Guelma et au Sud par les communes de Bir Bouhouche et Oum Ladim. Les deux stations prospectées dans la présente étude sont des gîtes naturels (retenues du Oued Krab). La première retenue en amont (Est de la commune) (Fig. 6), et la deuxième en aval au près de la station d'épuration de Sedrata (Ouest de la commune) (Fig. 7).



Figure 6. Station 1 de Sedrata.



Figure 7. Station 2 de Sedrata.

2.2.4. Ain Soltane

Située à environ 75 km au sud-ouest du chef lieu de Souk-Ahras ($36^{\circ} 10' 42''$ N $7^{\circ} 22' 09''$ E), Ain Soltane est limité à l'Est par Sedrata, à l'Ouest et au Nord par la wilaya de Guelma et au Sud par la commune de Zouabi. Les deux stations sélectionnées sont des gîtes naturels, la première se situe au Nord-Est de la région (Fig. 8), et la deuxième au sud de la ville (Fig. 9).



Figure 8. Station 1 de Ain Soltane.



Figure 9. Station 2 de Ain Soltane.



2.3. Données climatiques de la région d'étude

Tous les insectes sont soumis dans le milieu où ils vivent aux actions d'agents climatiques très variés qui conditionnent leur activité et leur répartition géographique (Dajoz, 1975). Les données climatiques relevées s'étalent sur une période d'une année (décembre 2011-novembre 2012) et ont été fournies par la station météorologique de Souk-Ahras. Comme facteurs climatiques agissant sur la faune culicidienne, aussi bien du point de vue diversité que répartition, il y a la pluviométrie et la température, ainsi que les paramètres physico-chimiques de l'eau des gîtes (Dohm *et al.*, 2002).

2.3.1. Précipitations

Les précipitations constituent un facteur écologique fondamental. Cette pluviométrie permet l'humidification du sol sur lequel se forment des gîtes favorables à la pullulation des moustiques. Les quantités de pluies tombées pendant chaque mois de la période d'étude sont mentionnées dans le tableau 1. On remarque une irrégularité en volume et en répartition du régime pluviométrique durant l'année 2011-2012. Les mois les plus pluvieux sont décembre et février avec respectivement 198 et 254 mm. Le total annuel des précipitations enregistrées est de 993 mm.

Tableau 1 : Répartition mensuelle des précipitations (mm) sur une période d'une année (décembre 2011-novembre 2012) dans la région de Souk-Ahras (Station météorologique, 2012).

Mois	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Aout	Septembre	Octobre	Novembre
Précipitations (mm)	198	120	254	143	110	10	02	03	10	58	53	32

2.3.2. Température

Selon Seguy (1993), la température a un rôle déterminant dans l'évolution biologique des Culicidés. Elle influence l'espérance de vie et la fécondité des adultes ainsi que la maturation des œufs. Seguy (1951) rapporte que la température agit sur la vitesse de déplacement des individus. Les températures les plus basses sont enregistrées au mois de février avec une température moyenne de 4°C, le mois le plus chaud est le mois d'août (28,5°C) (tableau 2).



De juin à septembre, la température marque des valeurs un peu élevées qui dépassent les 20°C.

Tableau 2 : Températures moyennes (°C) enregistrées durant une année (décembre 2011-novembre 2012) dans la région de Souk-Ahras (Station météorologique, 2012).

Mois	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre
Températures (°C)	8,4	6,6	4,0	10,5	12,8	17,1	25,1	26,7	28,5	21,7	18,2	13,8

2.3.3. Humidité

L'humidité relative de l'air correspond au rapport entre la pression partielle de la vapeur d'eau contenue dans l'air et sa tension à la même température. Elle joue un rôle essentiel dans la vie des moustiques. Le tableau 3 présente les pourcentages d'humidité relative mensuelle entre décembre 2011 et novembre 2012. On remarque que cette période était humide à l'exception du mois d'août avec une humidité de 41%.

Tableau 3 : Humidité relative (%) moyenne enregistrée durant une année (décembre 2011-novembre 2012) dans la région de Souk-Ahras (Station météorologique, 2012).

Mois	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre
Humidité (%)	77	86	83	73	73	64	60	52	41	62	66	74

2.4. Classification du climat

La classification du climat ainsi que la détermination des mois secs est faites par le diagramme ombrothermique de Gaussen. L'analyse des températures et des précipitations permet de mettre en évidence la durée des périodes pluvieuse et des périodes sèche par la courbe ombrothermique de Gaussen. Selon [Bagnouls & Gaussen \(1953\)](#), un mois sec est un mois où les précipitations, exprimées en millimètre, sont inférieures à deux fois la température moyenne mensuelle, exprimée en degré Celsius ($P \leq 2T$). Ainsi le climat est sec quand la



courbe des températures se trouve au dessus de celle des précipitations. Il est humide dans le cas contraire (Dreux, 1980). Le diagramme de Gausсен de l'année 2011-2012 (Fig. 10) montre une période humide débute en décembre et se termine à la mi-mars.

Le diagramme ombrothermique de l'année 2011-2012 met en évidence deux périodes bien distinctes l'une sèche et l'autre humide. La période sèche s'étend sur cinq mois environ allant du mois de mai jusqu'au début septembre. La période humide s'étale du décembre jusqu'à début mai.

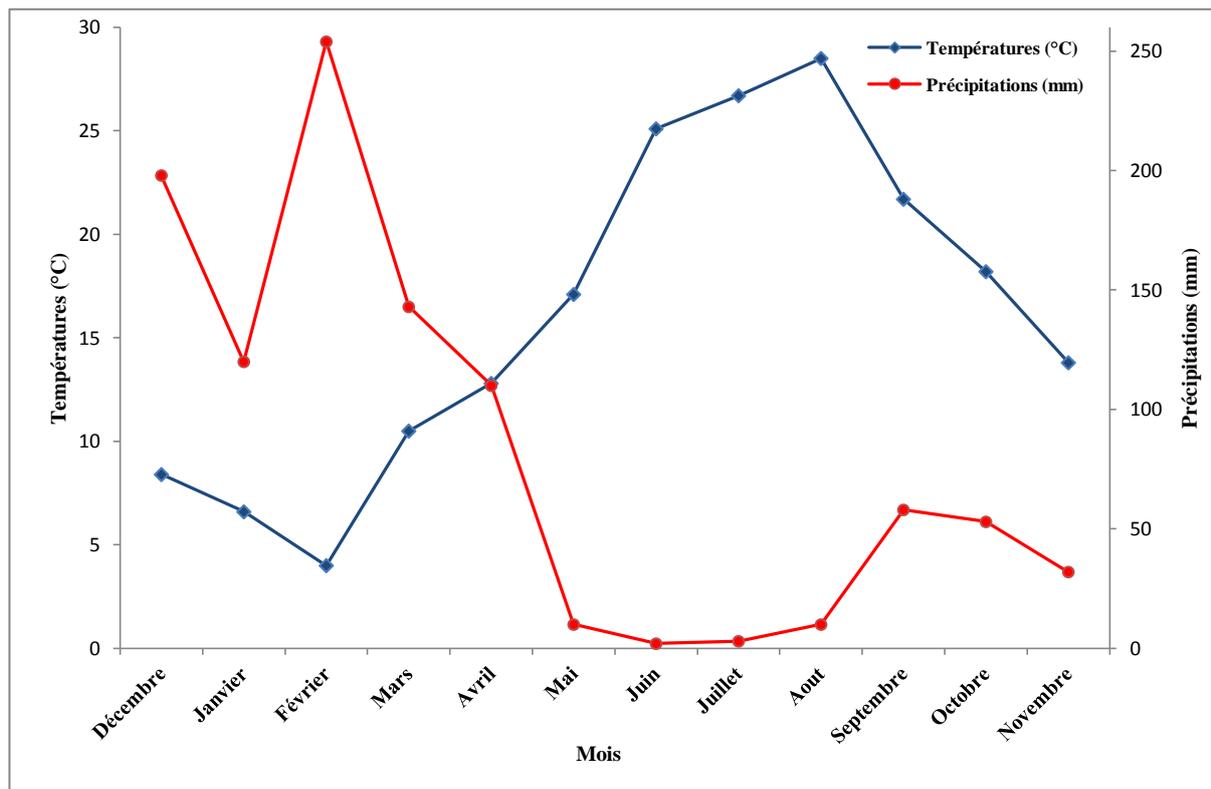


Figure 10. Diagramme Ombrothermique de la région de Souk-Ahras (2011-2012).



2.5. Caractéristiques physico-chimiques de l'eau des sites

Les analyses ont porté sur les principaux paramètres susceptibles de caractériser les eaux des gîtes de la région d'étude : l'oxygène dissous (OD), le pH et la conductivité électrique (CE) sont mesurés *in situ* à l'aide d'un analyseur multiparamétrique.

2.5.1. Oxygène dissous

L'oxygène dissous (OD) est essentiel pour les poissons et pour de nombreuses autres formes de vie aquatique. Il provient de l'oxygène en surface, du mouvement de l'eau et de la photosynthèse. L'OD varie selon le degré de température et il a tendance à être plus faible lorsque la température de l'eau est plus élevée. L'OD peut être mesuré en milligrammes d'oxygène par litre d'eau (mg/l).

2.5.2. Potentiel hydrogène (pH)

Le pH indique le caractère acide ou basique d'une solution. Il mesure la concentration en ions H^+ de l'eau, il traduit ainsi la balance entre acide et base sur une échelle de 0 à 14 : 0 étant acide et 14 basique. Le pH doit être impérativement mesuré sur le terrain.

2.5.3. Conductivité électrique

La conductivité de l'eau (CE), inverse de la résistivité, est proportionnelle à la concentration en minéraux dissous dans l'eau. Une eau douce accusera généralement une conductivité basse et bien au contraire une eau dite dure affichera une CE élevée. Plus une eau aura une CE importante plus une eau comportera de sels minéraux. Les substances dissoutes communes sont sodium, chlorure, sulfates, calcium, bicarbonate, nitrates, phosphates, fer et magnésium. La conductivité d'une eau est généralement mesurée en micro-Siemens par cm ($\mu S/cm$).

2.6. Méthodologie d'échantillonnage et identification des Culicidés

2.6.1. Echantillonnage des larves

Les prospections couvrent quatre sites différents dans la wilaya de Souk-Ahras selon la méthode du dipping ou trempage, consistant à plonger une louche de 500 ml dans l'eau puis déplacée d'un mouvement uniforme en évitant les remous. Chaque site est divisé en deux stations et l'échantillonnage est bimensuel. Dans chaque station, cent prélèvements ont été réalisés. Les larves, regroupées par station, sont élevées dans des récipients contenant de l'eau du gîte considéré et nourries avec 0,04 g du mélange biscuit 75%-levure 25% (Rehimi &



Soltani, 1999), jusqu'au quatrième stade larvaire. Ensuite, elles sont triées par espèce, dénombrées et déterminées. Les pupes récoltées ont été mises en élevage dans l'eau des gîtes respectifs jusqu'à l'émergence afin d'obtenir des adultes qui ont été également identifiés.

2.6.2. Montage et identification des larves

Les larves dont les caractères de détermination sont souvent microscopique, doivent être montées entre lame et lamelle. Selon Matine (1993), les larves sont plongées dans une solution de potasse à 10% où elles demeurent pendant 12 à 24 heures afin de les éclaircir. Les larves subissent ensuite deux bains de 2 à 3 minutes dans l'eau distillée pour les débarrasser de la potasse. Elles sont transvasées dans une solution d'alcool absolu pendant 3min, puis dans le toluène pur pendant quelques secondes. A l'aide d'une épingle fine, chaque larve est sectionnée en deux parties sous la loupe binoculaire au niveau de son septième segment abdominal. La partie antérieure est montée face dorsale vers le haut, le reste du corps est monté latéralement entre lame et lamelle dans une goutte de baume de Canada. La lame doit porter une étiquette sur laquelle la date de prélèvement, le lieu de récolte et l'appellation de l'espèce sont mentionnés. L'observation et la détermination de l'espèce se fait au microscope optique.

2.6.3. Techniques de reconnaissance des Culicidae

La systématique des Culicidés de la région de Souk-Ahras a été étudiée principalement à l'aide de deux logiciels d'identification: Moustiques d'Europe (Schaffner *et al.*, 2001) et Moustiques de l'Afrique méditerranéenne (Brunhes *et al.*, 1999) 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 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.

2.7. Indices écologiques

Les indices écologiques considérés dans la présente étude sont : les indices écologiques de composition (la richesse spécifique, l'abondance relative, la fréquence d'occurrence), et les indices écologiques de structure (l'indice de Shannon-Waeber, indice de Simpson, indice de Hill et l'indice d'équirépartition).



2.7.1. Indices écologiques de composition

2.7.1.1. Richesse spécifique

La richesse spécifique est l'ensemble des espèces que comporte un peuplement considéré dans un écosystème donné (Ramade, 1984), donc S est le nombre des espèces obtenu à partir du nombre total des relevés.

2.7.1.2. Abondance relative

Elle correspond à la participation d'une espèce en terme d'individus ni par rapport au total des individus N (Dajoz, 1971). L'abondance relative C permet d'étudier la distribution d'une espèce dans une région donnée et de dire si elle est commune, rare ou très rare. Elle est calculée par la formule suivante :

$$C = \frac{n_i}{N} \times 100$$

n_i : nombre d'individus de l'espèce i

N : nombre total d'individus relevés

- Espèce commune : Présente dans plus de 50 % de relevés.
- Espèce rare : Présente dans 25 à 50 % de relevés.
- Espèce très rare : Présente dans moins de 25 % de relevés

2.7.1.3. Fréquence d'occurrence

Elle représente le rapport exprimé sous la forme de pourcentage du nombre de relevés contenant l'espèce i pris en considération, par rapport au nombre total de relevés (Dajoz, 1971). Elle s'exprime de la manière suivante :

$$F = \frac{P_i}{N} \times 100$$

P_i : nombre de relevés contenant l'espèce

N : nombre total de relevés effectués

Selon la valeur de F, on distingue les catégories suivantes:

- | | |
|--|---|
| -Espèce omniprésente si $F = 100\%$. | -Espèce accessoire si $25\% \leq F < 50\%$. |
| -Espèce constante si $75\% \leq F < 100\%$. | -Espèce accidentelle si $5\% \leq F < 25\%$. |
| -Espèce régulière si $50\% \leq F < 75\%$. | -Espèce rare si $F \leq 4\%$. |



2.7.2. Indices écologiques de structure

2.7.2.1. Indice de diversité de Shannon-Weaver

L'indice de diversité de Shannon et Weaver (H'), est la quantité d'information apportée par un échantillon sur les structures du peuplement dont provient l'échantillon et sur la façon dont les individus y sont répartis entre diverses espèces (Daget, 1976). Il se calcule comme suit:

$$H' = - \sum P_i \log_2 P_i \quad \text{où : } P_i = n_i/N$$

D'où : H' : Diversité spécifique

n_i : Effectif de l'espèce i

N : Effectif total du peuplement.

Une valeur élevée de cet indice correspond à un peuplement riche en espèce, dont la distribution d'abondance est équilibrée. A l'inverse, une valeur faible de cet indice correspond soit à un peuplement caractérisé par un nombre d'espèces faible pour un nombre d'individus élevé, soit à un peuplement dans lequel il y'a une espèce dominante.

2.7.2.2. Indice de Simpson

Il mesure la probabilité que deux individus sélectionnés appartiennent à la même espèce :

$$D = \sum \frac{n_i (n_i - 1)}{N (N - 1)}$$

D'où : n_i : nombre d'individu d'une espèce donné

N : nombre total d'individus.

$D = 0$ indique le maximum de diversité

$D = 1$ indique le minimum de diversité



2.7.2.3. Indice de Hill

Il s'agit d'une mesure de l'abondance proportionnelle, permettant d'associer les indices de Shannon-Weaver et de Simpson en permettant d'obtenir une meilleure interprétation de la diversité observée (Anonyme, 2004):

$$\text{Hill} = \frac{1/D}{e^{H'}}$$

1/D: l'inverse de l'indice de Simpson

$e^{H'}$: l'exponentiel de l'indice de Shannon-Weaver

2.7.2.4. Équitabilité

L'équitabilité ou *équirépartition* constitue une seconde dimension fondamentale de la diversité (Ramade, 1984). Elle est le rapport entre la diversité spécifique (H') et la diversité maximale (H_{\max}), elle s'exprime comme suit:

$$E = H' / H_{\max} \quad \text{avec} \quad H'_{\max} = \text{Log}_2 S \text{ (S la richesse spécifique)}$$

L'équitabilité permet de comparer les structures des peuplements. La valeur de E varie de 0 à 1; elle tend vers 0 quand les différentes populations ne sont pas en équilibre entre elles et lorsque la quasi-totalité des effectifs est concentré sur une espèce, elle tend vers 1 quand il existe un équilibre entre les populations et lorsque toutes les espèces ont une même abondance (Ramade, 1984).

2.8. Insecte et élevage

2.8.1. Présentation de *Culex pipiens*

2.8.1.1. Généralités

Culex pipiens (Diptera : Culicidae) est un moustique largement distribué dans le globe terrestre à l'exception de l'Australie et l'antarctique (Farajollahi *et al.*, 2011), qui comporte deux formes : *molestus* et *pipiens*, possédant des différences morphologiques mineures mais se distinguent par leurs traits éco-physiologiques. La forme *molestus* est urbaine à caractère autogène (première ponte sans repas sanguin), sténogame (accouplement dans des espaces



limités), à développement homodynamique (absence de la diapause) et anthropophile (Rioux *et al.*, 1965), tandis que la forme *pipiens* est anautogène, eurygamme, avec une capacité de diapause et ornithophile (Vinogradova *et al.*, 2013), se développe dans les zones rurales. La position systématique (Brunhes *et al.*, 1999) de *Cx. pipiens* est la suivante :

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Super-classe	<i>Hexapoda</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Ordre	<i>Diptera</i>
Sous-ordre	<i>Nematocera</i>
Famille	<i>Culicidae</i>
Sous famille	<i>Culicinae</i>
Genre	<i>Culex</i>
Espèce	<i>Culex pipiens</i> Linné, 1758.

2.8.1.2. Cycle biologique

Les larves des moustiques ont un mode de vie exclusivement aquatique. Elles respirent à la surface de l'eau et s'alimentent de microparticules en suspension dans l'eau. Elles subiront 4 mues avant de se transformer en pupes. Les pupes sont mobiles mais ne se nourrissent plus et de profondes modifications anatomiques s'opèrent pour donner des adultes. L'accouplement (unique) a lieu peu de temps après l'émergence. Les moustiques mâles et femelles se nourrissent en aspirant diverses substances sucrées d'origine végétale. Cependant, les femelles doivent ingérer du sang (insecte hématophage) pour assurer le développement de leurs œufs (cycle gonotrophique). Les moustiques qui piquent préférentiellement l'Homme sont dits anthropophiles et ceux qui piquent les animaux, zoophiles (Berchi, 2000, Amraoui, 2012).

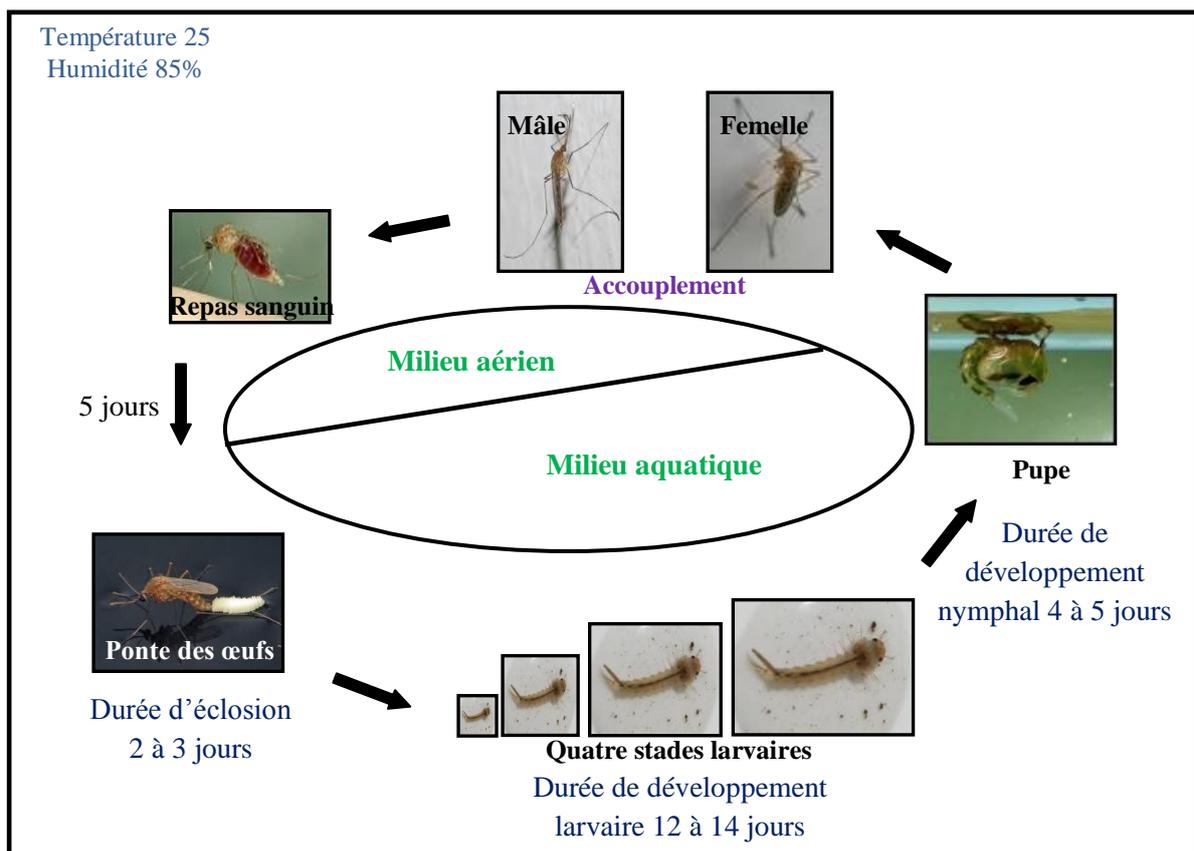


Figure 11. Cycle de vie de moustique.

2.8.2. Elevage

Les œufs et les larves de *Cx. pipiens* sont récoltés des zones non traitées dans la région de Sedrata (36°7'42" N, 7°31'53" E) et élevées dans des récipients contenant 150 ml d'eau de robinet déchlorurée maintenus dans des conditions contrôlées de température (25°C) et un cycle lumière/obscurité (14: 10 h). Les larves ont été nourries avec 0,04 g du mélange biscuit 75% - levure 25% (Rehimi & Soltani, 1999). L'eau est renouvelée chaque quatre jour. Lorsque les larves atteignent le stade nymphal, elles sont placées dans des récipients et déposées dans des cages où elles se transformeront en adultes. Les adultes de *Cx. pipiens* sont nourris de dattes. Le repas sanguin indispensable à la ponte, nécessite l'introduction d'un pigeon dans la cage pendant la nuit. Les œufs pondus dans des cristallisoirs ont été utilisés pour des nouvelles générations de *Cx. pipiens*.



2.9. Présentation des lignées cellulaires

Les cellules embryonnaires Schneider 2 (**S2**) (S2-Mt-D1) provenant de *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera : Drosophilidae) ont été maintenues dans le milieu de culture HyQ SFX-Insect™ (Perbio Science, Erembodegem, Belgique).

La lignée cellulaire FPMI-CF-203/2.5 (**CF-203**) originaire de l'intestin moyen de la tordeuse de bourgeons *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera : Tortricidae), sont mises en culture en suspension dans le milieu nutritif Insect-Xpress (BioWhittaker, Cambrex Bioscience, Walkersville, MD) avec 2,5% de sérum bovin fœtal inactivé (FBS) (Sigma-Aldrich, Bornem, Belgique).

La lignée cellulaire IPLB-Sf-21-AE (**Sf9**) provenant des ovaires de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae) a été cultivée dans Sf-900™ II SFM (Invitrogen, Belgique).

La culture des différentes lignées cellulaires a été maintenue au laboratoire d'Agrozoologie (Université de Gand, Belgique) à une température de 27°C (Mosallanejad *et al.*, 2010).

2.10. Présentation des insecticides

Le kinoprène est un composé qui interfère avec le développement des insectes en mimant l'action de l'hormone juvénile. Une formulation commerciale du kinoprene (Enstar® 65% EC de Sigma, Bornem, Belgique) a été utilisée. Ses caractéristiques sont données dans le tableau 4 et la figure 12.

Le méthoxyfenozone (RH-2485, 24% EC, nom commercial : Runner ou Intrepid, Dow AgroSciences, USA) est un insecticide appartenant à la famille de la diacylhydrazine. Il a été introduit par la compagnie Rhom & Haas (Pennsylvanie, USA). C'est un agoniste de l'hormone de mue (20-hydroxyecdysone ou 20E). Il mime l'action de cette hormone de mue naturelle ce qui provoque une mue précoce (tableau 4 et figure 12).

Les deux composés ont été gracieusement fournis par Pr. G. Smaghe (Laboratoire d'Agrozoologie, Université de Gand, Belgique).



Tableau 4 : Régulateurs de croissance d'insectes (RCIs) : nom commercial, type de formulation, concentration maximale recommandée (MFRC) (en mg ai/L) et structure chimique.

RCIs	Nom commercial	Formulation	MFRC (mg ai/L)	Structure chimique
Kinoprène	Enstar®	65% EC	650	<i>2-Propynyl-(E;E)-3;7;11-trimethyl-2;4-dodecadienoate</i>
Méthoxyfénoside	Runner ou Intrepid	24% EC	250	<i>3-methoxy-2-methylbenzoic acid-2-(3,5-dimethylbenzoyl)-2-tert-butylhydrazide</i>

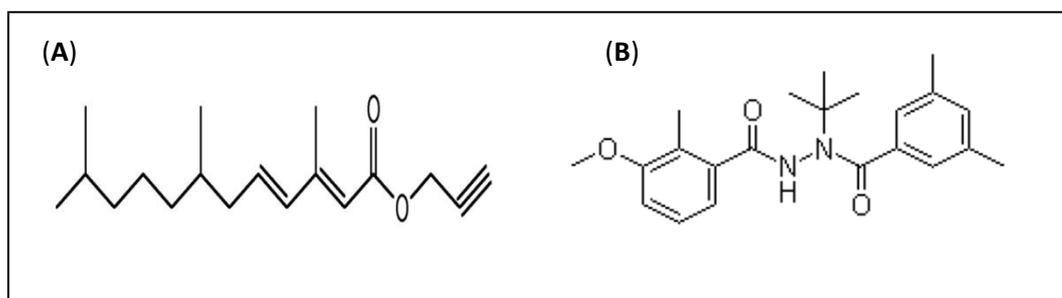


Figure 12. Structure chimique du kinoprène (A) (Kamita *et al.*, 2011) et du méthoxyfénoside (B) (Dhadialla *et al.*, 2005).

2.11. Traitement *in vivo*

Le kinoprène a été additionné à l'eau d'élevage à différentes concentrations (162,5 ; 325 ; 487,5 et 650 µg de matière active par litre) contenant des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens* (< 8 h) selon les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) (Anonyme, 1983); les témoins ont été exposés seulement à l'eau. Après 24h, les larves ont été rincées et placées dans de l'eau propre. Le test a été réalisé avec 4 répétitions contenant chacune 25 larves par concentration. La mortalité a été enregistrée chaque jour jusqu'à l'émergence des adultes.

Notre étude comporte deux grands volets ; le premier sert à étudier l'effet du kinoprène après traitement par deux concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) des œufs nouvellement pondus



sur des paramètres morphométriques des œufs (longueur et largeur) et des quatre stades larvaires (L1, L2, L3 et L4) (largeur du thorax et volume corporel) et biochimiques (protéines, glucides et lipides), tandis que le deuxième volet concerne le traitement des larves du quatrième stade nouvellement exuviées en considérant des paramètres biochimiques (protéines, glucides et lipides) et morphométriques pour les stades L4, pupes (largeur du thorax et volume corporel) et adultes mâle et femelle (longueur des ailes et volume corporel), ainsi que pour les gonades.

2.12. Traitement *in vitro*

La viabilité des cellules traitées a été déterminée selon Decombel *et al.* (2004). Les bioessais ont été réalisés en utilisant le 3-(4,5-diméthylthiazol-2-yl)-2,5-diphényl tétrazolium bromide (MTT) (Sigma, Bornem, Belgique) comme substrat. Le test MTT est basé sur la conversion enzymatique du sel tétrazolium jaune en un produit insoluble, le formazan violet, par les mitochondries des cellules vivantes (Kubera *et al.*, 2000).

Avant de commencer l'expérimentation, les concentrations cellulaires des différentes lignées testées ont été comptées à l'aide d'un Bürker-chamber par le test de Trypan bleu selon Oh *et al.* (2004). Brièvement, 10 µl de chaque solution cellulaire des trois lignées ont été mélangé avec 10 µl de trypan bleu (Sigma-Aldrich) et incubé pendant 3 min. Le nombre des cellules bleues (mortes) et blanches (vivantes) a été compté à l'aide de Bürker-chamber. Une solution des cellules S2 avec une densité de $1,7 \times 10^5$ cellules/ml a été préparée, $1,2 \times 10^5$ cellule/ml pour CF-203 et $0,5 \times 10^5$ cellules/ml pour Sf9.

Afin de déterminer les effets des deux RCIs (kinoprène et méthoxyfénazole) sur les différentes lignées cellulaires (S2, Sf9 et CF-203), les puits d'une microplaque à 96 puits (Greiner Labortechnik, Frickenhausen, Germany) ont été chargés de 300 µl de suspension cellulaire de S2 ou CF-203 ou 500 µl de Sf9. Les cellules ont été traitées à des concentrations finales allant de 1 nM à 10 µM par le kinoprène ou de 1 nM à 100 µM par le méthoxyfénazole préparées dans le diméthylsulfoxyde (DMSO). Tandis que les séries témoins ont été exposées à la même concentration de DMSO (7 µl) dans chaque puit. Ensuite, les microplaques ont été scellées avec le parafilm et incubées à 27°C pendant 3 jours. Quatre répétitions ont été réalisées pour chaque concentration et chaque expérience a été répétée deux fois. Après incubation, le nombre des cellules vivantes a été compté par la technique MTT. L'absorbance du formazan produit a été mesurée à une longueur d'onde de 560 nm dans un lecteur des microplaques (PowerWare X340, Bio-Tek Instruments Inc., Winooski, VT).



2.13. Analyse des probits

Afin de caractériser la toxicité du kinoprène à l'égard des larves L4 de *Cx. pipiens* nouvellement exuviées jusqu'au stade adulte, il est nécessaire d'estimer les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀). Les pourcentages de mortalité observés sont corrigés par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de connaître la toxicité réelle du pesticide par l'analyse des probits (Finney, 1971). Après transformation angulaire des pourcentages de mortalité, les données ainsi normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification. Les mortalités corrigées obtenues permettent d'établir une courbe de probits en fonction des logarithmes décimaux des doses. Les pourcentages corrigés se convertissent en leurs probits (Fisher & Yates, 1957). Les logarithmes des concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) sont déterminés à partir d'une droite de régression selon le procédé mathématique de Finney (1971). La méthode de Swaroop (1957) et Swaroop *et al.* (1966) précise l'intervalle de confiance avec une probabilité de 95%.

2.14. Durées de développement

Afin d'évaluer l'effet du kinoprène sur les durées de développement des différents stades de *Cx. pipiens*, des expériences ont été établies.

Après traitement des œufs nouvellement pondus par les deux concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀), les durées des différents stades ont été calculées depuis l'apparition des larves jusqu'à la mue suivante (Ex : La durée du 1^{er} stade larvaire a été calculée depuis l'éclosion jusqu'à la 1^{ère} mue larvaire, celle du 2^{ème} stade depuis la 1^{ère} jusqu'à la 2^{ème} mue larvaire, ...).

Après traitement (CL₅₀ et CL₉₀) des larves du quatrième stade nouvellement exuviées, les durées des deux stades ont été calculées ; la durée du 4^{ème} stade larvaire depuis la 3^{ème} mue jusqu'à la mue nymphale, et la durée du stade nymphal depuis l'apparition des pupes jusqu'à l'émergence des adultes.

2.15. Prélèvement et morphométrie des gonades

Les tests sont réalisés dans le but de déterminer l'effet du kinoprène sur des paramètres métriques des gonades des adultes (mâle et femelle) afin d'apprécier ces effets sur la reproduction. Les mâles et les femelles du *Cx. pipiens*, issus des larves du quatrième stade témoins et traitées (CL₅₀ et CL₉₀), sont récoltés à différents jours après l'émergence : 0, 2, et 4 jours. Ils sont disséqués sous une loupe binoculaire au niveau des derniers segments



abdominaux. Des mesures (largeur et longueur) des ovaires ou des testicules ont été prises à l'aide d'un micromètre oculaire préalablement calibré. Trois répétitions contenant chacune 10 paires d'ovaires ou 10 paires de testicules par série ont été réalisées et conservées dans un 1 ml de TCA à 20 % pour le dosage des constituants biochimiques.

2.16. Extraction et dosage des principaux constituants biochimiques

Les principaux constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) ont été extraits selon [Shibko et al. \(1966\)](#) (Fig. 13). Des échantillons de 10 individus de chaque stade, 10 ovaires ou 10 testicules sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés à l'aide d'un homogénéiseur à ultrason. Après une première centrifugation (5000 trs /min à 4°C, 10 mn) selon la méthode de [Duchateau & Florkin \(1959\)](#), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux. Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/ 1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides ([Goldworthy et al., 1972](#)) et le culot II dissout dans la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon [Bradford \(1976\)](#). Les résultats ont été exprimés en µg par individu sur la base de trois répétitions.

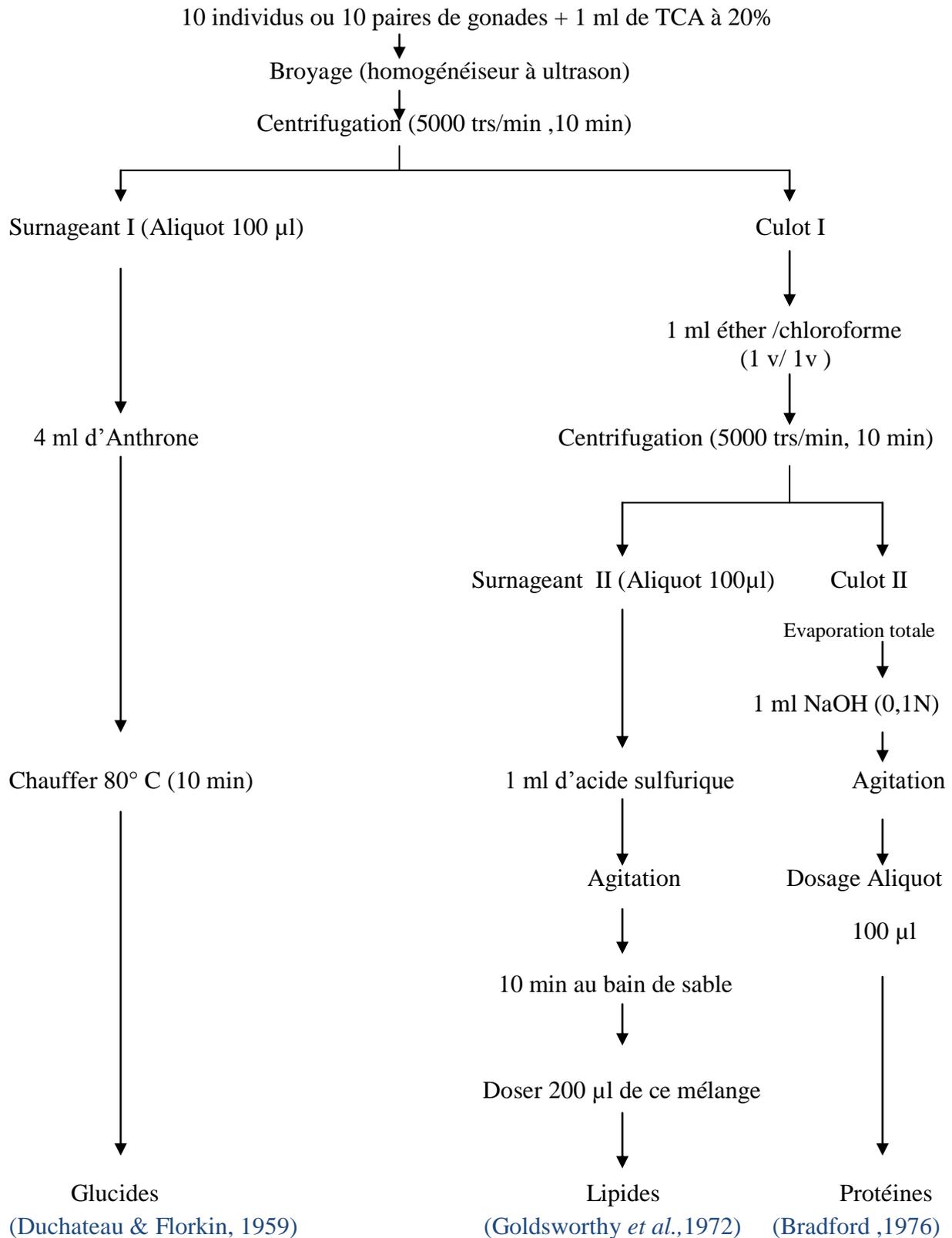


Figure 13. Extraction des glucides, protéines et lipides totaux selon Shibko *et al.* (1966).



2.16.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100 μ l à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de commassie (BBC) G 250 (Merck). La solution de BBC, se prépare comme suit: On homogénéise 100 mg de BBC, dans 50 ml d'éthanol 95°, on y ajoute ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 1000 ml avec l'eau distillée. La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4 C°. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant 1 mg/ml (tableau 5).

Tableau 5 : Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

2.16.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon Duchateau & Florkin (1959). Elle consiste à additionner 100 μ l du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 mn, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon, la lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La préparation du réactif d'anthrone se fait comme suit : peser 150 mg d'anthrone, ajouter 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée. On obtient une solution limpide de couleur verte qui est stockée à l'obscurité. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml) (tableau 6).



Tableau 6 : Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

2.16.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de [Goldsworthy et al. \(1972\)](#) utilisant le réactif sulfophosphovanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100 μl des extraits lipidiques ou de gamme étalon aux quelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, les tubes sont agités, et mis pendant 10 mn dans un bain de sable à 100 °C. Après refroidissement, on prend 200 μl de ce mélange au quel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphovanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide Sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. Le réactif est préparé comme suit : dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée et ajouter 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4 °C et à l'obscurité. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol Elio Cévital, 99% triglycérides) dans un tube eppendorf on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V) (tableau 7).

Tableau 7 : Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (μl)	0	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme)(1V/1V)	100	80	60	40	20	0
Quantité de lipides (μg)	0	50	100	150	200	250



2.17. Indices caloriques

Deux indices caloriques par individu ont été déterminés : le contenu calorique (C.C) et le contenu calorique spécifique à la taille (C.C.S.T.). Les deux paramètres ont été calculé d'après 3 répétitions contenant chacune 10 individus de chaque stades (larves du quatrième stade âgées de 24h, pupes et adultes nouvellement exuviés (< 1h)).

2.17.1. Contenu calorique

Les valeurs absolues des différents métabolites (protéines, glucides et lipides) ont été converties en calories. 1 calorie correspond à 0,004 µg de glucides et de protéines, tandis que pour les lipides 1 calorie correspond à 0,009 µg (Timmermann & Briegel, 1999) décrits par Tine-Djebar & Soltani (2008).

2.17.2. Contenu calorique spécifique à la taille

Les valeurs du contenu calorique ont été corrélées avec le volume corporel. Selon Briegel & Timmermann (2001) on a calculé le contenu calorique spécifique à la taille par individu d'après la formule suivante:

$$\text{C.C.S.T (cal/mm}^3\text{)} = \frac{\text{contenu calorique}}{(\text{largeur du thorax ou longueur des ailes})^3}$$

2.18. Analyses statistiques

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (version 16, PA State College, USA) et au logiciel R (Venables & Ripley, 2002). Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm l'écart-type ($m \pm SD$). Les quantités des constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) ont été déterminées à partir des courbes d'étalonnage dont l'équation de la droite de régression exprime l'absorbance en fonction de la quantité du standard utilisé (albumine, glucose et l'huile de tournesol). La signification entre les différentes séries a été testée en utilisant test t de Student, et le niveau de signification considéré est $p \leq 0,05$.

RESULTATS





3. RESULTATS

3.1. Inventaire des Culicidés

3.1.1. Biodiversité culicidienne

Au cours de la période allant de décembre 2011 à novembre 2012, des récoltes bimensuelles des larves des moustiques ont été effectuées dans la région de Souk-Ahras, sur quatre sites réparties en huit stations. Durant les 12 mois d'étude, il a été inventorié 16 espèces de Culicidae appartenant à deux sous-familles : Culicinae qui englobe le plus grand nombre d'espèces (14 espèces) et Anophelinae (2 espèces). Les espèces récoltées et déterminées sont présentées dans la liste systématique suivante :

Tableau 8 : Liste des espèces culicidienne inventoriées dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).

Famille	Sous famille	Genre	Espèces	
Culicidae	Culicinae	<i>Culex</i> Linné, 1758	<i>Culex pipiens</i> Linné, 1758	
			<i>Culex theileri</i> Theobald, 1903	
			<i>Culex modestus</i> Ficalbi, 1890	
			<i>Culex simpsoni</i> Theobald, 1905	
			<i>Culex quinquefasciatus</i> Say, 1823	
			<i>Culex hortensis</i> Ficalbi, 1889	
				<i>Culex arbieeni</i> Salem, 1938
			<i>Aedes</i> Meigen, 1818	<i>Aedes punctur</i> Kirby, 1837
				<i>Aedes quasirusticus</i> Torres Canamares, 1951
				<i>Aedes pulcritarsis</i> Rondani, 1872
		<i>Culiseta</i> Neveu-Lemaire, 1902		
		<i>Culiseta longiareolata</i> Macquart, 1828		
		<i>Culiseta fumipennis</i> Stephens, 1825		
		<i>Culiseta</i> sp1		
		<i>Orthopodomyia</i> Theobald, 1904		
		<i>Orthopodomyia pulcripalpis</i> Rondani, 1872		
	Anophelinae	<i>Anopheles</i> Meigen, 1818	<i>Anopheles algeriensis</i> Theobald, 1903	
			<i>Anopheles labranchiae</i> Falleroni, 1926	



3.1.2. Présentation des espèces inventoriées

3.1.2.1. *Culex pipiens* Linné, 1758

Le taxon est actuellement considéré comme une espèce plastique. Cette espèce multivoltine est très abondante pendant les mois d'été et d'automne. Les imagos femelles hivernent dans les caves, étables, grottes et autres abris naturels. L'espèce est vectrice des virus West Nile et Sindbis responsable de la polyarthrite épidémique (fièvre de la Ross-River) ; elle est réceptive au virus Tahyna responsable de l'encéphalite de Californie et à *Dirofilaria immitis* (Schaffner *et al.*, 2001). Chez les adultes, le tergite III possède une bande antérieure claire (Fig. 14) et la base de la fourche R2-R3 des ailes se situe avant l'apex de la sous-costale (Fig. 15).



Figure 14. Tergites abdominaux de *Cx. pipiens* (Gr x 30).

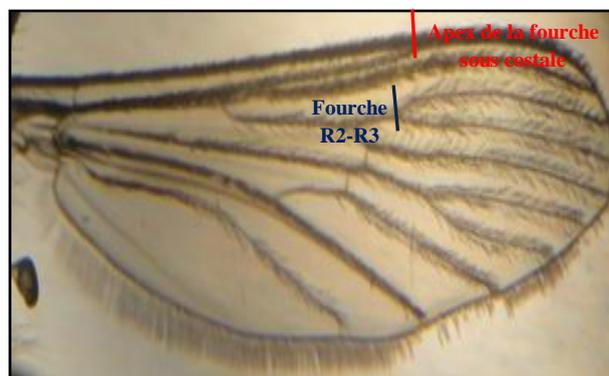


Figure 15. Aile de *Cx. pipiens* (Gr x 50).



3.1.2.2. *Culex theileri* Theobald, 1903

Les larves de cette espèce peuvent se rencontrer dans un grand nombre de gîtes dont l'eau est généralement douce mais peut être aussi légèrement salée ; cette eau peut être propre ou polluée. Les femelles piquent tous les mammifères essentiellement en extérieur, mais peuvent entrer dans les maisons pour piquer l'homme ; elles ne constituent pas une nuisance majeure. L'espèce hiverne au stade imaginal. En Afrique du Sud, l'espèce a été trouvée naturellement infectée par les virus West Nile et Sindbis. Cette espèce est également infectée en laboratoire par *Dirofilaria immitis* (Schaffner *et al.*, 2001). Ce qui caractérise la larve de cette espèce c'est une antenne longue avec la soie 3-A insérée à proximité de 4-A (Fig. 16). La dent distale du peigne siphonal est ornementée avec 3 à 5 denticules basaux (Fig. 17). *Cx. theileri* se distingue de *Cx. brumpti* par son peigne du 8^{ème} segment formé seulement d'écailles à longues épines médianes (Fig. 18).

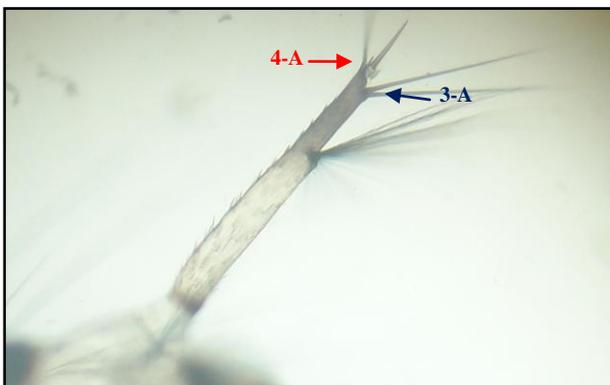


Figure 16. Antenne de *Cx. theileri* (Gr x 800).



Figure 17. Dent distale du peigne siphonal de *Cx. theileri* (Gr x 1000).



Figure 18. Écailles à longues épines médianes du peigne du 8^{ème} segment de *Cx. theileri* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.3. *Culex modestus* Ficalbi, 1890

Les larves se développent dans les rizières, les canaux d'irrigation, les marais semi-permanents. Ces gîtes sont généralement très ensoleillés et colonisés par la végétation. L'eau peut y être douce ou légèrement saumâtre. L'espèce est autogène. Les femelles hibernent dans la végétation et reprennent leur activité dès le printemps. Elles sont agressives envers l'humain. Cette espèce a été impliquée dans la transmission du virus West Nile, du virus Tahyna, elle a été trouvée infectée par le virus Sindbis et *Dirofilaria immitis* (nématode) (Schaffner *et al.*, 2001). La larve de *Cx. modestus* se distingue par son siphon long et ses soies 8-P formées de plusieurs branches (Fig. 20).

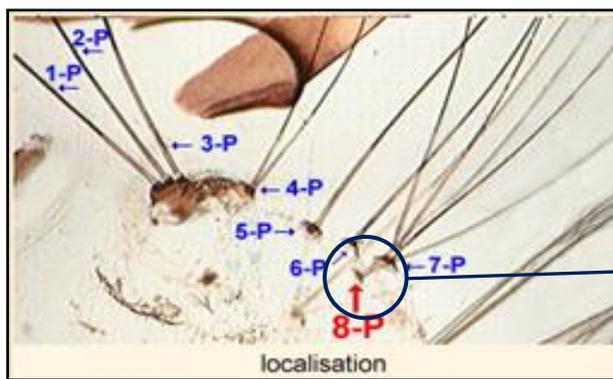


Figure 19. Localisation des soies siphonales 8-P (Brunhes *et al.*, 1999).

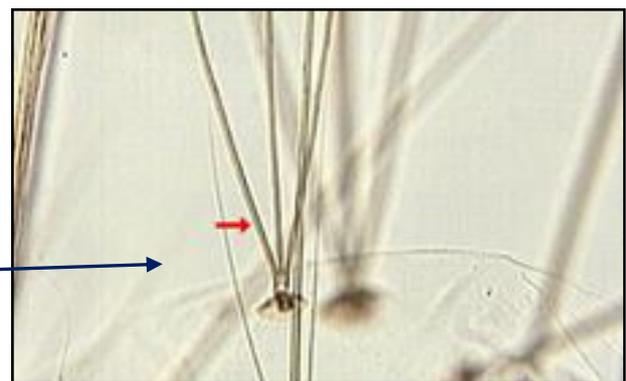


Figure 20. Forme des soies siphonales 8-P de *Cx. modestus* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.4. *Culex simpsoni* Theobald, 1905

Cette espèce, largement représentée dans toute la région afro-tropicale, remonte le long des côtes orientales et occidentales de l'Afrique. Elle est ainsi présente en Mauritanie et au Maroc comme en Ethiopie et au Yémen (Brunhes *et al.*, 1999) . Ses larves se développent dans un grand nombre de gîtes à l'eau claire et ensoleillée; la végétation dressée peut y être présente ou absente. La biologie des femelles est très peu connue car elles ne piquent qu'exceptionnellement l'homme. Leur rôle dans la transmission de parasitoses humaines ne peut donc être que des plus réduit. La larve de *Cx. simpsoni* est proche ce celles de *Cx. antennatus*, *Cx. sinaiticus* et *Cx. theileri*. Elle se distingue de ces 3 espèces par son peigne du 8^{ème} segment formé uniquement d'épines (Fig. 21).



Figure 21. Epines (flèches) du peigne du 8^{ème} segment de *Cx. simpsoni* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.5. *Culex quinquefasciatus* Say, 1823

C'est une espèce cosmopolite, active pendant la nuit et vecteur de plusieurs pathogènes chez l'Homme. Dans la partie Sud des Etats Unis, *Cx. quinquefasciatus* est le vecteur principal du virus de la fièvre encéphalite. *Cx. quinquefasciatus* transmet aussi le virus du West Nile. Ses larves pullulent dans toutes les eaux urbaines riches en matières organiques ou polluées par les détergents, sans délaissier pour autant les eaux claires. *Cx. quinquefasciatus* est aussi présent en milieu rural dans des gîtes variés : eaux polluées des rejets agroalimentaires, réserves d'eau à usage domestique, petits gîtes naturels et divers récipients abandonnés. Les femelles sont anthropophiles et piquent la nuit à l'intérieur, mais surtout à l'extérieur des maisons ; elles piquent les humains et les mammifères domestiques ainsi que les oiseaux. *Cx. quinquefasciatus* est un vecteur important de *W. bancrofti*, agent de la filariose lymphatique et peut transmettre le virus de la fièvre de la vallée du Rift (Boussès *et al.*, 2013). *Cx. quinquefasciatus* est particulièrement proche de *Cx. pipiens*. Il s'en distingue par ses soies 1a-S formées de 6 branches ou plus (exceptionnellement 5) (Fig. 22) (Brunhes *et al.*, 1999).

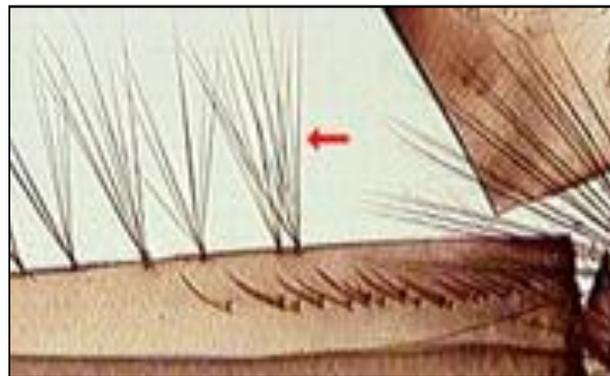


Figure 22. Soies 1a-S siphonales (flèche) à 6 branches de *Cx. quinquefasciatus* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.6. *Culex hortensis* Ficalbi, 1889

Cx. hortensis est multivoltine et sténogame, les larves sont présentes du milieu du printemps jusqu'en automne, elles disparaissent aux premières gelées. Les gîtes larvaires sont très variés. Les larves peuvent en effet se développer dans de petits gîtes dépourvus de végétation (creux de rocher, abreuvoir cimenté, flaque dans le lit de torrent) ou dans des gîtes encombrés de végétation (bords de mares, drains). L'eau de ces gîtes peut être limpide ou riche en matière organique, elle est généralement douce, ensoleillée et stagnante. Les femelles ne piquent pas les mammifères ; elles se nourrissent par contre très volontiers sur batraciens et reptiles. L'espèce n'a jamais été impliquée dans la transmission de parasitoses humaines (Schaffner *et al.*, 2001). Les critères d'identification les plus importants sont : un siphon long et mince, le mentum de la larve est formé de moins de 8 dents de part et d'autre de la dent médiane (Fig. 23) ; la dent distale du peigne siphonal est constituée plus de 5 denticules basaux (Fig. 24). La base de la fourche R2-R3 se situe au delà de l'apex de la sous-costale (Fig. 25) (Brunhes *et al.*, 1999).



Figure 23. Mentum de *Cx. hortensis* (Brunhes *et al.*, 1999).



Figure 24. Dent distale du peigne siphonal de *Cx. hortensis* (Gr x 1400).

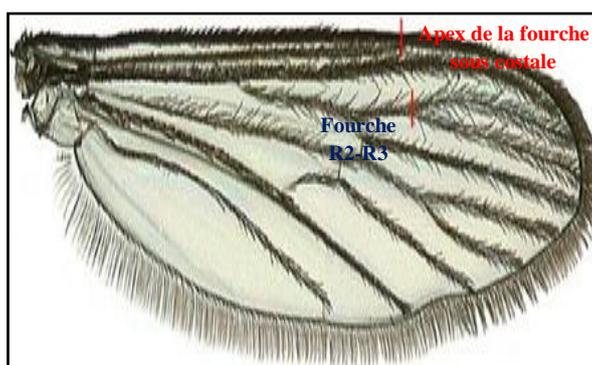


Figure 25. Aile de *Cx. hortensis* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.7. *Culex arbieeni* Salem, 1938

Cette espèce semble très liée aux massifs montagneux des régions arides (Sinaï, Yémen, Iran, Atlas marocain, Hoggar, Soudan) ; elle semble absente de Tunisie et de Libye. Les larves se développent dans la plupart des gîtes d'eau douce disponibles dans ces régions arides: trou de rocher, petit suintement sur fond sableux, bas-fond marécageux, bords d'oued. Dans le Hoggar, *Cx. arbieeni* a été observé de 1400 à 2100 m d'altitude. La biologie des adultes est pratiquement inconnue. Leur rôle dans la transmission de parasitoses ne peut être que très réduit. Le nombre de branches de la soie 1a-S est de 2 à 5, elle se situe au delà de la dent distale du peigne du siphon (Fig. 26) (Brunhes *et al.*, 1999).

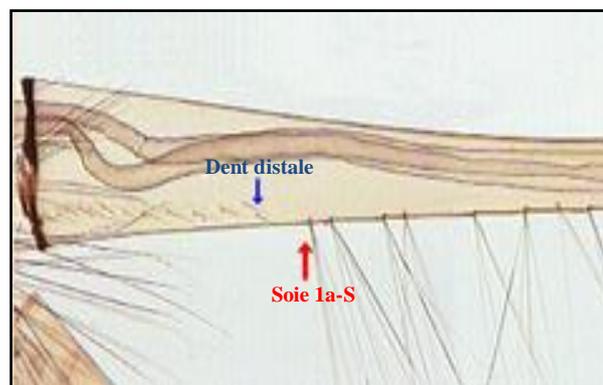


Figure 26. Position de la soie 1a-S de *Cx. arbieeni* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.8. *Aedes punctor* Kirby, 1837

En Afrique méditerranéenne, cette espèce n'a été signalée qu'en Algérie et avec de sérieuses réserves car récoltée dans une rizière. *Ae. punctor* affectionne les eaux froides et peut être qualifiée de stenotherme froid. Elle semble être univoltine. Les œufs sont pondus au-dessus du niveau de l'eau ou sur les feuilles encore humides de gîtes asséchés. Ils résistent à la dessiccation et au gel. Dans les régions froides, *Ae. punctor* est un des premiers moustiques à nymphoser après la fonte des glaces. L'espèce était essentiellement rurale et se déplaçant peu. Elle a été naturellement infectée par la tularémie et le virus Inkoo, elle est vectrice en laboratoire des virus Tahyna et West Nile (Brunhes *et al.*, 1999 ; Schaffner *et al.*, 2001). Elle diffère de toutes les autres larves d'*Ochlerotatus* par son segment X entièrement ceinturé par la selle (Fig. 27) (Brunhes *et al.*, 1999).

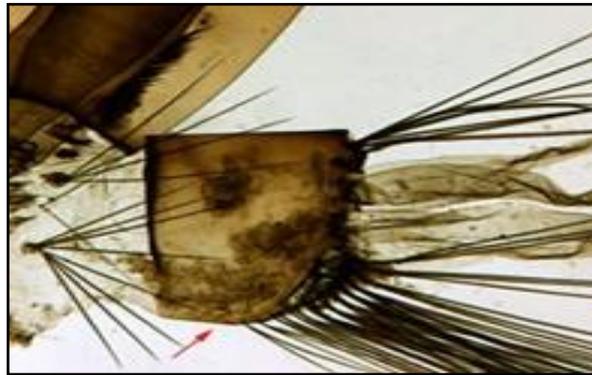


Figure 27. Selle complète d'*Ae. punctor* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.9. *Aedes quasirusticus* Torres Canamares, 1951

Ae. quasirusticus est présent au Maroc où il a été signalé sous le nom d'*Aedes rusticus*. Il est univoltin et printanier et l'œuf est le stade hivernant. Les larves se développent dans les gîtes temporaires qui, mis en eau au début de l'hiver ou au printemps, s'assèchent dès le début de l'été. La majorité des femelles effectue 2 ou 3 cycles gonotrophiques. Les femelles piquent de préférence les bovins mais aussi, à défaut, l'homme. *Ae. quasirusticus* a été trouvé infecté par un vers nématode : *Setaria labiatopapillosa* (Brunhes *et al.*, 1999 ; Schaffner *et al.*, 2001). La larve de cette espèce se reconnaît par la forme des dents du peigne du segment VIII qui présentent une dent médiane plus longue (Fig. 28). Chez les adultes, l'ornementation du tergite IV se caractérise par des bandes claires basales (Fig. 29) et les écailles du scutum sont jaunes et noires (Fig. 30) (Brunhes *et al.*, 1999).



Figure 28. Dents (flèche) du 8^{ème} segment abdominal d'*Ae. quasirusticus* (Brunhes *et al.*, 1999).



Figure 29. Abdomen d'*Ae. quasirusticus* (Gr x 25).



Figure 30. Thorax d'*Ae. quasirusticus* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.10. *Aedes pulcritarsis* Rondani, 1872

En Afrique méditerranéenne, *Ae. pulcritarsis* a été signalée dans les trois pays du Maghreb (Brunhes *et al.*, 1999). L'espèce est univoltine et eurygame. Les œufs sont pondus dans les creux d'arbres contenant de l'eau, ils sont résistants au gel et à la dessiccation. Les larves éclosent lorsque le gîte est remis en eau par les pluies. Elles sont strictement dendrolimniques, elles se développent dans des creux d'arbres d'espèces variées mais au premier rang desquelles se trouve le chêne. Les femelles, essentiellement exophages, piquent pendant tout le nyctémère. Le repas de sang est pris sur mammifère (dont l'homme) ou sur oiseaux. *Ae. pulcritarsis* n'a jamais été impliqué dans la transmission de parasitoses humaines ou animales (Brunhes *et al.*, 1999 ; Schaffner *et al.*, 2001). La larve de cette espèce se caractérise par l'insertion des soies 11-M et 11-T près d'une petite dent (Fig. 31) (Brunhes *et al.*, 1999).

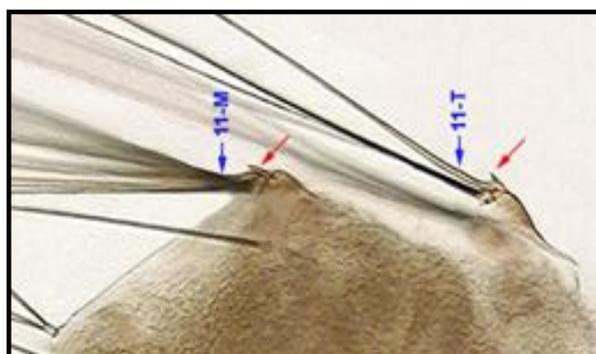


Figure 31. Petite dent (flèches) au point d'insertion des soies 11-M et 11-T de *Ae. pulcritarsis* (Brunhes *et al.*, 1999).

3.1.2.11. *Culiseta longiareolata* Macquart, 1828

Cs. longiareolata est multivoltine. Les femelles sont sténogames et autogènes. Les gîtes larvaires sont de types très variés (bassins, abreuvoirs, puits abandonnés, trous de rocher, mares, rizières, canaux.) mais l'eau y est toujours stagnante et généralement riche en matières organiques. Les femelles piquent surtout les oiseaux, très rarement l'humain ; elles pénètrent occasionnellement dans les maisons. L'espèce est considérée comme un vecteur de Plasmodiums d'oiseau ; elle peut transmettre expérimentalement le virus West Nile (Schaffner *et al.*, 2001). La larve est caractérisée par une antenne courte (Fig. 32) et une touffe siphonale basale (Fig. 33). Chez l'adulte, on remarque la présence de trois tâches d'écailles sombres sur



l'aile (Fig. 34), de trois bandes blanches longitudinales sur le thorax (Fig. 35) et le 1/3 distal du fémur est orné avec des alignements de tâches blanches (Fig. 36) (Brunhes *et al.*, 1999).



Figure 32. Antenne de *Cs. longiareolata* (Gr x 100).



Figure 33. Touffe basale siphonale (flèche) de *Cs. longiareolata* (Gr x 110).



Figure 34. Taches d'écaillés sombres (flèches) sur l'aile de *Cs. longiareolata* (Gr x 50).



Figure 35. Trois bandes blanches longitudinales (flèches) de *Cs. longiareolata* (Gr x 60).



Figure 36. Fémur de la patte III de *Cs. longiareolata* (Gr x 60).



3.1.2.12. *Culiseta fumipennis* Stephens, 1825

Les œufs de *Cs. fumipennis*, résistants à la dessiccation, sont déposés isolément sur les bords herbeux des dépressions permanentes ou sur le sol des dépressions asséchées. Elles ne piquent ni l'homme ni les animaux domestiques ; elles pourraient se nourrir sur les oiseaux ou les reptiles. Cette espèce n'a jamais été impliquée dans la transmission de parasitoses humaines ou animales (Schaffner *et al.*, 2001). *Cs. fumipennis* présente une ornementation qui est proche de celle de *Cs. morsitans* et de *Cs. litorea*. Il se distingue de ces 2 espèces par ses pattes plus claires et plus particulièrement par son tarsomère 4 qui est blanc à la base (Fig. 37). Par ailleurs, le lobe basal du génitalia du mâle porte de 4 à 5 fortes soies dont aucune n'atteint l'apex du coxite (Fig. 38) (Brunhes *et al.*, 1999).

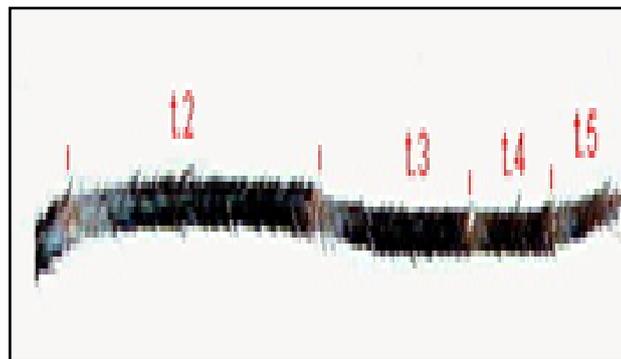


Figure 37. Patte de *Cs. fumipennis* (Brunhes *et al.*, 1999).



Figure 38. Soies (flèches) du lobe basal du génitalia de *Cs. fumipennis* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.13. *Orthopodomyia pulcripalpis* Rondani, 1872

Les œufs sont pondus isolément sur les parois du gîte; ils sont déposés au-dessus du niveau de l'eau avant d'être recouverts d'un enduit gélatineux. Les larves peuvent s'enfouir dans la vase fluide du fond et ne remonter que rarement en surface. Le développement pré imaginal est remarquablement long, il peut durer jusqu'à un an. Cette espèce ne pique pas l'humain et est sans importance médicale ou vétérinaire (Schaffner *et al.*, 2001). Les imagos se reconnaissent aisément par un proboscis pourvu d'un anneau blanc (Fig. 39) et par l'annulation tarsale interarticulaire sur la 3^{ème} paire de patte uniquement (Fig. 40). Le gonocoxite du genitalia mâle est dépourvu de lobe apical (Fig. 41) (Brunhes *et al.*, 1999).



Figure 39. Proboscis (flèches) d'*Or. pulcripalpis* (Brunhes *et al.*, 1999).

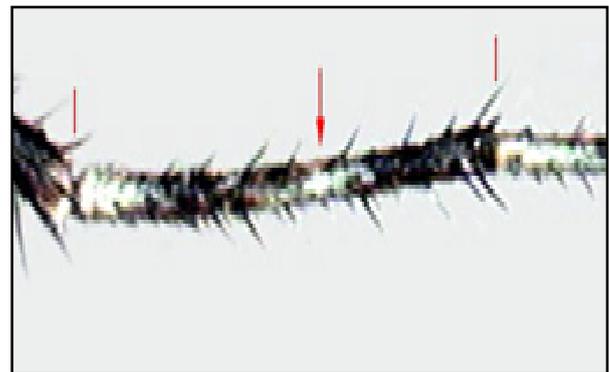


Figure 40. 3^{ème} patte annulée (flèches) d'*Or. pulcripalpis* (Brunhes *et al.*, 1999).



Figure 41. Gonocoxite du genitalia mâle d'*Or. pulcripalpis* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.14. *Anopheles algeriensis* Theobald, 1903

An. algeriensis hiverne essentiellement au stade larvaire, mais des femelles peuvent également survivre à la saison froide. Les imagos sont surtout présents au printemps et en automne. Les gîtes larvaires sont généralement des marécages et des ruisseaux lents encombrés de végétation ; ils sont le plus souvent ombragés. L'eau des gîtes est toujours fraîche, elle peut être légèrement saumâtre. Les imagos se tiennent dans les épaisses touffes de joncs. Ils pénètrent rarement dans les étables et les habitations. Les femelles piquent les humains et les animaux sauvages, en extérieur et à proximité des gîtes. Le rôle d'*An. algeriensis* dans la transmission de parasitoses est restreint ; il a été négligeable pour ce qui concerne le paludisme (Schaffner *et al.*, 2001). Nombre de branches de la soie 8-C est de 4 à 5 branches (Fig. 43). Distance entre les soies clypéales 2-C est inférieure à la distance entre 2-C et 3-C (Fig. 45) (Brunhes *et al.*, 1999).

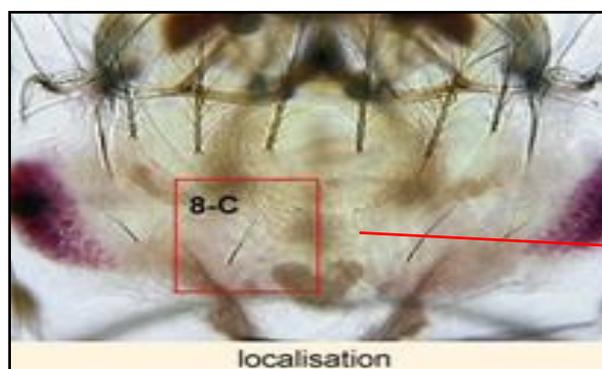


Figure 42. Localisation des soies siphonales 8-C (Brunhes *et al.*, 1999).



Figure 43. Branches de la soie 8-C d'*An. algeriensis* (Brunhes *et al.*, 1999).

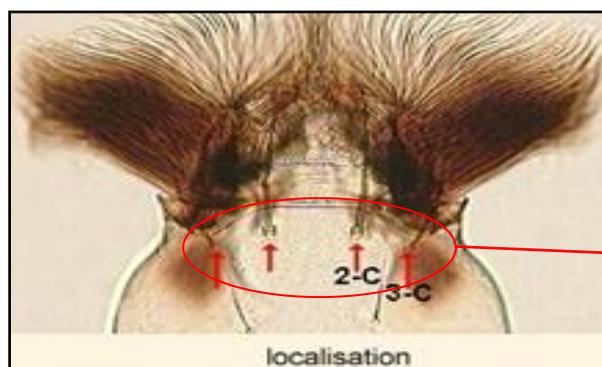


Figure 44. Localisation des soies clypéales 2-C et 3-C (Brunhes *et al.*, 1999).

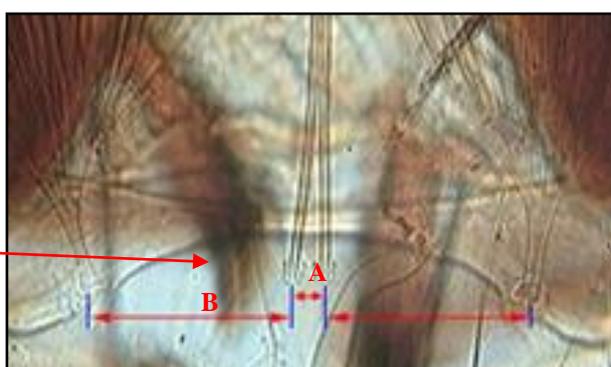


Figure 45. Distance entre les soies clypéales 2-C (A) est inférieure à la distance entre 2-C et 3-C (B) d'*An. algeriensis* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.2.15. *Anopheles labranchiae* Falleroni, 1926

An. labranchiae est multivoltin et eurygame. La diapause est incomplète ; les femelles semi-hivernantes se réfugient dans les abris obscurs (caves, grottes..) ; elles pondent dès les premiers beaux jours. Les œufs sont pourvus de flotteurs latéraux. Les gîtes larvaires sont des plus variés (marais, mares, marges de rivières, canaux, rizières, bassins, puits,...) ; l'eau peut être douce ou saumâtre, mais toujours exposée au soleil. Les femelles sont très anthropophiles. On les rencontre dans les habitations et dans les abris pour animaux. Leur distance de vol peut être de 2 à 5 km. L'espèce a joué un rôle vectoriel important dans la transmission du paludisme en région méditerranéenne (Schaffner *et al.*, 2001). La larve de cette espèce est très originale par la présence simultanée de 3 plaques accessoires sur le segment V abdominal (Fig. 46) et de soies 1-A formées de plus de 5 branches (Fig. 47) (Brunhes *et al.*, 1999).

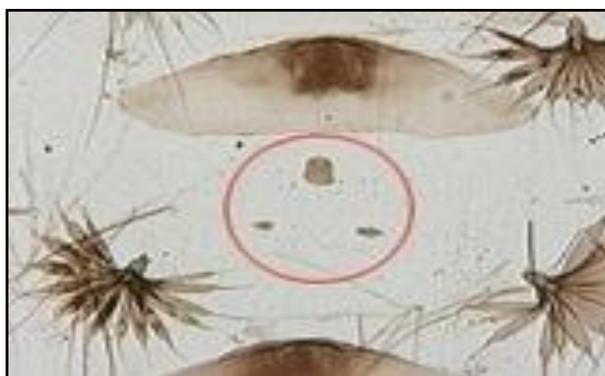


Figure 46. Trois plaques du segment V abdominal d'*An. labranchiae* (Brunhes *et al.*, 1999).

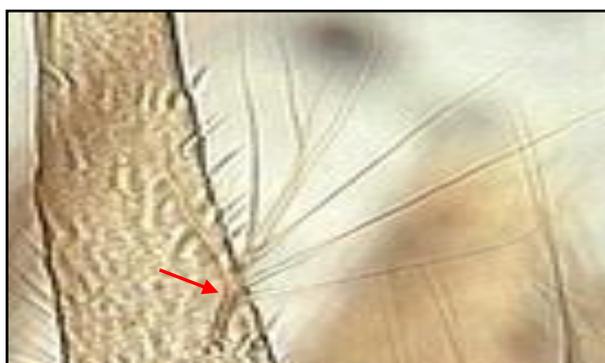


Figure 47. Soies antennaires (flèche) d'*An. labranchiae* (Brunhes *et al.*, 1999).



3.1.3. Inventaire des moustiques dans la région de Souk-Ahras

Durant 12 mois, on a effectué 192 prélèvements faunistiques, soit un total de 5016 individus dans quatre sites dans la région de Souk-Ahras : Souk-Ahras, Hanancha, Sedrata et Ain-Soltane. 16 espèces des culicidés ont été recensées réparties en cinq genres : *Culex*, *Aedes*, *Culiseta*, *Anopheles* et *Orthopodomyia*. Les résultats des prélèvements sont mentionnés dans le tableau 9.

Tableau 9 : Espèces récoltées dans les quatre sites dans la région de Souk-Ahras.

Espèces	Souk-Ahras	Hanancha	Sedrata	Ain Soltane
<i>Cx. pipiens</i>	975	803	2067	16
<i>Cx. theileri</i>	247	70	410	122
<i>Cx. hortensis</i>	34	0	81	0
<i>Cs. longiareolata</i>	47	41	19	0
<i>An. algeriensis</i>	17	1	1	0
<i>Cx. modestus</i>	3	0	13	0
<i>Ae. quasirusticus</i>	16	0	0	0
<i>Ae. pulcritarsis</i>	12	0	0	0
<i>Culiseta sp1</i>	0	0	6	0
<i>Cs. fumipennis</i>	1	0	3	0
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	1	0	0	2
<i>Ae. punctor</i>	0	0	3	0
<i>Or. pulcripalpis</i>	1	0	1	0
<i>Cx. Simpsoni</i>	0	0	1	0
<i>Cx. arbieeni</i>	0	0	1	0
<i>An. labranchiae</i>	0	0	1	0
Total	1354	915	2607	140



D'une façon générale, *Culex* est le genre dominant dans tous les sites. L'examen du tableau 10 montre que 13 espèces ont été rencontrées dans le site de Sedrata constituant 51,97 % de la faune totale. Le genre *Culex* est le genre le plus représenté (98,69 %, n = 2573), suivi par le genre *Culiseta* (1,07 %, n = 28), puis le genre *Aedes* (0,11 %, n = 3), et le genre *Anopheles* (0,07 %, n = 2) et enfin le genre *Orthopodomyia* (0,03 %, n = 1).

Pour le site Souk-Ahras, 11 espèces ont été enregistrées, constituant 26,99 % de la faune totale, représentées par tous les genres rencontrés mais avec dominance du genre *Culex* (93,05 %, n = 1260), suivi par les genres *Culiseta*, *Aedes*, *Anopheles* et *Orthopodomyia* (3,54 %, 2,06 %, 1,25 % et 0,07 % respectivement).

Le site de Hanancha a pris la troisième position avec 18,24 % de la faune totale. Ce pourcentage est représenté, seulement, par trois genres, *Culex* (98,69 %), *Culiseta* (0,1 %) et *Anopheles* (0,1 %). En ce qui concerne le site Ain-Soltane, le plus faible pourcentage d'espèces, soit 3 appartenant uniquement au genre *Culex*, a été récolté constituant 2,79 % de la faune totale.

Tableau 10 : Nombre et pourcentage des genres dans les différents sites (Souk-Ahras, Hanancha, Sedrata et Ain Soltane).

Genre	Souk-Ahras		Hanancha		Sedrata		Ain Soltane	
	Ni	%	Ni	%	Ni	%	Ni	%
<i>Culex</i>	1260	93,05	873	95,40	2573	98,69	140	100
<i>Culiseta</i>	48	3,54	41	4,48	28	1,07	0	0
<i>Anopheles</i>	17	1,25	1	0,10	2	0,07	0	0
<i>Aedes</i>	28	2,06	0	0	3	0,11	0	0
<i>Orthopodomyia</i>	1	0,07	0	0	1	0,03	0	0
Total	1354		915		2607		140	
Pourcentage total	26,99		18,24		51,97		2,79	



3.1.4. Analyse de la faune culicidienne par des indices écologiques

3.1.4.1. Indices écologiques de composition

3.1.4.1.1. Richesse spécifique

Les valeurs de la richesse spécifique dans les quatre sites étudiés sont représentées dans le tableau 11 et la figure 48. Selon les valeurs de la richesse spécifique, le site Sedrata prend la première place, avec une richesse maximale des espèces culicidiennes de 13, suivi par le site Souk-Ahras avec 11 espèces, ensuite le site Hanancha avec 4 espèces et enfin le site Ain-Soltane avec 3 espèces seulement.

Tableau 11 : Distribution de la richesse spécifique dans les sites d'étude (Souk-Ahras, Hanancha, Sedrata et Ain Soltane).

Site	Souk-Ahras	Hanancha	Sedrata	Ain Soltane
Richesse spécifique S	11	4	13	3
Richesse spécifique globale	16			

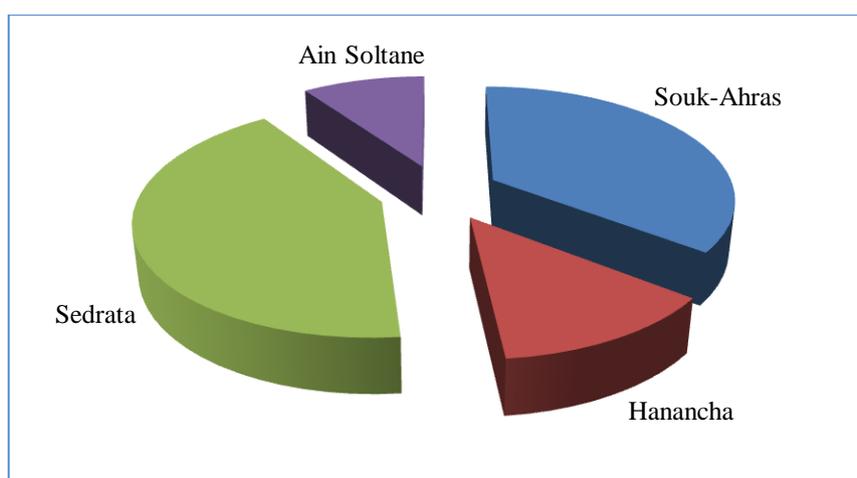


Figure 48. Distribution de la richesse spécifique dans les sites d'étude.

3.1.4.1.2. Abondance relative

Les valeurs de l'abondance relative des différentes espèces sont mentionnées dans le tableau 13 et la figure 49. Les résultats montrent des valeurs des abondances relatives qui varient d'une espèce à l'autre selon les effectifs dans les quatre sites d'étude. *Cx. pipiens* a été l'espèce dominante avec un taux de 76,97 %, puis en deuxième position vient *Cx. theileri*



avec 16,92 %, suivie par *Cx. hortensis* avec 2,29 % et *Cs. longiareolata* avec 2,13 %, puis *Cx. modestus* et *Ae. quasirusticus* avec une même valeur 0,32 %. Le reste d'espèces sont d'une moindre importance, avec des valeurs d'abondance relative moins de 0,23 %.

Tableau 12 : Abondance relative de chaque espèce récoltée dans les quatre sites étudiés.

Espèce	Ni	C
<i>Cx. pipiens</i>	3861	76,97
<i>Cx. theileri</i>	849	16,92
<i>Cx. hortensis</i>	115	2,30
<i>Cs. longiareolata</i>	107	2,13
<i>An. algeriensis</i>	19	0,38
<i>Cx. modestus</i>	16	0,32
<i>Ae. quasirusticus</i>	16	0,32
<i>Ae. pulcritarsis</i>	12	0,23
<i>Culiseta sp1</i>	6	0,12
<i>Cs. fumipennis</i>	4	0,08
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	3	0,06
<i>Ae. punctor</i>	3	0,05
<i>Or. pulcripalpis</i>	2	0,04
<i>Cx. Simpsoni</i>	1	0,02
<i>Cx. arbieeni</i>	1	0,02
<i>An. labranchiae</i>	1	0,02
Total	5016	100

Ni : Nombre d'individu de l'espèce considérée

C : Abondance relative

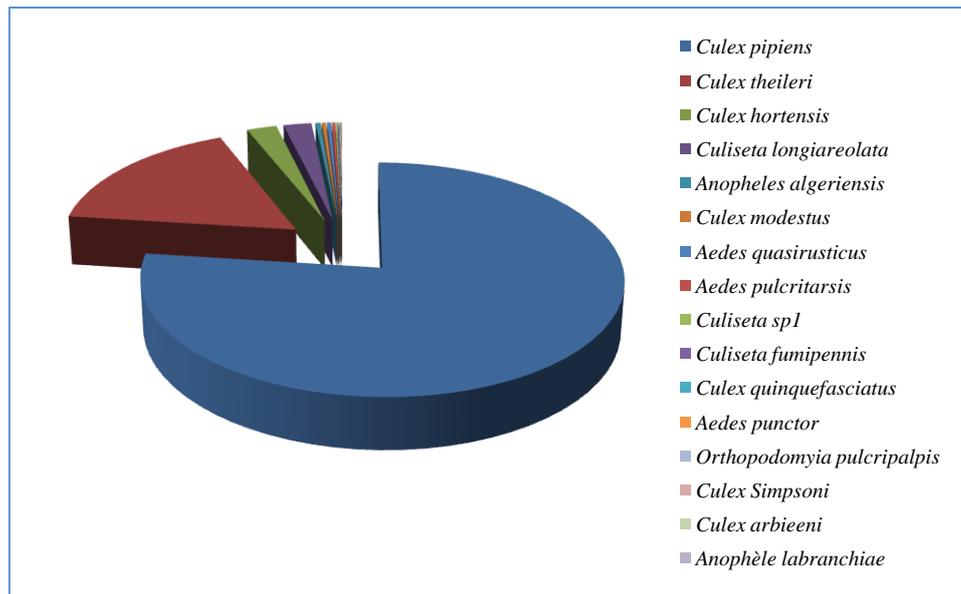


Figure 49. Abondance relative de chaque espèce récoltée dans les quatre sites étudiés de la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).



3.1.4.1.3. Fréquence d'occurrence

Les valeurs de la fréquence d'occurrence des différentes espèces sont mentionnées dans le tableau 13 et la figure 50. L'analyse des résultats d'échantillonnage dans les quatre sites d'étude montre qu'aucune espèce, parmi les 16 espèces récoltées, n'est constante.

Tableau 13 : Fréquence d'occurrence de chaque espèce récoltée dans les quatre sites étudiés : Souk-Ahras, Hanancha, Sedrata et Ain Soltane (décembre 2011-novembre 2012).

Espèces	Souk-Ahras		Hanancha		Sedrata		Ain Soltane	
	n	F	n	F	n	F	n	F
<i>Cx. pipiens</i>	17	35,41	6	12,50	17	35,41	2	4,16
<i>Cx. theileri</i>	9	18,75	4	8,33	14	29,16	7	14,58
<i>Cx. hortensis</i>	5	10,41	0	0	3	6,25	0	0
<i>Cs. longiareolata</i>	3	6,25	3	6,25	1	2,08	0	0
<i>An. algeriensis</i>	4	8,33	1	2,08	1	2,08	0	0
<i>Cx. modestus</i>	2	4,16	0	0	2	4,16	0	0
<i>Ae. quasirusticus</i>	1	2,08	0	0	0	0	0	0
<i>Ae. pulcritarsis</i>	1	2,08	0	0	0	0	0	0
<i>Culiseta sp1</i>	0	0	0	0	2	4,16	0	0
<i>Cs. fumipennis</i>	1	2,08	0	0	1	2,08	0	0
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	1	2,08	0	0	0	0	1	2,08
<i>Ae. punctor</i>	0	0	0	0	2	4,16	0	0
<i>Or. pulcripalpis</i>	1	2,08	0	0	1	2,08	0	0
<i>Cx. Simpsoni</i>	0	0	0	0	1	2,08	0	0
<i>Cx. arbieeni</i>	0	0	0	0	1	2,08	0	0
<i>An. labranchiae</i>	0	0	0	0	1	2,08	0	0
Total	48		48		48		48	

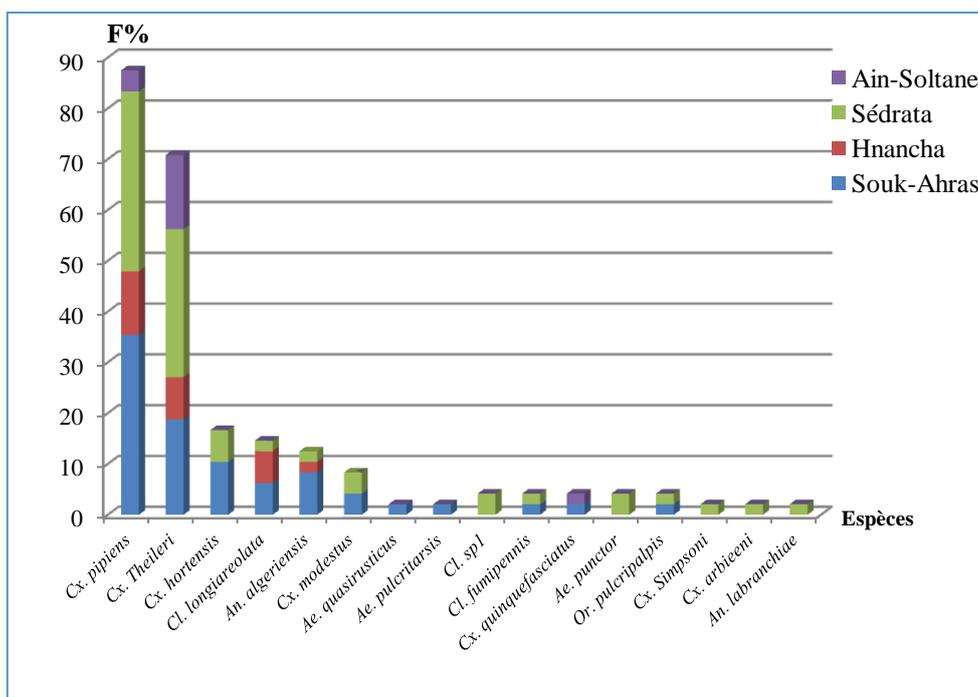


Figure 50. Fréquence d’occurrence de chaque espèce récoltée dans les quatre sites étudiés (décembre 2011-novembre 2012).

Dans le site Souk-Ahras (Fig. 51), une espèce est qualifiée d’accessoire, il s’agit de *Cx. pipiens* avec fréquence de 35,41 %.quant au reste des espèces, elles sont accidentelles. Elles n’ont été que très faiblement représentées avec des fréquences inférieures à 10,41 %.

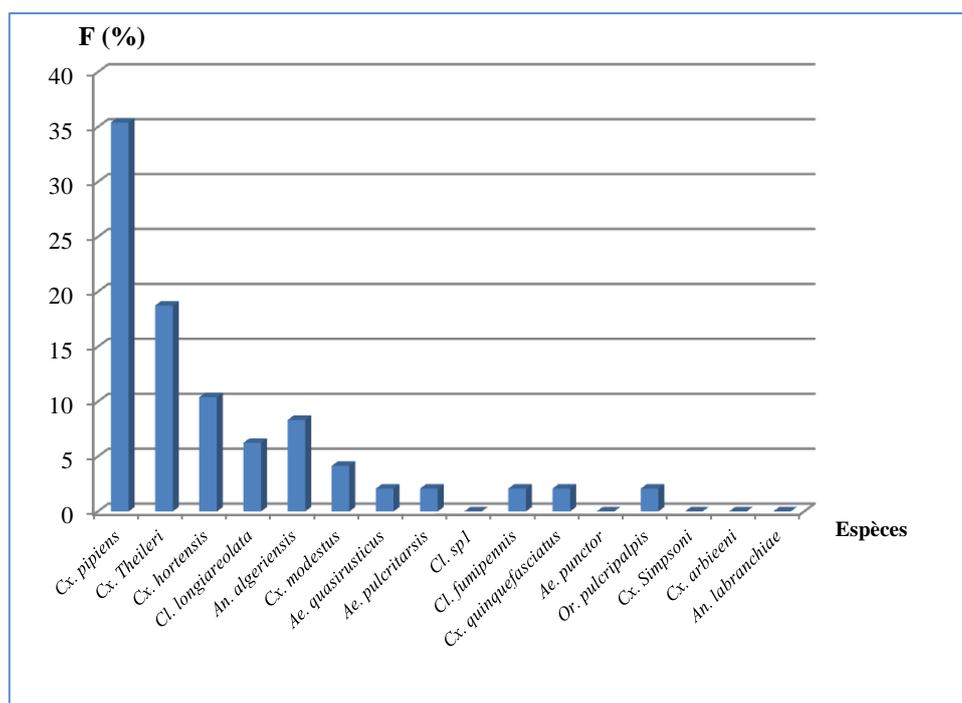


Figure 51. Fréquence d’occurrence de chaque espèce récoltée dans Souk-Ahras.



Dans le site Sedrata (Fig. 52), on remarque deux espèces avec fréquences les plus élevées, 35,41 % pour *Cx. pipiens* et 29,16 % pour *Cx. theileri*, qui sont qualifiées accidentelles. Les autres espèces sont moins importantes, elles se rencontrent avec des fréquences moins de 6,25 %.

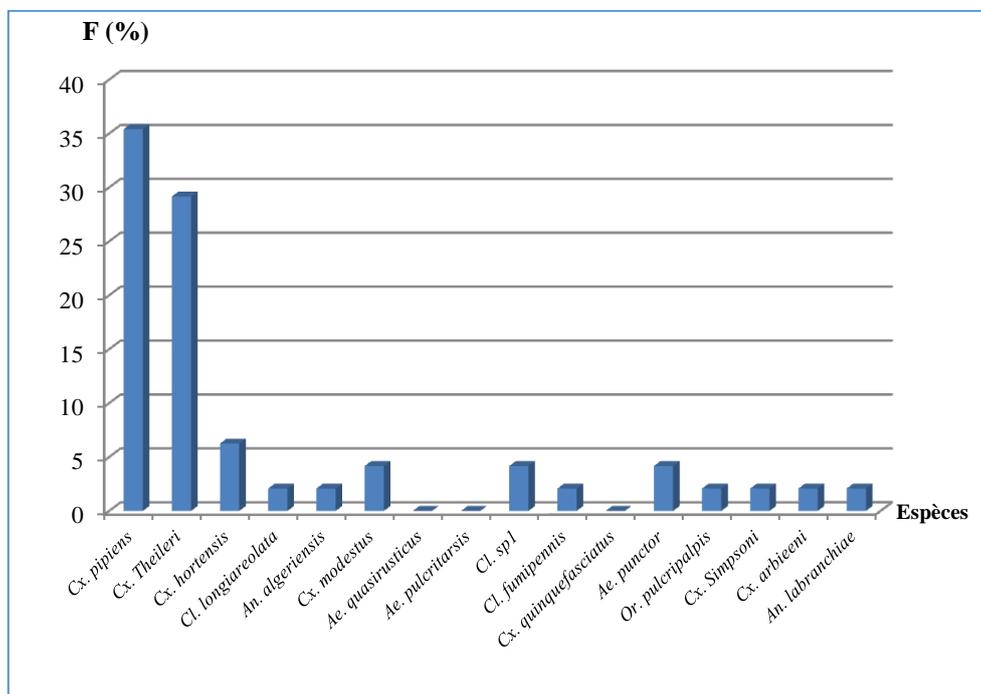


Figure 52. Fréquence d'occurrence de chaque espèce récoltée dans Sedrata.

En revanche, dans le site Hanancha, les quatre espèces inventoriées : *Cx. pipiens*, *Cx. theileri*, *Cs. longiareolata* et *An. algeriensis* sont qualifiées accidentelles avec des fréquences variant entre 12,5 % et 2,08 % (Fig. 53).

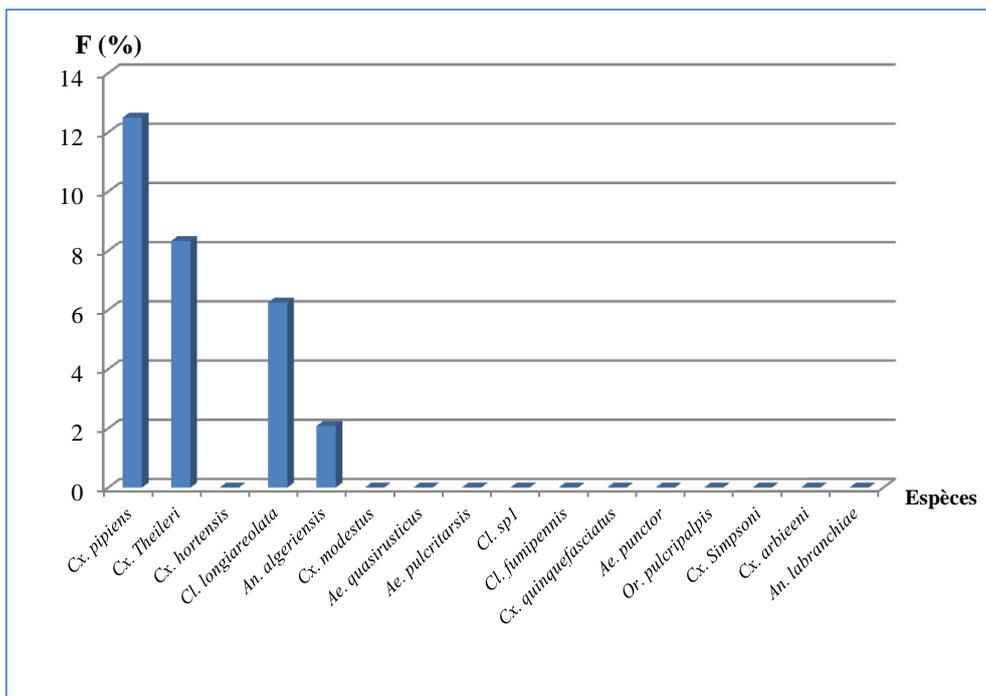


Figure 53. Fréquence d'occurrence de chaque espèce récoltée dans Hanancha.

Dans le dernier site Ain-Soltane, on a inventorié trois espèces accidentelles ; *Cx. theileri*, *Cx. pipiens* et *Cx. quinquefasciatus*, avec des fréquences de 14,58 %, 4,16 % et 2,08 % respectivement (Fig. 54).

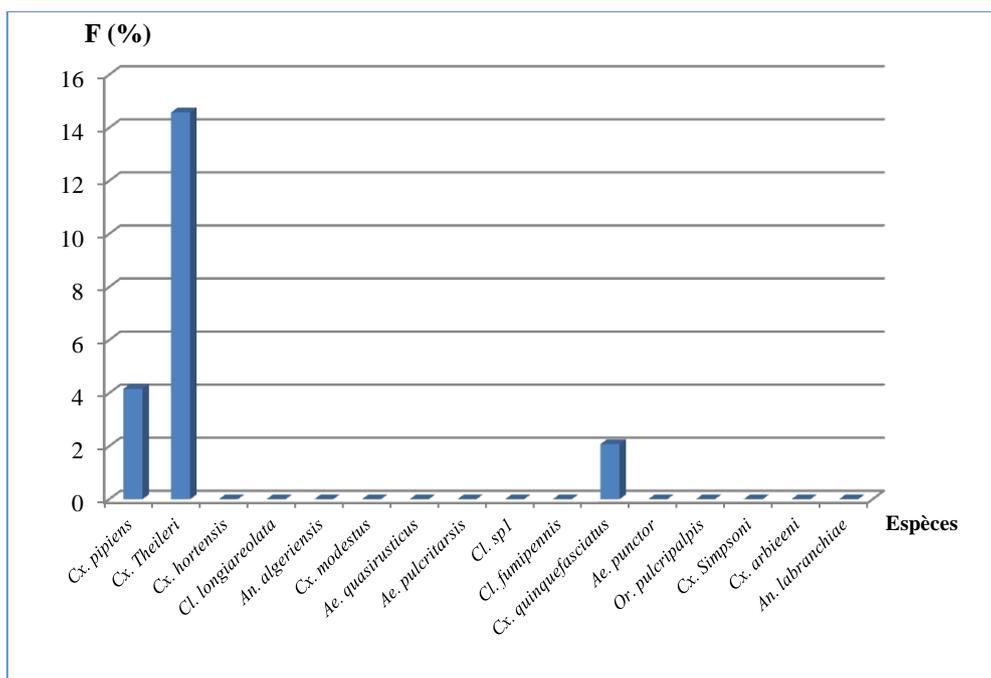


Figure 54. Fréquence d'occurrence de chaque espèce récoltée dans Ain-Soltane.



3.1.4.2. Indices écologiques de structure

L'indice de Shannon-Weaver est le premier indice calculé. Les étapes de calcul sont mentionnées dans le tableau 14. La valeur de l'indice de Shannon-Weaver est de 1,11 bits, elle est inférieure de la diversité maximale qui égale à 4 bits ce qui montre que la population culicidienne dans les quatre sites étudiés n'est pas diversifiée. La valeur de l'équitabilité de 27,9 % (tableau 13) indique que la population est très peu équilibrée. Pour obtenir une vue encore plus précise de la diversité observée nous avons calculé l'indice de Simpson et de Hill. Les résultats obtenus montrent que les valeurs de l'indice de Simpson (0,62) et l'indice de Hill (0,52), ce qui explique que la diversité culicidienne est faible.

Tableau 14 : Indice de diversité de Shannon-Weaver et d'équitabilité des espèces culicidiennes récoltées dans les sites étudiés.

Espèce	Ni	Pi	Log ₂ Pi	Pi Log ₂ Pi
<i>Cx. pipiens</i>	3861	0,769	-0,377	-0,290
<i>Cx. theileri</i>	849	0,169	-2,562	-0,433
<i>Cx. hortensis</i>	115	0,023	-5,446	-0,124
<i>Cs. longiareolata</i>	107	0,021	-5,550	-0,118
<i>An. algeriensis</i>	19	0,003	-8,044	-0,030
<i>Cx. modestus</i>	16	0,003	-8,292	-0,026
<i>Ae. quasirusticus</i>	16	0,003	-8,292	-0,026
<i>Ae. pulcritarsis</i>	12	0,002	-8,707	-0,020
<i>Culiseta sp1</i>	6	0,001	-9,707	-0,011
<i>Cs. fumipennis</i>	4	0,0008	-10,292	-0,008
<i>Cx. quinquefasciatus</i>	3	0,0006	-10,707	-0,006
<i>Ae. punctor</i>	3	0,0006	-10,707	-0,006
<i>Or. pulcripalpis</i>	2	0,0004	-11,292	-0,004
<i>Cx. Simpsoni</i>	1	0,0002	-12,292	-0,002
<i>Cx. arbieeni</i>	1	0,0002	-12,29	-0,002
<i>An. labranchiae</i>	1	0,0002	-12,29	-0,002
Total	5016	1	-136,851	-1,116
H'				1,116
H' max				4
E				0,279

Ni : Effectif de chaque espèce.

H' : Indice de Shannon-Weaver.

Pi : Abondance relative de l'espèce prise en considération.

E : Indice d'équitabilité.

H' max : Diversité maximale.



3.1.5. Variation saisonnière de la densité larvaire

3.1.5.1. Effets du climat

3.1.5.1.1. Effets des précipitations

La variation numérique des récoltes des culicidés en fonctions des précipitations dans la région de Souk-Ahras durant une année d'étude entre décembre 2011 et novembre 2012 est présentée dans la figure 55. La variation saisonnière de la densité culicidienne est corrélée négativement avec la pluviométrie (coefficient de corrélation $R = -0,608$; $p \leq 0,05$). Les densités larvaires les plus basses s'observent durant les quatre premiers mois les plus pluvieux, et en juillet qui correspond au mois le plus sec (3 mm). L'abondance larvaire présente deux pics dans l'année ; un premier quelques semaines après la grande saison pluvieuse en mai-juin ; un deuxième au début de la petite saison pluvieuse en septembre. Le deuxième pic de l'année est plus élevé que le premier (Fig. 55).

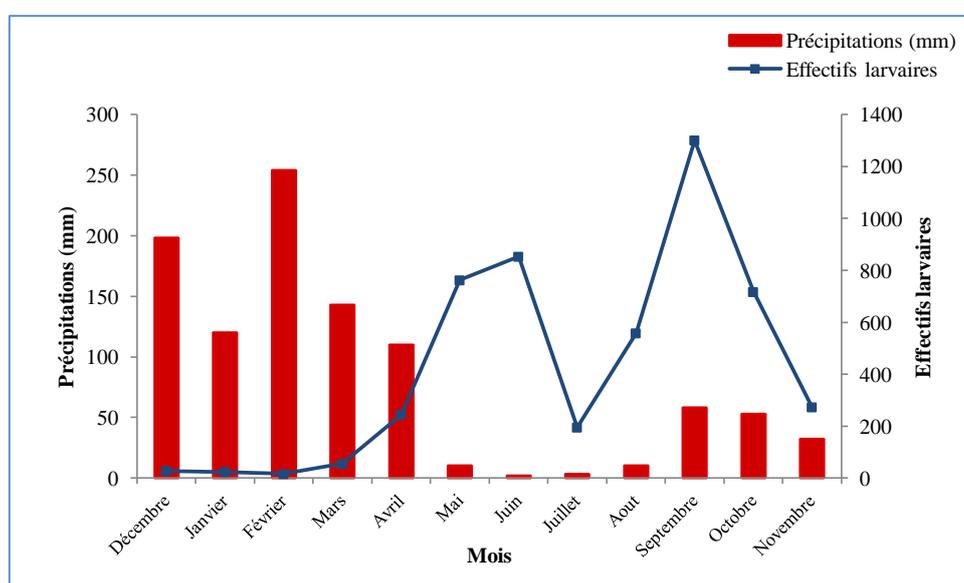


Figure 55. Variation numérique des récoltes des larves de culicidés en fonction des précipitations mensuelles moyennes (mm) dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).



3.1.5.1.2. Effets de la température

La figure 56 montre la variation numérique des échantillonnages des culicidés en fonction de la température dans la région de Souk-Ahras durant une année (décembre 2011-novembre 2012). La variation saisonnière de la densité culicidienne présente une corrélation positive avec la température (coefficient de corrélation $R = 0,639$; $p \leq 0,05$). Les densités larvaires les plus basses s'observent durant les quatre premiers mois les plus froids, puis elles s'élèvent avec l'augmentation de la température pour marquer un petit pic au mois de juin. Ensuite, le nombre des larves récoltées diminue avec l'élevation continue de la température en juillet. Un deuxième pic plus important est marqué en septembre.

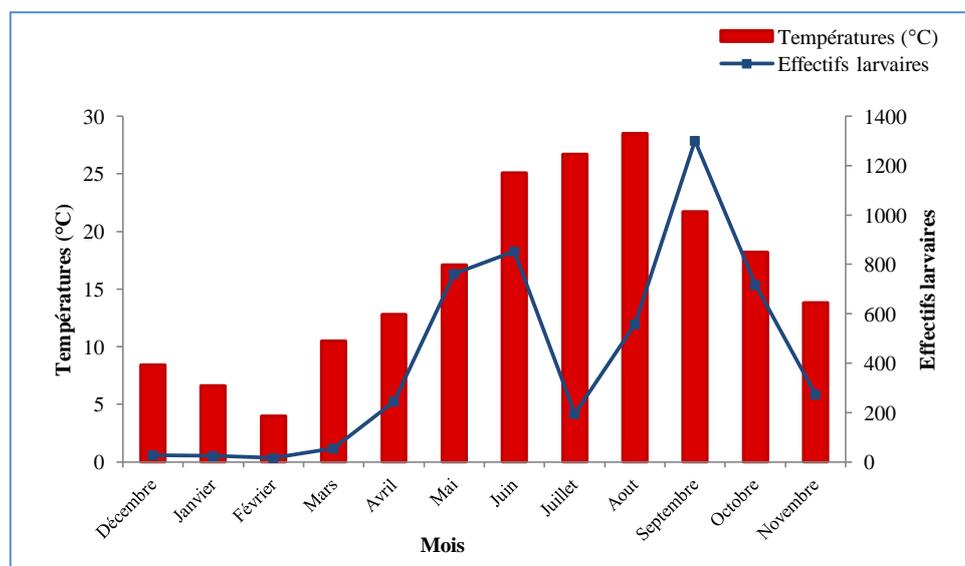


Figure 56. Variation numérique des récoltes des larves de culicidés en fonction des températures mensuelles moyennes (mm) dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).



3.1.5.1.3. Effets d'humidité

La variation numérique des récoltes des culicidés en fonction d'humidité relative dans la région de Souk-Ahras durant une année (décembre 2011-novembre 2012) est présentée dans la figure 57. Il n'existe aucune corrélation ($p > 0,05$) entre la variation de la productivité culicidienne et l'humidité ce qui ressorte que ce paramètre météorologique n'influence pas la distribution des culicidés. Cependant, on a constaté qu'il existe de très forte corrélation négative entre l'humidité et la température ($R = -0,954$; $p \leq 0,05$) et positive entre l'humidité et les précipitations ($R = 0,748$; $p \leq 0,05$).

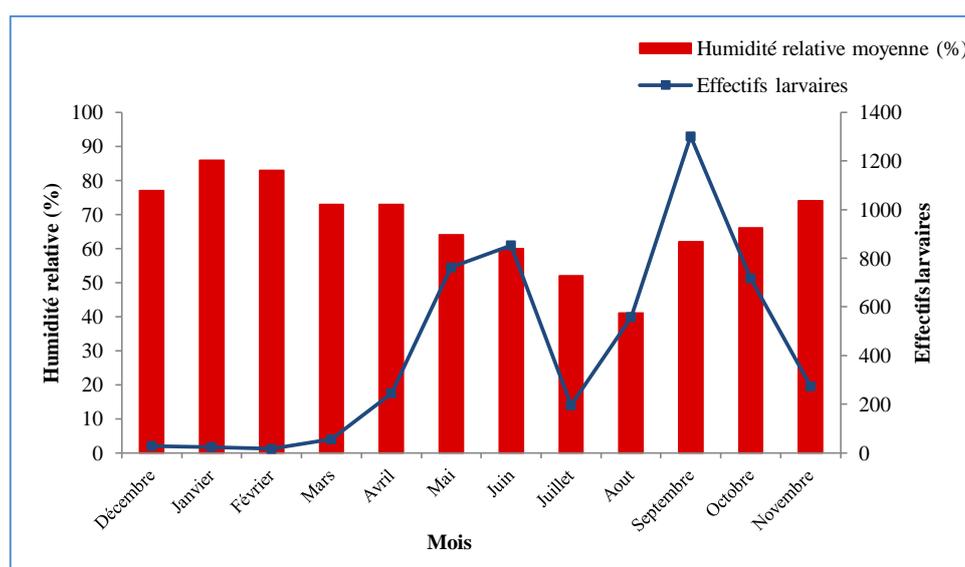


Figure 57. Variation numérique des récoltes des larves de culicidés en fonction d'humidité relative mensuelle moyenne (%) dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).



3.1.5.1.4. Effets saisonniers

La variabilité des effectifs larvaires des culicidés récoltés durant la période de décembre 2011 et novembre 2012 en fonctions des saisons est présentée dans la figure 58. D'après une comparaison établie par le test de Kruskal-Wallis, Il existe une dépendance entre les saisons et les effectifs larvaires rencontrés dans les différents sites d'études ($\chi^2 = 945,75$; ddl = 9 ; P = 0), ce qui ressorte que les saisons influencent la répartition des larves des culicidés (Fig. 59). On remarque que les densités larvaires les plus basses sont rencontrées en hiver, puis elles augmentent significativement durant les autres saisons. On note que les deux périodes, estivale et automnale, sont caractérisées par les effectifs les plus importants, 1606 et 2291 individus, respectivement.

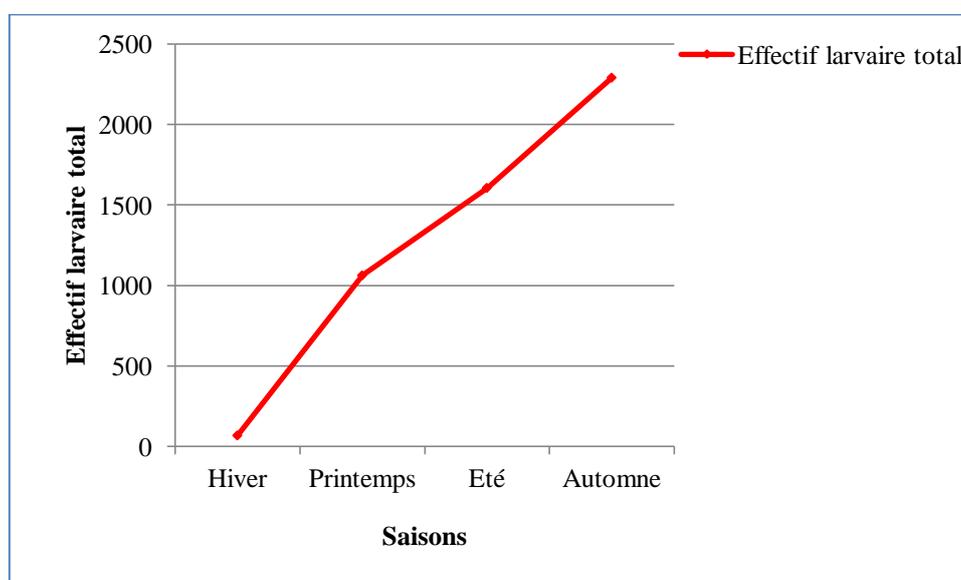


Figure 58. Variation saisonnière des effectifs larvaires des culicidés dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).

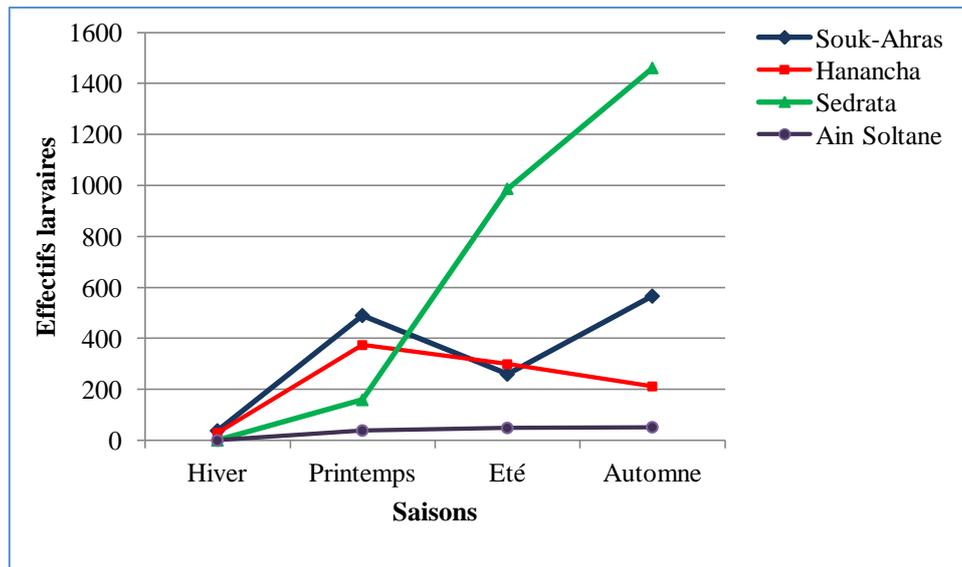


Figure 59. Variation saisonnière des effectifs larvaires dans les sites d'étude (décembre 2011- novembre 2012).



3.1.5.2. Effets des caractéristiques physico-chimiques de l'eau

3.1.5.2.1. Effets du taux de l'oxygène dissous

Les valeurs moyennes du taux de l'oxygène dissous en fonction des saisons sont mentionnées dans la figure 60. On remarque qu'il y a une corrélation négative entre les effectifs larvaires et les taux de l'oxygène dissous de l'eau des gîtes prospectés. Au sein de la même saison, il existe des fluctuations significatives entre les différents sites d'étude (concernant l'hiver, le printemps et l'été : $p \leq 0,001$; pour l'automne : $p = 0,016$). Malgré les faibles teneurs en oxygène dans l'eau des gîtes, on observe une densité larvaire importante, cela indique que les larves ne semblent pas être influencées par ce paramètre.

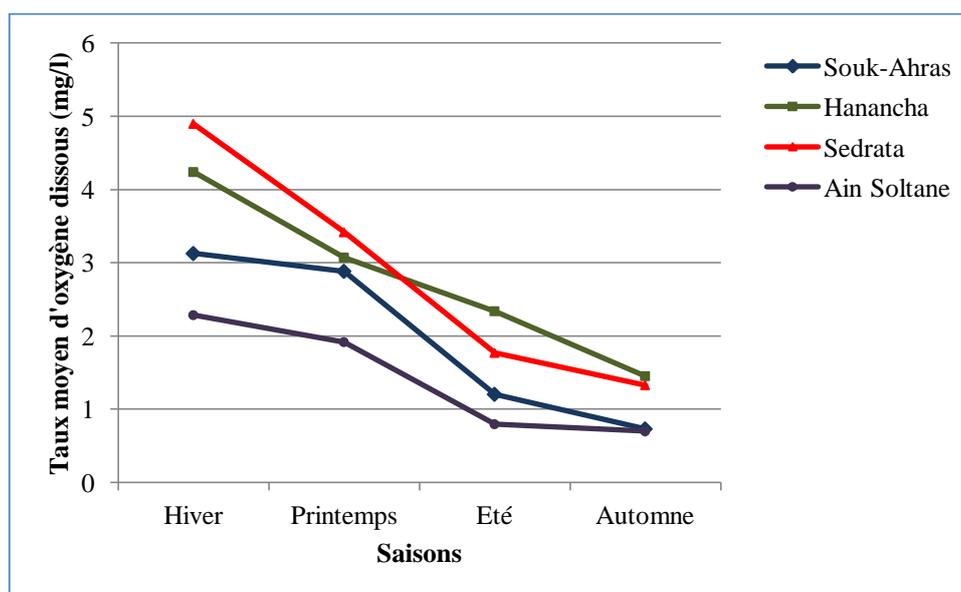


Figure 60. Variation saisonnière des valeurs moyennes de l'oxygène dissous (mg/l) dans les sites d'étude (décembre 2011-novembre 2012).



3.1.5.2.2. Effets du pH

Les variations saisonnières des valeurs moyennes du pH de l'eau des gîtes prospectés durant une année (décembre 2011-novembre 2012) sont présentées dans la figure 61. Les résultats dévoilent que le pH de l'eau des gîtes est alcalin. Le pH maximum a été enregistré en hiver, à cause des précipitations intenses ce qui dilue l'eau des gîtes. Durant les deux saisons, printanière et estivale, le pH de l'eau des gîtes des sites d'étude ne présente pas d'alternances significatives ($p = 0,115$ et $p = 0,936$ respectivement). En outre, durant les autres saisons, le pH change significativement entre les différents sites d'étude (hiver ; $p = 0,021$ et automne ; $p = 0,011$). En outre, il n'existe pas une corrélation entre les fluctuations du pH et les effectifs larvaires correspondants ($p > 0,05$). On constate que le pH n'influence pas la distribution saisonnière des larves.

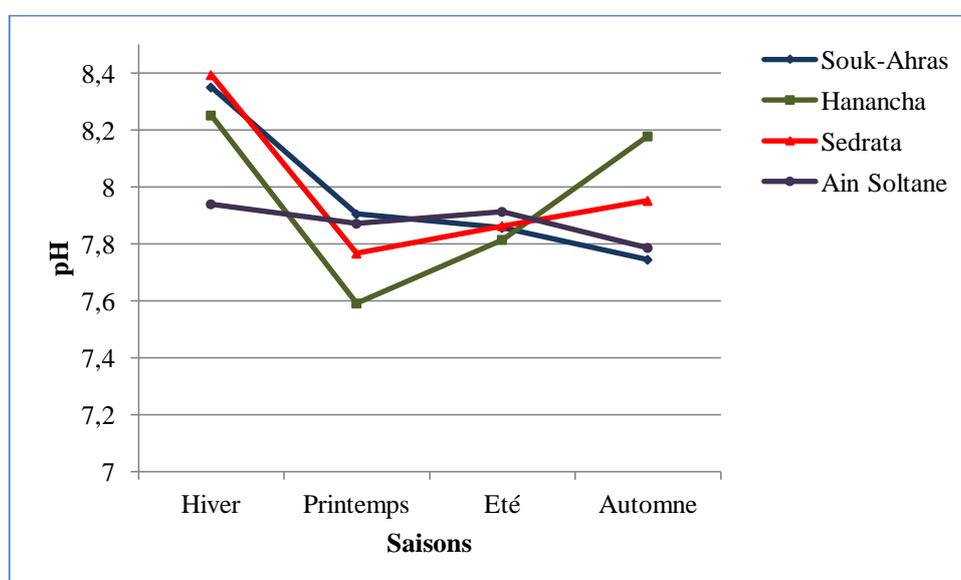


Figure 61. Variation saisonnière des valeurs moyennes du pH dans les sites d'étude (décembre 2011-novembre 2012).



3.1.5.2.3. Effets de la conductivité électrique

Selon la figure 62 qui présente les variations saisonnières de la conductivité électrique de l'eau des gîtes larvaires des différents sites d'étude, le site de Sedrata présente les plus fortes valeurs de conductivité, suivi par le site de Souk-Ahras qui représentent tout les deux les sites les plus riches par les culicidés. Les fortes conductivités sont observée durant l'été dans toutes les stations d'étude, et cela s'explique par l'évaporation d'où une augmentation en teneurs en sels dissous dans l'eau. En hiver, la conductivité de l'eau des gîtes des sites d'étude ne présente pas d'alternances significatives ($p = 0,075$). En outre, durant les autres saisons, elle change significativement entre les différents sites d'étude (printemps, été et automne : $p \leq 0,001$). De plus, il existe une corrélation positive significative ($p \leq 0,05$) entre la conductivité de l'eau des gîtes et les effectifs larvaires correspondants, ce qui exhibe une influence de ce paramètre sur la population larvaires des moustiques.

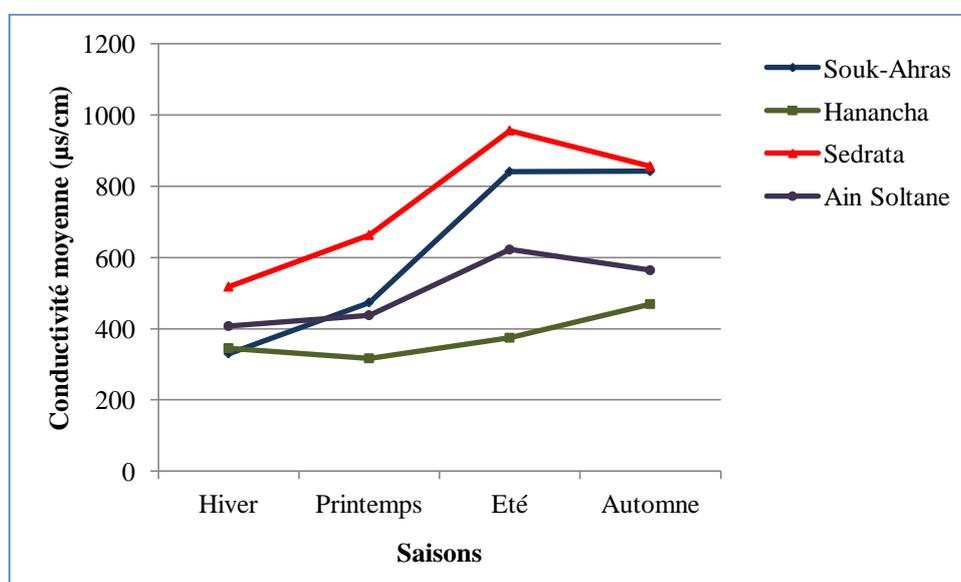


Figure 62. Variation saisonnière des valeurs moyennes de la conductivité ($\mu\text{s/cm}$) dans les sites d'étude (décembre 2011-novembre 2012).



3.2. Toxicité du kinoprène à l'égard de *Cx. pipiens*

Le kinoprène a été utilisé aux différentes concentrations : 162,5 ; 325 ; 487,5 et 650 µg/L sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens*. La mortalité observée est mentionnée dans le tableau 14 avec des taux variant de 32,00 % (162,5 µg/L) à plus de 98,00 % (650 µg/L) avec une relation dose-réponse. Après une transformation angulaire des mortalités observées, l'analyse statistique des données (tableau 15) révèle un effet dose hautement significatif ($p < 0,001$).

Tableau 15: Effet du kinoprène appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens*, sur le taux observé de mortalité cumulée ($m \pm SD$; $n = 4$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Doses Répétitions	Témoins	162,5 µg/L	325 µg/L	487,5 µg/L	650 µg/L
1	0	28,00	56,00	68,00	100,00
2	0	44,00	60,00	84,00	92,00
3	0	20,00	56,00	88,00	100,00
4	0	36,00	44,00	84,00	100,00
$m \pm s$	0	$32,00 \pm 12,22$	$54,00 \pm 2,31$	$81,00 \pm 10,58$	$98,00 \pm 4,62$

Le composé présente une toxicité par action directe sur les larves traitées, mais aussi par une action différée sur les autres stades du développement (tableau 16). Par conséquent, la mortalité a été calculé jusqu'à la formation des adultes. La plus forte concentration testée 650 µg/L a causé une mortalité de $10,00 \pm 4,90\%$ chez les larves L4 contre une mortalité de $98,00 \pm 4,62\%$ marquée jusqu'à l'émergence des adultes (tableau 16).

Tableau 16 : Efficacité du kinoprène appliqué sur des larves du quatrième stade chez *Cx. pipiens*: mortalité corrigée ($m \pm SD$, $n = 4$ répétitions contenant chacune 25 individus). *: Mortalité contre L4; **: Mortalité jusqu'à l'émergence.

Doses (µg/L)	162,5	325	487,5	650	p
Mortalité (%)*	$1,75 \pm 0,96$	$2,25 \pm 1,70$	$4,00 \pm 2,16$	$10,00 \pm 4,90$	$p < 0,05$
Mortalité (%)**	$32,00 \pm 12,20$	$54,00 \pm 2,31$	$81,00 \pm 10,58$	$98,00 \pm 4,62$	$p \leq 0,001$



Par le calcul des probits, les concentrations létales CL_{50} ont été calculées : 1287,4 $\mu\text{g/L}$ pour l'action directe sur les larves du quatrième stade, et 246,8 $\mu\text{g/L}$ pour l'action différée jusqu'à l'émergence d'après leurs équations de régression (tableau 17).

Tableau 17 : Efficacité du kinoprène appliqué sur des larves du quatrième stade chez *Cx. pipiens*: analyse des probits. *: Action directe sur L4; **: Action différée jusqu'à l'émergence.

Equation de régression	Slope	R ²	CL ₅₀ ($\mu\text{g/L}$) (IC 95%)	CL ₉₀ ($\mu\text{g/L}$) (IC 95%)
Y=1,83 X-0,69*	3,49	0,756	1287,4 (876,27-1891,44)	6446 (3420,58-12146,71)
Y=3,91 X- 4,36**	1,79	0,877	246,8 (206,13-295,47)	524,44 (395,16-695,99)

De plus, le composé perturbe la croissance et le développement. L'examen des insectes après traitement montre des aberrations morphologiques variées chez *Cx. pipiens*. Les larves traitées du quatrième stade avaient un corps tendu avec tête courbée dans le fond incapables d'arriver vers la surface pour respirer. La mortalité se manifeste, aussi, après inhibition précoce du développement ou suite à une incapacité à s'exuvier. On a remarqué l'échec de l'émergence des adultes, ils ont été incapables de détacher leurs pattes et leurs ailes de l'exuvie nymphale. En plus, l'exposition au kinoprène induit une inhibition de mue qui se manifeste par l'incapacité des pupes à s'exuvier correctement aboutissant à la formation des mosaïques larve-pupe. Aussi, d'autres malformations se manifestent comme l'apparition des pupes avec une seule trompette respiratoire (Fig. 63).



Figure 63. Aberrations morphologiques après traitement avec le kinoprène chez *Cx. pipiens* (A: Pupa témoin; B: Pupa des séries traitées avec une seule trompette respiratoire; C: Métamorphose interrompue; D: Larve-pupe intermédiaire des séries traitées).



3.3. Toxicité comparée du kinoprène et du méthoxyfenozone sur les lignées cellulaires

Les résultats sur la toxicité du kinoprène appliqué avec cinq concentrations sont présentés dans le tableau 18 et la figure 64. On constate que la lignée la plus sensible vis-à-vis le kinoprène est CF-203 (intestin moyen de *Choristoneura fumiferana*) et que ce produit a augmenté le taux de multiplication des cellules d'une façon significative par rapport aux témoins après application de 1 nM ($p < 0,001$), 0,1 μM ($p = 0,000$) et 1 μM ($p = 0,038$). Tandis que la plus forte concentration a provoqué la mort de presque 97 % des cellules ($p < 0,001$).

Concernant la lignée Sf9 (ovaire de *Spodoptera frugiperda*), le kinoprène n'a pas d'effet sur la viabilité des cellules par rapport aux témoins avec des concentrations allant de 1 nM à 0,1 μM . Cependant, le produit a montré un effet cytotoxique très important ($p < 0,001$) avec les fortes concentrations (1 et 10 μM) par rapport aux témoins sans relation dose-réponse.

Pour la lignée S2 (embryon de *Drosophila melanogaster*), les résultats montrent que le kinoprène manifeste une activité cytotoxique à partir de la concentration 0,1 μM ($p < 0,001$) (Voir tableaux des analyses ANOVA dans les annexes).

Tableau 18 : Effets du kinoprène appliqué à différentes concentrations sur les lignées. Pour chaque lignée cellulaire, les moyennes suivies d'une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$. Pour chaque série, les moyennes suivies d'une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$.

Traitement Cellules	Témoins	1 nM	0,01 μM	0,1 μM	1 μM	10 μM
Sf9	100a	104,23±25,50a A	90,98±15,72a A	87,37±25,33a A	1,74±0,91b A	1,97±0,89b A
S2	100a	101,40±11,16a A	94,44±5,58a A	46,74±10,23b B	18,23±19,15b B	18,99±19,1b B
CF-203	100a	166,87±4,05b B	125,87±31,4a A	174,18±43,0b C	134,33±24,5b C	2,40±1,88b C

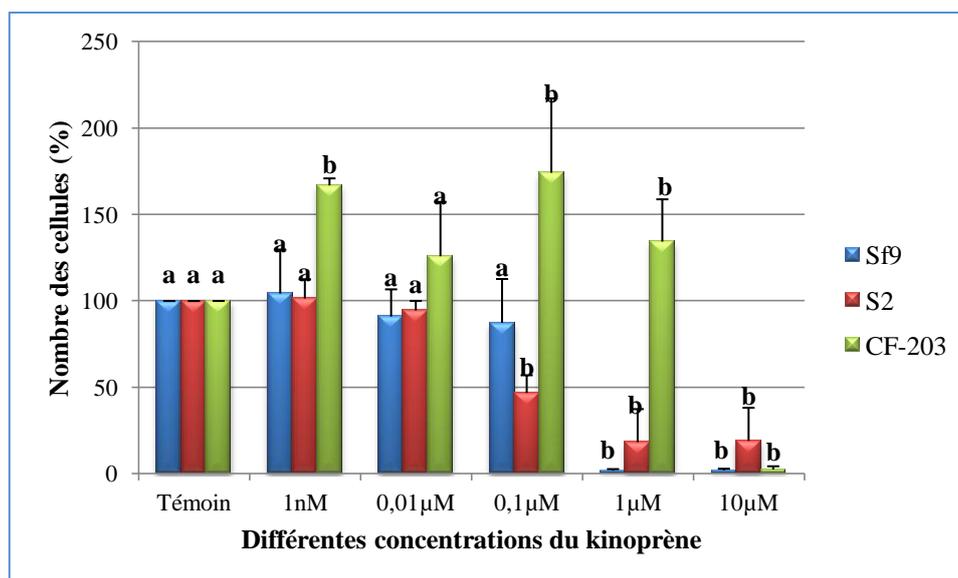


Figure 64. Effets du kinoprène appliqué à différentes concentrations sur la viabilité de différentes lignées cellulaires.

Les résultats résumés dans le tableau 19 et la figure 65 montrent l'effet du méthoxyfénoside sur la viabilité cellulaire de différentes lignées cellulaires. Par rapport aux témoins, le méthoxyfénoside est sans effet sur les deux lignées cellulaires : S2 (embryon) et Sf9 (ovaire) quelque soit la concentration appliquée. Cependant, le composé n'était pas cytotoxique contre la lignée CF-203 (intestin moyen). Il a augmenté significativement la multiplication cellulaire par les concentrations 1 nM ($p = 0,000$), 0,01 μM ($p < 0,001$), 0,1 μM ($p = 0,017$), 1 μM ($p < 0,001$) et 10 μM ($p < 0,001$).



Tableau 19 : Effets du méthoxyfénazole appliqué à différentes concentrations sur la viabilité cellulaire de différentes lignées. Pour chaque lignée cellulaire, les moyennes suivies d’une même lettre en minuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$. Pour chaque série, les moyennes suivies d’une même lettre en majuscule ne sont pas significativement différentes à $p > 0,05$.

Traitement Cellules	Témoins	1 nM	0,01 μM	0,1 μM	1 μM	10 μM	100 μM
Sf9	100a	78,29 \pm 39,78a A	87,01 \pm 36,45a A	99,43 \pm 48,28a A	91,44 \pm 48,33a A	118,76 \pm 64,28a A	46,63 \pm 14,31a A
S2	100a	85,43 \pm 27,37a A	84,20 \pm 24,07a A	100,98 \pm 19,09a A	100,22 \pm 11,33a A	106,66 \pm 11,16a A	95,95 \pm 3,69a A
CF-203	100a	165,73 \pm 39,67a B	172,65 \pm 26,22a B	147,78 \pm 23,16b B	215,33 \pm 47,33b B	210,20 \pm 13,30b B	140,65 \pm 5,84b A

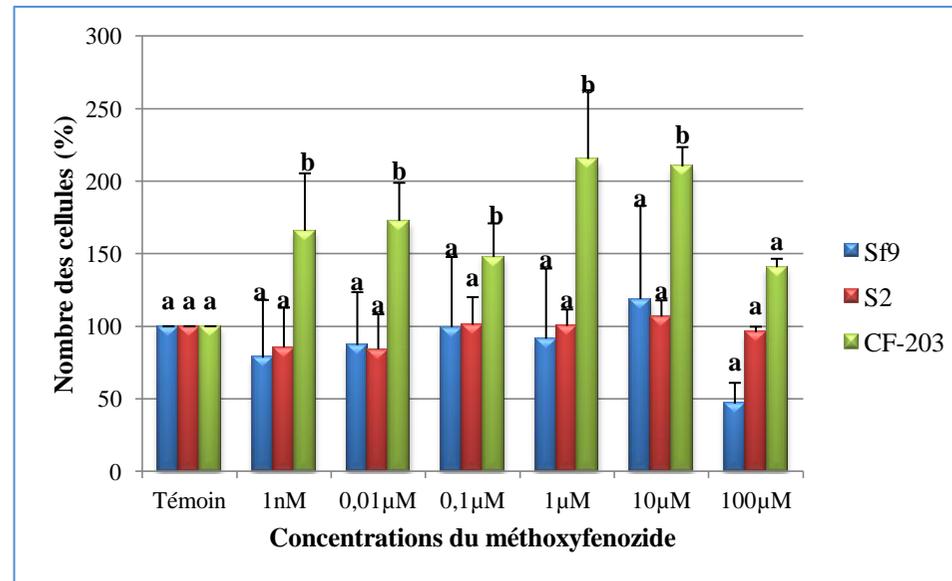


Figure 65. Effets du méthoxyfénazole appliqué avec différentes concentrations sur la viabilité cellulaire de différentes lignées.



3.4. Effets du kinoprène sur le développement

3.4.1. Traitement des œufs

3.4.1.1. Effets sur la morphométrie des œufs

Des œufs nouvellement pondus de *Cx. pipiens* ont été traités par deux concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) du kinoprène, afin d'étudier les effets de cet AHJ sur le poids et la morphométrie des œufs. D'après les résultats mentionnés dans le tableau 20, le kinoprène n'a pas affecté ni le poids, ni la morphométrie des œufs traités de *Cx. pipiens* par rapport aux témoins ($p \geq 0,05$).

Tableau 20 : Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur le poids ($\times 10^{-9}$ g), la largeur (mm) et la longueur (mm) des œufs chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions contenant chacune 3 nacelles). Pour même stade, les valeurs suivies par la même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Traitement Paramètres d'un œuf	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
Poids	10,5 ± 0,77a	10,1 ± 1,57a	9,70 ± 0,67a
Largeur	0,17 ± 0,02a	0,16 ± 0,02a	0,12 ± 0,03a
Longueur	0,62 ± 0,05a	0,56 ± 0,06a	0,52 ± 0,05a



3.4.1.2. Effets sur la viabilité des œufs

Le kinoprène a été appliqué avec deux concentrations létales ($CL_{50} = 246,8 \mu\text{g/L}$ et $CL_{90} = 524,44 \mu\text{g/L}$) sur des œufs nouvellement pondus issus d'élevage témoin de *Cx. pipiens*. Les résultats sur la viabilité des œufs sont présentés dans la figure 66. Le kinoprène n'affecte pas la viabilité des œufs chez *Cx. pipiens* par rapport aux témoins quelque soit la concentration appliquée.

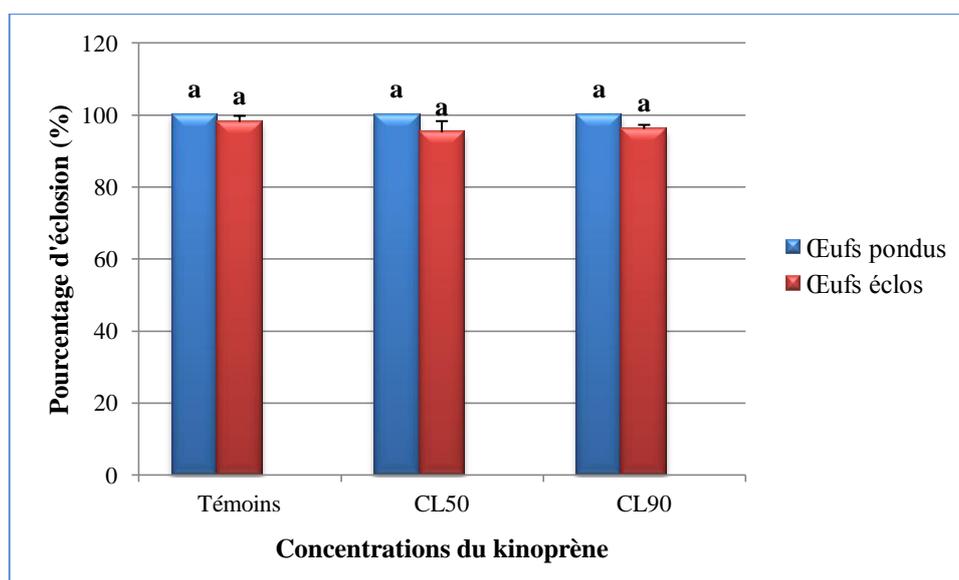


Figure 66. Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL_{50} et CL_{90}) sur le pourcentage d'éclosion (viabilité des œufs) chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 4$ répétitions contenant chacune 3 nacelles).



3.4.1.3. Effets sur la durée de développement des stades larvaires

Après traitement des œufs nouvellement pondus de *Cx. pipiens* par le kinoprène (CL₅₀ et CL₉₀), la durée des stades larvaires a été calculée et les résultats sont présentés dans la figure 67. La durée des stades larvaires montre des fluctuations dues au traitement par le kinoprène par rapport au témoin. La plus forte concentration raccourcit significativement la durée du 1^{er} et 2^{ème} stade larvaire (CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,002$ et $p = 0,026$ respectivement). Cependant, la durée du quatrième stade a été réduite sous l'effet des deux concentrations létales (CL₅₀ vs Témoin : $p \leq 0,001$ et CL₉₀ vs Témoin: $p \leq 0,001$) avec une relation dose/réponse (CL₅₀ vs CL₉₀: $p = 0,001$).

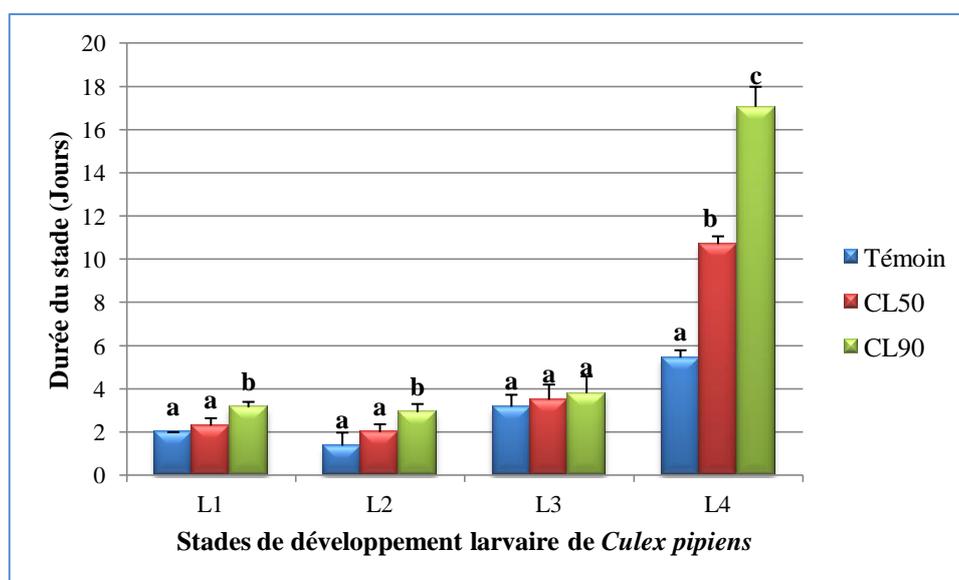


Figure 67. Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur la durée (jours) des stades larvaires chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 4$ répétitions contenant chacune 10 individus).



3.4.1.4. Effets sur la morphométrie des stades larvaires

Les larves du 1^{er} stade, issue des œufs traités chez *Cx. pipiens*, n'ont pas montré des effets du kinoprène sur leur poids. Le traitement n'a pas affecté le poids des larves du deuxième stade que par la forte concentration (CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,040$). Tandis que pour les deux derniers stades larvaires, kinoprène a diminué significativement le poids des larves avec relation dose/réponse ; L3 (CL₅₀ vs Témoin: $p = 0,024$; CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,014$; CL₅₀ vs CL₉₀: $p = 0,011$) et L4 (CL₅₀ vs Témoin: $p = 0,035$; CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,022$; CL₅₀ vs CL₉₀: $p = 0,037$) (Fig. 68).

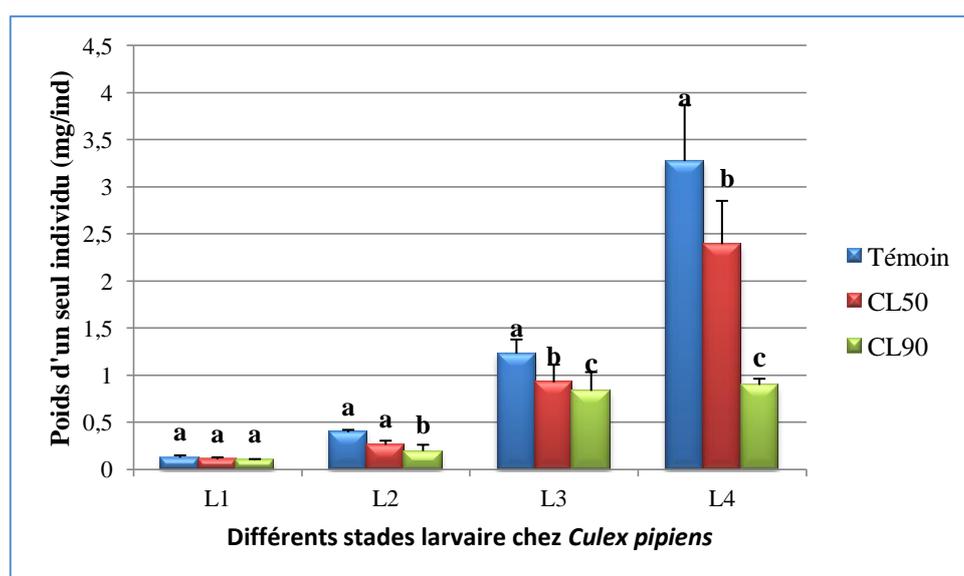


Figure 68. Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur le poids corporel (mg) des stades larvaires chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 individus).



Le kinoprène appliqué avec deux concentrations létales sur des œufs nouvellement pondus chez *Cx. pipiens* affecte significativement la largeur du thorax des stades larvaires (Fig. 69). Le kinoprène diminue la largeur du thorax avec une relation dose/réponse des larves du 2^{ème} (CL₅₀ vs Témoin: $p \leq 0,001$; CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,002$; CL₅₀ vs CL₉₀: $p = 0,004$) et du 3^{ème} stade larvaire (CL₅₀ vs Témoin: $p = 0,013$; CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,006$; CL₅₀ vs CL₉₀: $p = 0,037$). Concernant les larves du quatrième stade, seulement la plus forte concentration affecte la largeur du thorax des larves ($p \leq 0,001$).

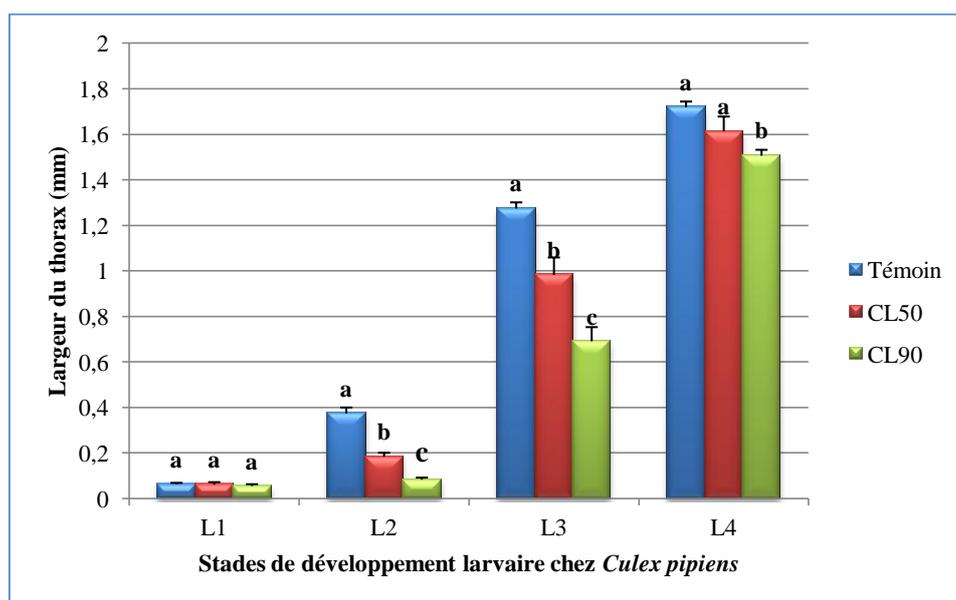


Figure 69. Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur la largeur du thorax (mm) des stades larvaires chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 individus).



Les résultats présentés dans la figure 70 montrent que le kinoprène appliqué avec deux concentrations létales sur des œufs nouvellement pondus de *Cx. pipiens* affecte significativement le volume corporel des stades larvaires. Le produit testé a diminué le volume corporel des larves du 2^{ème} stade avec une relation dose/réponse (CL₅₀ vs Témoin: $p = 0,020$; CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,015$; CL₅₀ vs CL₉₀: $p = 0,023$) et du 3^{ème} stade larvaire (CL₅₀ vs Témoin: $p = 0,005$; CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,004$; CL₅₀ vs CL₉₀: $p = 0,041$). Concernant les larves du quatrième stade, seulement la plus forte concentration a affecté la largeur du thorax des larves ($p \leq 0,001$).

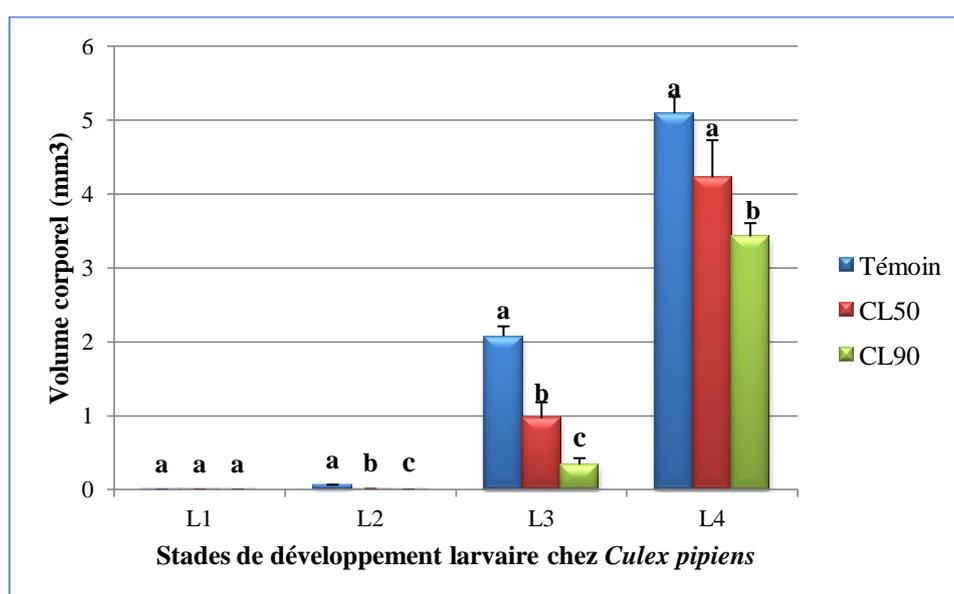


Figure 70. Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur le volume corporel (mm³) des stades larvaires chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 individus).



3.4.2. Traitements des larves du quatrième stade

3.4.2.1. Effets sur la durée du développement des stades L4 et nymphal

Le kinoprène appliqué avec deux concentrations létales ($CL_{50} = 246,8 \mu\text{g/L}$ et $CL_{90} = 524,44 \mu\text{g/L}$) sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens* affecte la durée du développement des stades post-embryonnaires (L4 et pupes). Les résultats sont présentés dans le tableau 21. Selon ces résultats, le kinoprène augmente significativement la durée du développement larvaire (CL_{50} : $p = 0,035$ et CL_{90} : $p = 0,001$) par rapport aux témoins avec une relation dose-réponse (CL_{50} vs CL_{90} : $p = 0,002$). Cependant, la durée du stade nymphal n'a pas été affectée qu'avec la concentration la plus forte (témoins vs CL_{90} : $p = 0,004$).

Tableau 21 : Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL_{50} et CL_{90}) sur la durée (jours) du quatrième stade larvaire et nymphal chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 4$ répétitions contenant chacune 10 individus). Pour même stade, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Traitement \ Stades	Témoins	CL_{50}	CL_{90}
L4	$3,25 \pm 0,50a$	$4,75 \pm 0,50b$	$7,50 \pm 0,57c$
Pupe	$3,50 \pm 0,57a$	$4,50 \pm 0,57a$	$5,75 \pm 0,50b$

3.4.2.2. Effets sur la morphométrie des stades L4, pupes et adultes

Les résultats mentionnés dans le tableau 22 représentant l'évolution du poids corporel chez les L4, pupes et adultes mâle et femelle chez *Cx. pipiens* montrent des fluctuations non significatives ($p < 0,05$) entre les séries traitées (CL_{50} et CL_{90}) et témoins. Pour les séries témoins, le poids des L4 de *Cx. pipiens* est : $6,02 \pm 0,38$ mg et diminue significativement au minimum ($1,70 \pm 0,07$ mg) chez le stade adulte (mâle: $p = 0,003$ et femelle: $p = 0,001$). Mais les fortes valeurs sont observées chez les femelles par rapport aux mâles. En plus, l'évolution pondérale marque un pic de poids chez les pupes ($6,63 \pm 0,59$ mg).



Tableau 22 : Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur le poids corporel (mg) des différents stades chez *Cx. pipiens* (m ± SD, n = 3 répétitions contenant chacune 10 individus). Pour même stade, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes (p > 0,05).

Stades	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
L4	6,02 ± 0,38a	5,37 ± 0,07a	5,23 ± 0,72a
Pupe	6,63 ± 0,59a	5,49 ± 0,38a	4,59 ± 0,98a
Adulte mâle	2,03 ± 0,04a	1,90 ± 0,14a	1,70 ± 0,07a
Adulte Femelle	3,52 ± 0,26a	3,44 ± 0,34a	3,11 ± 0,57a

D’après les résultats montrés dans le tableau 23, le volume corporel des individus témoins ainsi que les traités de *Cx. pipiens* augmente significativement durant les différents stades de développement (L4, pupes et adulte mâle et femelle) (p < 0,001). Le volume corporel des adultes mâles diminue sous traitement par les deux concentrations de kinoprène (CL₅₀: p = 0,005 et CL₉₀: p = 0,010 respectivement) avec une relation dose-réponse (CL₅₀ vs CL₉₀: p = 0,010). En plus, kinoprène réduit significativement le volume corporel des larves du quatrième stade (p ≤ 0,001) et des adultes femelles (p = 0,037) seulement avec la CL₉₀ par rapport aux témoins du même stage. D’autre part, kinoprène affecte le poids corporels des pupes avec CL₅₀: p = 0,036 et CL₉₀: p = 0,041 en comparant avec les témoins, mais sans relation dose-réponse (CL₅₀ vs CL₉₀: p > 0,05).

Tableau 23 : Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur le volume corporel (mm³) des différents stades chez *Cx. pipiens* (m ± SD, n = 3 répétitions contenant chacune 10 individus). Pour même stade, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes (p > 0,05).

Stades	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
L4	5,09 ± 0,22a	4,22 ± 0,50a	3,42 ± 0,17b
Pupe	8,30 ± 0,58a	6,18 ± 0,16b	5,94 ± 0,41b
Adulte mâle	50,20 ± 0,78a	43,62 ± 0,11b	35,68 ± 1,82c
Adulte Femelle	86,35 ± 5,97a	79,80 ± 5,72a	69,31 ± 9,74b



3.5. Effet du kinoprène sur la composition biochimique

3.5.1. Traitement des œufs

3.5.1.1. Effets sur la biochimie des œufs

Sous la lumière de la lecture du tableau 24, on observe que le contenu en glucide des œufs de *Culex pipiens* présente une diminution hautement significative ($P \leq 0,01$) chez les séries traitées par rapport aux témoins avec une relation dose/effet.

Les valeurs des contenus en lipides montrent qu'uniquement la dose forte (DL₉₀) du kinoprène diminue significativement ($P \leq 0,05$) les contenus en lipides par rapport aux témoins chez *Cx. pipiens*.

On constate après l'observation des résultats obtenus, qu'il y a une différence significative ($P \leq 0,001$) entre les contenus en protéines des œufs de *Cx. pipiens* entre séries témoins et traitées par CL₉₀ seulement.

Tableau 24 : Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur la composition biochimique ($\mu\text{g}/\text{œuf}$) des œufs chez *Cx. pipiens* ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$ contenant chacune 3 nacelles). Pour même stade, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Traitement Contenus	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
Contenu en glucides	10,02 \pm 1,03a	6,44 \pm 0,27b	5,51 \pm 0,17c
Contenu en protéines	27,32 \pm 1,13a	24,1 \pm 2,78a	12,89 \pm 0,60b
Contenu en lipides	80,22 \pm 9,52a	72,17 \pm 3,06a	68,33 \pm 0,94b

3.5.1.2. Effets sur la biochimie des stades larvaires

Les résultats du dosage des différents constituants biochimiques dans le corps entier des larves des différents stades chez *Cx. pipiens* des séries témoins et traitées par le kinoprène sont présentés dans le tableau 25.

Par rapport aux témoins, les contenus en glucides ont été réduits par les deux concentrations létales testées du kinoprène chez les larves du 2^{ème} (CL₅₀ vs Témoin: $p = 0,030$; CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,021$) et du 3^{ème} stade (CL₅₀ vs Témoin: $p = 0,034$; CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,024$). Kinoprène n'a pas montré d'effet sur le contenu en glucide des larves du 4^{ème} stade qu'après application de la CL₉₀ ($p = 0,021$).



Concernant le contenu en protéines, le kinoprène l'a diminué significativement chez les larves du 2^{ème} (CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,037$), du 3^{ème} (CL₅₀ vs Témoin: $p = 0,008$; CL₉₀ vs Témoin: $p \leq 0,001$) et du 4^{ème} stade (CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,042$).

Enfin, le kinoprène n'a pas affecté le contenu en lipides que chez les larves du 4^{ème} stade de *Cx. pipiens* issues des œufs traités (CL₅₀ vs Témoin: $p = 0,004$; CL₉₀ vs Témoin: $p = 0,001$) sans relation dose/réponse (CL₅₀ vs CL₉₀: $p > 0,05$).



Tableau 25 : Effets du kinoprène (CL₅₀ et CL₉₀) sur les contenus en protéines, glucides et lipides dans le corps entier ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des stades larvaires chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 individus). Pour même stade, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Ages (jours)	Glucides			Protéines			Lipides		
	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
L1	10,31 \pm 3,94a	6,27 \pm 0,66a	5,98 \pm 0,71a	22,75 \pm 8,18a	23,16 \pm 1,67a	22,11 \pm 1,03a	8,11 \pm 0,35a	7,23 \pm 0,38a	6,88 \pm 0,11a
L2	11,89 \pm 0,87a	7,73 \pm 0,81b	6,60 \pm 1,61b	31,40 \pm 13,36a	16,30 \pm 5,88a	6,49 \pm 2,68b	8,47 \pm 0,94a	7,87 \pm 1,22a	7,15 \pm 0,16a
L3	25,09 \pm 7,43a	12,78 \pm 1,93b	10,04 \pm 2,51b	73,01 \pm 24,68a	46,25 \pm 9,90b	25,35 \pm 1,86b	11,28 \pm 2,48a	7,72 \pm 0,97a	7,25 \pm 0,71a
L4	42,51 \pm 2,32a	33,98 \pm 2,97a	21,93 \pm 3,84b	167,11 \pm 37,06a	91,87 \pm 11,22a	50,54 \pm 11,93b	32,59 \pm 0,94a	9,23 \pm 2,57b	8,74 \pm 2,16b



3.5.2. Traitement des larves du quatrième stade

3.5.2.1. Biochimie du corps entier des L4, pupes et adultes

Le kinoprène a été appliqué avec deux concentrations létales sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées. L'évaluation biochimique a été effectuée sur 3 répétitions comportant chacune 10 individus de chaque stade : quatrième stade larvaire, nymphal, adultes mâle et femelle après application de deux concentrations létales de kinoprène (CL₅₀ et CL₉₀). Les contenus des principaux constituants biochimiques (glucides, protéines et lipides) ont été estimés dans le corps entier des différents stades (tableau 26). Chez les témoins, le contenu en protéines présente un pic durant le stade nymphal ($386,23 \pm 24,97 \mu\text{g}/\text{ind.}$).

Les résultats montrent qu'aucun changement significatif ($p > 0,05$) n'a été observé dans les niveaux des glucides, et cela chez tous les stades étudiés et quelque soit la dose testée par rapport aux témoins.

Dans le même tableau 26, il a été reporté que le traitement par le kinoprène a réduit significativement le taux des protéines dans les larves du quatrième stade (CL₅₀: $p = 0,042$ et CL₉₀: $p = 0,010$) avec une relation dose-réponse (CL₅₀ vs CL₉₀: $p = 0,003$). Par contre, une augmentation a été signalée sans effet dose chez les pupes et les adultes femelles ($p = 0,031$ et $p = 0,036$ respectivement) par rapport aux témoins.

Sous la lumière des mêmes résultats mentionnés dans le tableau 26, en comparant avec les témoins, le contenu en lipides a été également réduit dans les séries traitées des larves du quatrième stade ($p = 0,003$ et $p = 0,005$) et les pupes ($p \leq 0,001$ et $p = 0,029$) pour les CL₅₀ et CL₉₀ respectivement avec une relation dose réponse ($p = 0,040$ et $p = 0,029$).

Enfin, la concentration la plus élevée du composé a réduit significativement les contenus en lipides : $p = 0,011$ et $p = 0,004$ chez les stades adultes (mâle et femelle respectivement). En comparant les taux des lipides entre les différents stades étudiés, on signale la plus forte concentration chez les femelles, et cela peut être justifié par l'importance de ce métabolite dans les différents phénomènes de la reproduction, notamment la vitellogenèse.



Tableau 26 : Effets du kinoprène (CL₅₀ et CL₉₀) sur les contenus en protéines, glucides et lipides dans le corps entier (µg/individu) des différents stades de développement chez *Cx. pipiens* (m ± SD, n = 3 répétitions contenant chacune 10 individus). Pour même stade, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes (p > 0,05).

Stades	Protéines			Glucides			Lipides		
	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
L4	330,95±71,42a	220,47±30,53b	115,66±35,70c	67,40±9,03a	50,86±12,40a	39,40±2,63a	193,72±11,87a	108,35±11,11b	68,35±4,01c
Pupe	386,23±24,97a	255,66±45,54b	250,57±29,84b	73,04±8,00a	62,93±9,95a	58,86±3,58a	223,72±9,82a	173,35±39,72a	48,35±4,72b
Mâle	132,02±11,20a	93,19±36,64a	66,35±7,57b	48,80±9,99a	39,11±7,12a	29,27±3,17a	145,11±5,10a	116,31±23,33a	67,48±19,11b
Femelle	299,80±63,64a	173,52±32,10b	156,95±42,53b	66,88±2,54a	62,62±18,16a	58,17±3,35a	242,61±35,35a	123,72±30,87a	102,61±23,58b



3.5.2.2. Effets sur les indices caloriques

3.5.2.2.1. Effets sur le contenu calorique

D'après les résultats mentionnés dans le tableau 27, le kinoprène n'a pas affecté le contenu calorique des glucides, et cela chez tous les stades considérés ($p > 0,05$) contrairement aux lipides, qui montrent des changements significatifs.

En comparant avec les témoins, le traitement a réduit significativement l'indice calorique des lipides dans les larves du quatrième stade (CL_{50} : $p = 0,003$ et CL_{90} : $p = 0,005$) avec une relation dose-réponse (CL_{50} vs CL_{90} : $p = 0,041$). Tandis que ce même paramètre a subi une réduction significative au niveau des autres stades (pupe, adultes mâle et femelle) après traitement par la CL_{90} seulement par rapport aux témoins ($p \leq 0,001$; $p = 0,018$ et $p = 0,004$ respectivement).

De plus, l'impact du traitement par le kinoprène sur l'indice calorique des protéines a été signalé chez tous les stades étudiés par rapport aux témoins. Les stades immatures (L4 et pupes) ont montré une diminution significative (CL_{50} : $p = 0,042$ et $0,031$; CL_{90} : $p = 0,010$ et $0,001$ respectivement) avec relation dose-réponse ($p = 0,003$). Tandis que le kinoprène, a montré une réduction significative ($p = 0,036$) chez les femelles sans effet dose. Enfin, seulement la plus forte concentration (CL_{90}) a diminué l'indice calorique des lipides chez les mâles ($p = 0,004$).



Tableau 27 : Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur le contenu calorique (CC) des métabolites (Cal) chez les différents stades de développement de *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus). Pour même stade, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Stades \ Traitement	CC des protéines			CC des glucides			CC des lipides		
	Témoin	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoin	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoin	CL ₅₀	CL ₉₀
L4	1,32±0,22a	0,88±0,09b	0,46±0,10c	0,26±0,02a	0,20±0,03a	0,15±0,00a	1,74±0,08a	0,97±0,06b	0,61±0,02c
Pupe	1,54±0,07a	1,02±0,12b	1,00±0,09b	0,29±0,02a	0,25±0,03a	0,23±0,01a	2,01±0,06a	1,56±0,26a	0,43±0,03b
Mâle	0,52±0,03a	0,37±0,09a	0,26±0,01b	0,19±0,01a	0,15±0,01a	0,14±0,04a	1,30±0,02a	1,04±0,16a	0,60±0,12b
Femelle	1,19±0,17a	0,69±0,09b	0,62±0,11b	0,30±0,06a	0,23±0,02a	0,18±0,04a	2,18±0,22a	1,11±0,21a	0,92±0,16b



3.5.2.2.2. Effets sur le contenu calorifique spécifique à la taille

Les résultats des contenus spécifiques à la taille (CCST) des principaux métabolites (glucides, protéines et lipides) des différents stades de développement chez *Cx. pipiens* après traitement par le kinoprène ($CL_{50} = 246,8 \mu\text{g/L}$ et $CL_{90} = 524,44 \mu\text{g/L}$) (tableau 28), montrent que le CCST des glucides n'a pas changé sous l'effet du traitement ($p > 0,05$) dans tous les stades et quelque soit la concentration testée par rapport aux témoins.

Cependant, après comparaison avec les témoins, le CCST des protéines des larves et des adultes (mâle et femelle) a subi une réduction significative ($p = 0,010$; $p = 0,015$ et $p = 0,022$ respectivement) après application de la CL_{50} . Concernant les pupes, le kinoprène n'a pas affecté leurs CCST des protéines ($p > 0,05$).

Les résultats présentés dans le tableau 26 révèlent que le traitement a affecté le CCST des lipides chez les deux séries traitées (CL_{50} : $p = 0,026$ et CL_{90} : $p = 0,015$) des larves par rapport aux témoins, avec une relation dose-réponse ($p = 0,026$: CL_{50} vs CL_{90}). Mais il a diminué ce paramètre seulement par la CL_{90} (pupe: $p = 0,001$, mâle: $p = 0,019$ et femelle: $p \leq 0,001$) par rapport aux séries témoins.



Tableau 28 : Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur le contenu calorifique spécifique à la taille (CCST) (Cal/mm³) des principaux métabolites chez les différents stades de développement de *Cx. pipiens* (m ± SD, n = 3 répétitions contenant chacune 10 individus). Pour même stade, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes (p > 0,05).

Traitement Stages	CCST des protéines			CCST des glucides			CCST des lipides		
	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
L4	0,26±0,05a	0,20±0,01a	0,13±0,03b	0,05±0,00a	0,04±0,01a	0,04±0,00a	0,34±0,02a	0,23±0,00b	0,17±0,00c
Pupe	0,18±0,00a	0,16±0,01a	0,16±0,01a	0,03±0,00a	0,04±0,00a	0,03±0,00a	0,24±0,00a	0,25±0,03a	0,07±0,00b
Mâle	0,01±0,00a	0,008±0,00b	0,007±0,00b	0,003±0,00a	0,003±0,00a	0,003±0,00a	0,02±0,00a	0,02±0,00a	0,01±0,00b
Femelle	0,01±0,00a	0,008±0,00b	0,009±0,00b	0,003±0,00a	0,002±0,00a	0,002±0,00a	0,02±0,00a	0,01±0,00a	0,01±0,00b



3.6. Effets du kinoprène sur la reproduction

3.6.1. Effets sur la morphométrie des gonades

L'effet du kinoprène appliqué avec deux concentrations létales (CL_{50} et CL_{90}) sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées a été examiné sur quelques paramètres métriques des gonades des adultes mâles et femelles à différents jours après émergence (tableau 29).

Le kinoprène n'avait aucun effet sur la longueur des testicules des mâles, issus des larves traitées, nouvellement émergés et âgés de 2 jours ($p > 0,05$). Durant le 4^{ème} jour, le traitement a causé une déplétion de la longueur des testicules par rapport aux témoins (CL_{50} : $p = 0,001$ et CL_{90} : $p = 0,027$) sans une relation dose/réponse. Concernant la largeur des testicules, les résultats obtenus montrent que le kinoprène a causé une diminution significative de ce paramètre dans les mâles âgés de 4 jours (CL_{50} : $p = 0,013$ et CL_{90} : $p = 0,013$) par rapport aux témoins sans relation dose-réponse.

Le kinoprène a diminué significativement la longueur des ovaires des femelles dans tous les âges considérés avec la CL_{90} uniquement (0j: $p = 0,023$; 2j: $p = 0,034$ et 4j: $p = 0,042$). Concernant la largeur des ovaires, le traitement n'a pas affecté ce paramètre qu'après application de la plus forte dose, et cela chez les femelles âgées de 2^{ème} ($p = 0,041$) et le 4^{ème} jour ($p = 0,036$).



Tableau 29 : Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur la longueur et la largeur (mm) des testicules et des ovaires des adultes à différents âges chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 paires de testicules ou d'ovaires). Pour même âge, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

Age (jours)	Testicules						Ovaires					
	Longueur			largeur			Longueur (mm)			Largeur (mm)		
	Témoin	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoin	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
0	0,28±0,06a	0,34±0,05a	0,38±0,04a	0,13±0,00a	0,12±0,01a	0,12±0,00a	1,8±0,11a	1,54±0,10a	1,42±0,05b	0,65±0,003a	0,60±0,01a	0,55±0,01a
2	0,37±0,01a	0,35±0,02a	0,32±0,01a	0,14±0,00a	0,13±0,00a	0,13±0,00a	2,04±0,12a	1,75±0,11a	1,55±0,05b	0,74±0,01a	0,66±0,04a	0,61±0,02b
4	0,40±0,00a	0,30±0,01b	0,26±0,03b	0,15±0,00a	0,13±0,00b	0,12±0,00b	2,17±0,13a	1,88±0,01a	1,62±0,08b	0,80±0,01a	0,75±0,01a	0,68±0,03b



3.6.2. Effets sur la biochimie des gonades

Les contenus des principaux constituants biochimiques testiculaires des mâles issus des larves traitées sont présents dans le tableau 30. Les résultats montrent que la plus forte concentration du kinoprène a augmenté significativement les contenus des glucides au niveau des testicules des mâles nouvellement émergés ($p = 0,003$) et ceux âgés de 2j ($p = 0,010$). Concernant le 4^{ème} jour après l'émergence, les deux concentrations testées ont été efficaces (CL_{50} : $p \leq 0,001$ et CL_{90} : $p \leq 0,001$) par rapport aux témoins. Le traitement a induit des résultats similaires sur les protéines testiculaires. Enfin, le kinoprène a affecté les contenus des lipides testiculaires seulement par la CL_{90} , pour le 2^{ème} ($p = 0,010$) et le 4^{ème} ($p = 0,040$) jour après l'émergence des mâles.

En analysant les résultats représentés dans le tableau 31 qui montre l'effet du kinoprène sur les contenus des principaux constituants biochimiques ovariens des femelles issues des larves traitées, on constate que le contenu en protéines ovariennes marque une diminution significative sous l'effet de la CL_{90} du kinoprène chez les femelles de *Cx. pipiens* âgées de 0j ($p = 0,034$) et de 2j ($p = 0,016$). Tandis que durant le 4j les deux concentrations testées ont diminué significativement le contenu en protéines (CL_{50} : $p = 0,009$; CL_{90} : $p \leq 0,001$) sans relation dose-réponse.

Concernant le contenu en glucides ovariens des femelles de *Cx. pipiens*, les résultats révèlent une augmentation significative au cours du 2^{ème} et du 4^{ème} jours, due au traitement par la plus forte concentration du kinoprène (0j: $p = 0,031$; 2j: $p = 0,002$; 4j: $p \leq 0,001$).

Enfin, le contenu en lipides ovariens diminue significativement sous l'effet du kinoprène chez les femelles de tous les âges considérés, 0j (CL_{50} : $p = 0,036$; CL_{90} : $p = 0,015$), 2j (CL_{50} : $p = 0,002$; CL_{90} : $p \leq 0,001$; CL_{50} vs CL_{90} : $p \leq 0,001$), 4j (CL_{50} : $p \leq 0,001$; CL_{90} : $p \leq 0,001$; CL_{50} vs CL_{90} : $p \leq 0,001$).



Tableau 30 : Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur les contenus en protéines, glucides et lipides dans les testicules (µg/paire de testicules) à différents jours après l'émergence chez *Cx. pipiens* (m ± SD, n = 3 répétitions contenant chacune 10 paires de testicules). Pour même âge, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes (p > 0,05).

Ages (jours)	Glucides			Protéines			Lipides		
	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
0	7,70±0,23a	8,80±0,13a	9,53±0,01b	2,07±0,70a	1,95±0,22a	1,63±0,22b	11,53±0,75a	10,90±0,21a	10,38±0,19a
2	10,17±0,61a	11,40±1,55a	12,50±1,39b	2,52±0,20a	2,18±0,10a	1,76±0,49b	11,16±2,12a	11,77±1,13a	12,13±0,77b
4	14,20±1,60a	15,10±1,74b	15,83±1,06b	3,40±0,25a	2,19±0,34b	1,74±0,35b	15,11±2,05a	13,44±1,93a	11,88±0,77b

Tableau 31 : Effets du kinoprène appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur les contenus en protéines, glucides et lipides dans les ovaires (µg/paire d'ovaire) à différents jours après l'émergence chez *Cx. pipiens* (m ± SD, n = 3 répétitions contenant chacune 10 paires d'ovaires). Pour même âge, les valeurs suivies par une même lettre ne sont pas significativement différentes (p > 0,05).

Ages (jours)	Glucides			Protéines			Lipides		
	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
0	8,44±1,54a	9,80±0,03a	10,44±0,01b	2,25±0,17a	1,80±0,00a	1,37±0,55b	15,86±0,09a	14,08±1,87b	13,41±1,34c
2	11,66±0,18a	12,82±1,36a	16,35±0,71b	2,93±0,65a	1,87±0,41a	1,19±0,15b	22,07±0,01a	19,81±1,06b	15,81±1,50c
4	17,06±0,13a	18,20±0,67a	20,50±1,43b	3,55±1,04a	1,50±0,17b	0,66±0,02c	28,35±0,05a	21,46±0,74b	18,87±0,05c

DISCUSSION





4. DISCUSSION

4.1. Inventaire des culicidés

Notre échantillonnage bimensuel des culicidés dans la région de Souk-Ahras durant une année s'étalant entre décembre 2011 et novembre 2012, révèle la présence de 16 espèces appartenant à deux sous familles, Culicinae représentée par 4 genres ; *Culex* avec 7 espèces (*Cx. pipiens*, *Cx. theileri*, *Cx. modestus*, *Cx. simpsoni*, *Cx. quinquefasciatus*, *Cx. hortensis* et *Cx. arbieeni*) ; *Aedes* avec 3 espèces (*Ae. punctur*, *Ae. quasirusticus* et *Ae. pulcritarsis*) ; *Culiseta* avec 3 espèces dont une n'a pas pu être identifiée (*Cs. longiareolata* et *Cs. fumipennis*) ; *Orthopodomyia* représenté uniquement par une seule espèce (*Or. pulcripalpis*), et Anophelinae représentée par le genre *Anopheles* avec 2 espèces (*An. algeriensis* et *An. labranchiae*). Hamaidia (2004) a signalé la présence de 15 espèces de culicidés dans la région de Souk-Ahras, dont trois appartenant au genre *Anopheles*, 3 au genre *Culiseta* et 9 au genre *Culex* dont *Cx. pipiens*, *Cx. theileri* et *Cx. hortensis*. Bouabida *et al.*, (2012) a révélé la présence de 9 espèces à Tébessa appartenant à une seule sous-famille (Culicinae) et trois genres, *Culex* avec 5 espèces (*Cx. pipiens*, *Cx. theileri*, *Cx. hortensis*, *Cx. perexiguus* et *Cx. laticinctus*), *Culiseta* et *Ochlerotatus*. Dans la région de Constantine, une prospection taxonomique des culicidés a dévoilé la présence de 7 espèces appartenant à 2 sous familles, celle des Anophelinae et celle des Culicinae (*Cx. pipiens*, *Cx. mimeticus*, *Cx. theileri*, *Cx. hortensis*, *Cs. longiareolata*, *An. labranchiae* et *Uranotaenia unguiculata*) (Berchi, 2000). Dans la région de Mila, Messai *et al.* (2010) ont noté la présence de 12 espèces de Culicidae appartenant à 2 sous familles, Anophelinae et Culicinae. Il s'agit de *Cx. pipiens*, *Cx. modestus*, *Cx. theileri*, *Cx. hortensis*, *Cx. antennatus*, *Cx. laticinctus*, *Cx. deserticola*, *C. longiareolata*, *An. labranchiae*, *An. pharoensis* et *U. unguiculata*. L'inventaire culicidien réalisé dans la région de Skikda, a montré que la faune culicidienne est largement représentée avec 30 espèces, appartenant à deux sous-familles : Culicinae représentée par 21 espèces. 11 espèces du genre *Culex* (*Cx. pipiens*, *Cx. antennatus*, *Cx. perexiguus*, *Cx. theileri*, *Cx. hortensis*, *Cx. deserticola*, *Cx. laticinctus*, *Cx. impidicus* et *Cx. mimeticus*), 7 espèces du genre *Aedes*, dont *Ae. caspius* est la plus abondante, suivie par *Ae. dorsalis*, *Ae. vittatus*, *Ae. mariae*, *Ae. detritus* et *Ae. biskraensis*. Quant au genre *Culiseta*, il a été représenté uniquement par 3 espèces : *Cs. longiareolata*, *Cs. subochrea* et *Cs. annulata*. La sous famille des Anophelinae a été représentée par 7 espèces parmi lesquelles *An labranchiae*, *An claviger*, *An petragrani* et *An marteri* (Bouleknafet, 2006). L'analyse de la composition du peuplement de Culicidae des gîtes du marais de Réghaïa a révélé l'existence de 12 espèces appartenant à deux sous



familles: Anophelinae avec une seule espèce (*An. labranchiae*) et Culicinae représentée par 4 genres : le genre *Culex* est le plus abondant avec 8 espèces (*Cx. mimeticus*, *Cx. perexiguus*, *Cx. pipiens*, *Cx. theileri*, *Cx. modestus*, *Cx. hortensis*, *Cx. impudicus* et *Cx. territans*), le genre *Aedes* (*Ae. caspius*), le genre *Culiseta* (*Cs. longiareolata*), et enfin, le genre *Uranotaenia* a renfermé une seule espèce : *Ur. unguiculata* (Lounaci & Doumandji, 2013). L'étude morphotaxonomique des larves des culicidés, dans la région du M'Zab-Ghardaïa, a permis d'identifier 10 espèces, *Oc. caspius*, *An. sergentii*, *Cx. deserticola*, *Cx. theileri*, *Cx. pipiens*, *Cx. hortensis*, *Cx. laticinctus*, *Cs. longiareolata*, *Cs. subochrea*, *Uranotaenia unguiculata* (Boukraa *et al.*, 2013).

Selon leurs abondances relatives, les espèces rares ont une forte influence sur l'estimation de la diversité, particulièrement celles liées à la richesse des espèces. Elles ont aussi une influence sur l'indice de Shannon-Weaver. Quelques indices écologiques de la diversité ont été développés afin d'estimer les paramètres communautaire, mais l'hypothèse d'occurrence d'une estimation non biaisée peut être restrictive, subséquemment, les paramètres peuvent être difficiles à interpréter (Chao, 2004). L'indice de Shannon-Weaver, par exemple, qui suppose que tous les spécimens récoltés proviennent d'une population de taille infinie et que toutes les espèces sont représentées dans l'échantillon. D'autre part, l'indice de Simpson, qui est corrélé inversement avec la diversité, est fortement influencé par les espèces dominantes. Les indices de diversité sont aussi influencés par le volume récolté ainsi que la méthode de l'échantillonnage, donc sont limités pour évaluer les paramètres communautaires.

Dans la présente étude, nous avons obtenu un indice de Shannon-Weaver de 1,11 qui indique une faible diversité, qui est probablement associée à la forte dominance de *Cx. pipiens* par une valeur d'abondance relative de 76,97 %, suivie par *Cx. theileri* avec une valeur de 16,92 %. Tandis que les autres espèces ont des faibles valeurs variant entre 2,30 et 0,02 %. Dans notre zone d'étude, la dominance saisissante d'une seule espèce (*Cx. pipiens*) a certainement influencé l'estimation des paramètres de mesure de la diversité des culicidés. En plus, le site de Sedrata a présenté la plus forte richesse spécifique. En effet, la présence d'une station d'épuration (deuxième station) et le dépôt excessif d'ordures ménagères des zones urbaines avoisinantes du Oued Krab créent des conditions favorables au développement de nombreuses espèces de moustiques. *Cx. pipiens* était l'espèce la plus fréquente dans Souk-Ahras et Tébessa (25,25 %) (Hamaidia, 2004). De même dans la région de Constantine, *Cx. pipiens* était l'espèce la plus dominante avec une fréquence de 91,36 % dans la station d'Ain Smara et de 98,8 % à Didouche Mourad (Messai *et al.*, 2010). Cependant, dans la région de



Tébessa, les espèces les plus abondantes sont respectivement *Cs. longiareolata* (62,01 %) et *Cx. pipiens* (32,57 %) (Bouabida *et al.*, 2012). Selon Lounaci & Doumandji (2013), *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* sont les espèces les plus abondantes.

4.1.1. Effets des facteurs climatiques sur la densité larvaire

Nos résultats ont montré qu'il y a une corrélation négative entre la pluviométrie et la variation des effectifs larvaires. Les densités larvaires récoltées pendant les mois les plus pluvieux de la période d'étude (de décembre au mars) sont les plus faibles à cause du lessivage des gîtes par les fortes pluies. Tandis que les plus fortes densités larvaires sont rencontrées en fin et au début des saisons pluvieuses marquées par une diminution des précipitations ce qui stabilise les gîtes favorisant ainsi la pullulation des larves. Nos observations concordent avec plusieurs travaux antérieurs (Karch *et al.*, 1993 ; Ravoahangimalala *et al.*, 2008 ; Bakwo *et al.*, 2009). Les précipitations ont été déjà identifiées comme facteur influençant la population de *Cx. pipiens*, par exemple une pluie intense quelques semaines avant la récolte des larves de moustiques était positivement corrélée avec leur abondance (Wang *et al.*, 2011 ; Chuang *et al.*, 2012) par l'augmentation des surfaces des gîtes et par conséquent les sites d'oviposition (Chuang *et al.*, 2011). En outre, les précipitations peuvent aussi diminuer des niveaux d'activité adultes (Chaves & Kitron, 2011). Notre étude soutient l'hypothèse que tandis que l'averse modérée est nécessaire pour fournir d'habitats favorables pour l'oviposition des moustiques, un excès de précipitations écarte la nymphose et l'émergence des adultes ou détruit carrément les gîtes larvaires. Cette relation entre précipitations et densité larvaire a été prouvée par d'autres études (Gardner *et al.*, 2012) qui ont trouvé que les précipitations ont été le facteur déterminant entre les bassins de captage comme gîte productifs ou improductifs. Dans le même axe, une étude récente a indiqué qu'un excès de précipitation peut limiter l'incidence de la production vectorielle du virus West-Nile (VWN) (Ruiz *et al.*, 2010). Cependant, des recherches antérieures ont démontré que les précipitations sont une variable importante dans la détermination des taux tant d'émergence larvaire qu'activité du VWN, et ont trouvé une corrélation positive entre précipitations et des cas humains positifs (Takeda *et al.*, 2003 ; Landesman *et al.*, 2007).

Nos résultats montrent une corrélation positive entre la température et la variation des effectifs des culicidés dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012). Plusieurs études antérieures ont déjà confirmé que la densité des populations de moustiques est fortement influencée par la température (Wang *et al.*, 2011 ; Chuang *et al.*, 2012). Cela est dû à la dépendance du développement des stades immatures ainsi que la durée du cycle



gonotrophique à la température (Madder *et al.*, 1983 ; Vinogradova, 2000). En plus, la température du milieu peut influencer la capacité de *Cx. pipiens* à transmettre VWN (Dohm *et al.*, 2002), alors il faut la prendre en considération lors d'une évaluation des compétences vectorielles des moustiques ou d'une modélisation des risques endémiques.

4.1.2. Effets des paramètres physico-chimiques sur la densité larvaire

Dans la présente étude menée sur une année allant de décembre 2011 à novembre 2012, des paramètres physicochimiques de l'eau des gîtes des différentes stations d'étude dans la région de Souk-Ahras, le pH, la conductivité électrique (CE) et l'oxygène dissous (OD) ont été mesurés. Nos résultats montrent qu'il n'y a pas de corrélation entre le pH avec les effectifs larvaires des stations de prélèvement correspondantes. Tandis que les teneurs en OD sont corrélées négativement avec les densités larvaires et la CE présente une corrélation positive avec les densités larvaires.

D'autres études ont montré une corrélation négative entre la CE de l'eau et la densité larvaire, tandis que le pH et l'OD ont présenté une corrélation positive (Gopalakrishnan *et al.*, 2013). D'autres chercheurs ont trouvé que la densité larvaire des moustiques a présenté des différences significatives, tandis que les paramètres de la qualité de l'eau des gîtes ont été pas différents significativement (Yadav, 2009). Malgré que la CE, DO et pH aient été statistiquement différents entre les sites d'étude, ils n'avaient pas une signification biologique concernant la répartition des espèces de moustiques (Krishnaraj, 2011). Aussi, malgré qu'il a été prouvé que l'eau de mer favorise l'activité des moustiques, il n'y avait pas de différence significative entre la viabilité des œufs pondus dans l'eau de mer et ceux pondus dans l'eau de rivière (Oyewole *et al.*, 2009). Dans le même contexte, El Aloui (1985) a rapporté que la constance de la qualité physicochimique des eaux : pH, CE et OD n'apporte pas de résultats significatifs permettant des corrélations avec les effectifs larvaires ou leur développement. Adebote *et al.* (2006) ont montré que le pH à des valeurs moins de 5 et plus que 7,4 provoque des effets létaux sur les populations des larves de moustiques. Egalement, il a été montré que les larves de moustiques peuvent survivre dans une eau neutre ou légèrement alcaline (Abdullah & Merden, 1995 ; Pelizza *et al.*, 2007). Cependant, MacGregor (1929) a rapporté que les moustiques vivant dans de trou d'arbre, *Finlaya geniculata*, en une valeur de pH de 4,4 se développent mieux que les moustiques des cours d'eau avec un pH de 8,2-8,4. De plus, Oyewole *et al.*, (2009) ont prouvé que le taux de croissance des adultes émergés a été indépendant de la source d'eau.



Nos résultats sont concordants avec ceux trouvés par d'autres chercheurs. La combinaison entre plusieurs facteurs comme le pH, l'OD, la CE, la température, l'humidité relative et les précipitations contribue à l'augmentation de l'abondance des moustiques (Afolabi *et al.*, 2013). L'abondance des larves de moustiques a été positivement corrélée avec la salinité de l'eau, le pH et la CE (Berti *et al.*, 2010 ; Mala *et al.*, 2011), et négativement corrélée avec l'oxygène dissous (Berti *et al.*, 2010). Cependant, Burke *et al.* (2010) ont rapporté une association négative entre la CE et la présence des larves du *Cx. quinquefasciatus*.

Dans la présente étude, la faible diversité peut être liée à la méthode du « dipping » utilisée pour la récolte des larves de moustiques qui n'est pas adaptée à la capture des larves vivant fixées sur les végétaux aquatiques, ce qui nécessite de combiner plusieurs méthodes de capture afin d'augmenter la probabilité d'obtenir plus d'espèces dans un site donné. Pourtant, ça n'empêche pas de jeter la lumière sur les différentes interactions interspécifiques chez les culicidés, comme la compétition, pour mieux comprendre la direction des changements dynamiques des populations qui peut affecter leur capacité vectorielle. Parmi d'autres causes, nous pouvons citer l'assèchement des gîtes larvaires correspondants aux saisons sèches, le lessivage des gîtes par les précipitations, le ralentissement du développement larvaire résultant de la baisse de température.

4.2. Toxicité du kinoprène contre *Cx. pipiens*

Généralement, les insecticides de synthèse ont comme objectif de cibler les moustiques adultes (Rehimi & Soltani, 1999 ; Rehimi & Soltani, 2002). Leur utilisation massive a engendré plusieurs inconvénients, à citer la résistance des espèces cibles et leur réapparition (Hardin *et al.*, 1995 ; Ruberson *et al.*, 1998). Dans ce contexte, la recherche d'autres molécules efficaces tout en préservant au maximum l'environnement apparaît indispensable. Par conséquent, les analogues de l'hormone juvénile (AHJs) sont considérés comme alternative dans les campagnes de lutte contre les moustiques (Pawar *et al.*, 1995; Slama, 1999). Le kinoprène a été commercialisé en 1975 contre les aphides (Henrick, 1995), il a été très efficace contre les nymphes d'*Aphis gossypii* (Homoptera: Aphididae) mais sans contrôle absolu (Satoh *et al.*, 1995). Le pyriproxifène évalué contre les larves du 3^{ème} stade de *Cx. quinquefasciatus* a montré une valeur de CL₅₀ de 0,84 µg/L (Madhu & Vijayan, 2009).

Dans la présente étude, le kinoprène (nom commercial Enstar® 650 EC) a été testé sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx. pipiens*. Les résultats montrent une



activité insecticide avec une CL_{50} de 246,8 $\mu\text{g/L}$, ce qui suggère que le kinoprène est moins toxique que le methoprène. Toutefois, l'activité dépend aux plusieurs facteurs, la méthodologie utilisée, le mode d'application ainsi que la formulation appliquée. En plus, les inhibiteurs de la chitine ont été apparus plus toxiques que les analogues de l'hormone de mue ou l'hormone juvénile. Au niveau de notre laboratoire de biologie animale appliquée (LBAA, université Badji Mokhtar, Annaba), plusieurs recherches ont été réalisées avec plusieurs RCIs sur *Cx. pipiens*, teflubenzuron ($CL_{50}= 5,92 \text{ ng/L}$) et diflubenzuron ($CL_{50}= 16,36 \text{ ng/L}$) (Rehimi, 2004), triflumuron ($CL_{50}= 36,25 \text{ ng/L}$) (Soltani *et al.*, 1999), halofénoside ($CL_{50}= 12,58 \mu\text{g/L}$) (Boudjelida *et al.*, 2005) et flucycloxuron ($CL_{50}= 35,81 \text{ ng/L}$) (Soltani & Rehimi, 2002).

Le kinoprène n'a pas été étudié sur les moustiques et toutes les études réalisées antérieurement restent minimales par rapport aux autres AHJs, comme le pyriproxifène qui a été testé contre *Aedes albopictus*, *Ae. aegypti*, *Ae. atropalpus* et *Cx. pipiens* (Suman *et al.*, 2013) et le methoprène contre *Ae. albopictus* (Nelder *et al.*, 2010). Le kinoprène a été testé sur *Planococcus citri* (Hemoptera) (Cloyd, 2003 ; Rothwangl *et al.*, 2004), ainsi que sur *Bombus terrestris* (Diptera) (Mommaerts *et al.*, 2006).

4.3. Toxicité du kinoprène et du méthoxyfénoside sur les lignées cellulaires

L'HJ contrôle plusieurs processus physiologiques chez les insectes par la régulation de l'expression des gènes (Nijhout, 1994). Cependant, les mécanismes moléculaires de cette hormone sont moins étudiés par rapport à ceux de la 20E, qui est la raison du fait qu'aucun récepteur de l'HJ n'a été identifié. Le modèle actuel propose que cette hormone interagisse avec l'activateur du Methoprène-tolérant (Met) qui a été identifié pour la première fois chez *Drosophila melanogaster* (Wilson & Fabian, 1986) et qui possède une grande affinité pour HJ III (Pursley *et al.*, 2000). Chez *Tribolium castaneum*, le Met joue aussi un rôle important dans la régulation de la synthèse de la vitellogénine par l'HJ chez les scarabées femelles adultes (Parthasarathy *et al.*, 2010). Dans ce travail, L'effet de deux types des RCIs, kinoprène (AHJ) et méthoxyfénoside (agoniste de l'ecdysone), a été examiné sur la viabilité cellulaire de trois lignées cellulaires de différents tissus issues de différentes espèces d'insectes : CF-203 de l'intestin moyen de *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera), S2 embryonnaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera) et Sf9 ovarienne de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera). Malgré qu'il y ait des effets après traitement avec les deux RCIs, des différences remarquables dans le degré de toxicité ont été observées.



Il a été très clair que le kinoprène était non cytotoxique vis-à-vis CF-203, il a augmenté le taux de multiplication cellulaire avec des concentrations modérées. Cependant, seulement des effets modérés ont été observés sur S2 et Sf9. Au contraire, les cellules S2 et Sf9 n'ont montré aucune réponse au méthoxyfénoside, mais il a montré un effet positif en accélérant le développement cellulaire des cellules CF-203. Cette différence de sensibilité entre les lignées cellulaires peut être attribuée aux différentes interactions des deux composés avec les cellules, comme la fixation, la localisation intracellulaire et la dégradation. Une faible concentration du kinoprène a stimulé les ovaires des *Bombus terrestris* traités par rapport aux témoins (Mommaerts *et al.*, 2006).

En comparant l'efficacité des deux RCIs, on peut constater que le kinoprène est plus toxique par rapport au méthoxyfénoside, et que la lignée S2 est la plus sensible par rapport aux deux autres (Sf9 et CF-203). La robuste activité du kinoprène par rapport au méthoxyfénoside peut être expliquée par la faible affinité du méthoxyfénoside aux récepteurs des ecdystéroïdes (EcR) des diptères (Sundaram *et al.*, 1998). Nos résultats confirment des études antérieures. L'activité de quelques agonistes d'ecdysone (méthoxyfénoside, tébufénoside, halofénoside et RH-5849) a été testée sur deux lignées cellulaires embryonnaires, BRL-AG-3A et BRL-AG-3C dérivées du charançon du coton *Anthonomus grandis* (Coleoptera ; Curculionidae), les résultats ont montré une faible affinité des analogues aux récepteurs par rapport aux ecdystéroïdes (Soin *et al.*, 2009), et que cette affinité a été plus faible chez les coléoptères que chez les lépidoptères (Swevers *et al.*, 2004 ; Wheelock *et al.*, 2006). Le tébufénoside possède une affinité aux EcR de *Plodia interpunctella* 64 fois plus grande qu'aux EcR de *Drosophila*, suggérant qu'il nécessite des concentrations plus fortes pour avoir les mêmes effets sur les diptères que sur les lépidoptères (Sundaram *et al.*, 1998).

Comme insecticides, les agonistes de l'ecdysone, comme le méthoxyfénoside et le tébufénoside, agissent *in vivo* en induisant une mue précoce létale en se liant avec les récepteurs de l'ecdysone (EcR) (Sundaram *et al.*, 1998). Ils sont apolaires ce qui leur confère une grande perméabilité, avec une faible métabolisation et donc ils persistent dans le corps plus longtemps, l'insecte est alors piégé dans le phénomène de mue et meure lentement par faim et dessiccation (Retnakaran *et al.*, 2003). Malgré que quelques RCIs aient prouvé leur activité *in vitro*, au niveau cellulaire par le système de dépistage cellulaire, ils n'ont pas exhibé aucun effet sur la toxicité larvaire. Puisque les différences au niveau cellulaire entre les insectes sont minimales, les essais de toxicité contre les larves ont montré que la spécificité de quelques molécules vis-à-vis les espèces n'est pas basée sur la différence



de l'activation des récepteurs cellulaires, mais plutôt sur la non-identification des paramètres *in vivo* comme la perméabilité de la cuticule, absorption/excrétion par le tube digestif ou la détoxification métabolique (Soin *et al.*, 2010). Par exemple, le RH-0345 peut être utilisé contre les coléoptères malgré sa faible toxicité reportée par des études des lignées cellulaires des coléoptères (Soin *et al.*, 2009). Dans ce cas les paramètres *in vivo* ont pu compenser la faible activité vis-à-vis les récepteurs cellulaires.

4.4. Effets du kinoprène sur le développement

L'HJ joue un rôle important dans la régulation hormonale des insectes surtout durant le développement larvaire (rôle morphogénétique) et la reproduction (rôle gonotrophique) (Gäde *et al.*, 1997 ; Emlen & Nijhout, 1999 ; Gilbert *et al.*, 2000). L'HJ maintient les caractères larvaires lors des mues et qu'au contraire, son absence favorise la métamorphose (Klowden, 2002 ; Riddiford, 2008). Pour cela, l'HJ induit l'expression du gène *Kruppel homolog 1* (*Kr-h1*) qui inhibe l'induction du *Broad-Complex zinc finger protein* (Br) (Konopova & Jindra, 2008) qui agit comme le point de change entre le programme larvaire et nymphal (Zhou & Riddiford, 2002). Chez *Manduca sexta*, l'expression du Br est directement induite par 20E à travers ses récepteurs nucléaires, mais cette induction peut être inhibée par l'HJ durant les mues larvaires (Zhou & Riddiford, 2002), par conséquent, l'expression prédominante du Br a lieu durant la transition larve-pupe (Huang *et al.*, 2011) avec une augmentation de l'ecdysone ce qui provoque une cascade d'événements aboutissant une mue nymphale (Westerlund & Hoffman, 2004).

L'application du kinoprène sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées a montré plusieurs malformations à la suite de la perturbation des phénomènes de mue et de métamorphose, l'échec de la métamorphose, des intermédiaires larve-pupe et l'apparition des pupes avec une seule trompette respiratoire. Mêmes déformations morphologiques ont été mentionnées après application du pyriproxifène sur *M. domestica* et *Cx. pipiens* (Khater, 2003), et du methoprène sur *Cx. quinquefasciatus* (Kamita *et al.*, 2011). Il a été prouvé que les RCIs incitent fréquemment une puissante suppression d'embryogenèse, métamorphose et la formation des adultes (Meola *et al.*, 2001; Liu, 2003). Comme insecticides, les AHJs, comme les kinoprène, le methoprène et le pyriproxifène, perturbent les développements larvaire et adulte des insectes nuisibles par mimer l'action de l'HJ (Sehnal, 1983).

Chez les moustiques, la taille corporelle est considérée comme un trait déterminant dans leur potentiel vectoriel (Farjana & Tuno, 2013) puisqu'elle peut influencer leur capacité



d'attaque, d'hématophages et par conséquent leur fécondité. Des études suggèrent que les réserves nutritifs accumulés durant les stades larvaires peuvent être importants dans la détermination de la taille corporelle des femelles de *Cx. pipiens* (Shin *et al.*, 2012).

Dans notre étude, le kinoprène (CL₅₀ et CL₉₀) a diminué le volume corporel de tous les stades considérés (L4, pupes et adultes), quoiqu'il n'ait pas affecté leurs poids. De plus, ce composé a étendu la durée du développement des stades post-embryonnaires en mimant l'action de l'hormone juvénile ce qui confirme des études antérieures en utilisant le pyriproxifène sur les larves de *Thrips tabaci* (Liu, 2003). En comparant la sensibilité des différents stades vis-à-vis le kinoprène, nous constatons que le quatrième stade larvaire est le plus vulnérable par rapport aux autres stades, soit après application sur L4 ou sur les œufs. Concernant les mâles et les femelles, nos résultats ne montrent pas effet du sexe sur les effets engendrés après application du kinoprène. Mais, il est préférable d'argumenter ces résultats par des études sur *sex-ratio*.

4.5. Effets du kinoprène sur la composition biochimique

Durant le développement des insectes, l'hémolymphe subit des modifications métaboliques (Sugumaran, 2010) afin de satisfaire les différentes demandes énergétiques sous un contrôle endocrine (Gäde, 2004). Les insectes doivent accumuler au moins un minimum d'éléments nutritifs pour survivre durant la métamorphose (Mirth & Riddiford, 2007). Les stades au cours desquels s'effectue l'accumulation des réserves énergétiques sont les stades larvaires à travers l'alimentation pour les utiliser aussi bien durant la métamorphose que pour l'adulte émergent. L'exposition d'un organisme à un xénobiotique peut modifier la synthèse de certains constituants biochimiques et perturber leurs fonctionnalités (Rodriguez-Ortega *et al.*, 2003).

Durant la métamorphose et le développement embryonnaire, les glucides jouent un double rôle au niveau de tous les tissus, structural et fonctionnel (Kaufmann & Brown, 2008). Quant aux protéines, elles entrent dans diverses réactions, comme la régulation hormonale et le catabolisme enzymatique, et sont incorporées dans la structure cellulaire en même temps que les glucides et les lipides (Cohen, 2010; Sugumaran, 2010). Les lipides sont considérés comme la source d'énergie la plus importante chez les insectes. La quantité des lipides disponible pour les réserves semble être la résultante d'un équilibre entre la nutrition et la demande énergétique pour de différents processus comme la croissance et surtout pour fournir de l'énergie durant de longues périodes de non alimentation (Beenackers *et al.*, 1981).



Dans la présente étude, le kinoprène a été appliqué avec deux concentrations létales (CL_{50} et CL_{90}) à l'égard des larves du quatrième stade de *Cx. pipiens*. Après traitement, une augmentation des contenus des glucides dans le ceps entier chez les séries traitées a été observée. Cela peut être la conséquence d'une néoglucogenèse. Tandis que le kinoprène a montré une déplétion des contenus des protéines et des lipides. Cette diminution peut être attribuée au métabolisme des protéines comme mécanisme de compensation sous des conditions stressantes (Devi & Piska, 2006), ou à une incorporation détériorée des acides aminés dans les chaînes polypeptidiques (Katherine *et al.*, 2007). Les modifications métaboliques observées dans la présente étude sont causées par le système hormonal et les neurosecrétions (Gade *et al.*, 1997) modifiés sous l'effet du kinoprène. Face à une action des RCIs, quelques auteurs ont rapporté une élévation des contenus des métabolites chez quelques espèces d'insectes, tandis que d'autres ont rapporté des résultats opposés. Ces résultats contradictoires peuvent être dues aux différences de sensibilité entre espèces, la puissance des RCIs ou du stade de développement considéré (Ghoneim *et al.*, 2003).

4.6. Effets du kinoprène sur la reproduction

L'HJ est une hormone clé dans la régulation des plusieurs aspects de la reproduction chez les insectes incluant la vitellogenèse, la maturation des ovocytes et la croissance des ovaires (Riddiford, 2012). La vitellogenèse et la maturation des ovaires chez les crickets adultes sont contrôlées par l'HJ et les ecdystéroïdes (De Loof *et al.*, 2001). Chez les orthoptères, l'hormone juvénile est impliquée dans le contrôle de la maturation ovarienne (Strambi *et al.*, 1997). Certaines études ont démontré que la présence artificielle de l'ecdysone inhibe l'action gonotrophique de l'HJ. Chez *Ae. aegypti*, l'HJ stimule les compétences des corps gras pour la synthèse de la vitellogénine, tandis que l'20-hydroxyecdysone (20E) régule son expression après le repas sanguin (Bai *et al.*, 2010 ; Shin *et al.*, 2012).

Après l'émergence des moustiques femelles, l'HJ procède au développement folliculaire (Gwadz & Spielman 1973), elle stimule également l'activité des glandes accessoires mâles (Girardie, 1991). Après le repas sanguin, les niveaux de l'HJ diminuent et augmentent encore une fois après la ponte (Noriega, 2004). Durant la phase de la diminution des teneurs de l'HJ, les follicules exposés à l'ecdysone se développent (Hagedorn *et al.*, 1979). Les neurohormones *ovary ecdysteroidogenic hormone* (OEH) et *insulin like peptides* (ILPs) transportés par l'hémolymphe jusqu'aux ovaires, stimulent la production de l'hormone ecdysone (Hagedorn *et al.*, 1975 ; Wen *et al.*, 2010 ; Gulia-Nuss *et al.*, 2011). Les ecdystéroïdes (spécifiquement 20E) atteignent typiquement leur maximum autour d'un jour



après l'ingestion du sang, et diminuent lentement aux niveaux basaux à 36h (Attardo *et al.*, 2005). L'application de l'HJ augmente les concentrations des ecdystéroïdes chez les femelles de moustiques après le repas sanguin (Bai *et al.*, 2010).

Dans le présent travail, le dosage des principaux constituants biochimiques (protéines, glucides et lipides) ovariens et testiculaires réalisé dans des ovaires et des testicules des adultes mâles et femelles (CL₅₀ et CL₉₀) chez *Cx. pipiens*, révèle une modification significative de la composition biochimique chez tout les âges étudiés (0, 2 et 4 jours) en fonction du traitement par le kinoprène : une diminution des taux des protéines et des lipides et une augmentation des taux des glucides ovariens et testiculaires. De plus, il révèle une réduction des paramètres biométriques des gonades. Le diflubenzuron a provoqué une réduction du taux des métabolites ovariens et testiculaires chez *T. molitor* (Soltani-Mazouni & Soltani, 1992), une augmentation de la résorption des ovocytes et diminution du poids sec ainsi que le contenu ovarien en métabolites chez *Oxya japonica* (Lim & Lee, 1981). Aussi, le pyriproxifène diminue le taux des protéines des gonades traités par rapport aux témoins chez *Plodia interpunctella* (Lepidoptera) (Ghasemi *et al.*, 2010). On considère aussi le métabolisme de protéine étant un des événements physiologiques impliqués dans le mécanisme compensatoire dans les conditions de stress (Devi & Piska, 2006 ; Yaji *et al.*, 2011). Dans une autre étude concernant l'activité de pyriproxifène sur *Cx. pipiens*, il a été mentionné une élimination de la production des moustiques pendant 6 jours après son application dans le gîte prospecté (Michaelakis *et al.*, 2009). De plus, le methoprène appliqué à des adultes femelles d'*Ae. aegypti* provoque un blocage folliculaire (Judson & Lumen, 1976). Il affecte aussi le développement ovarien par une réduction de la longueur des ovaires chez les femelles de moustiques, en gardant les ovocytes en petites taille, similaire à leur volume avant le repas sanguin, incapables de se développer en œufs (Brabant, 2012). Le kinoprène testé sur *Bombus terrestris* (Diptera) avec une faible concentration (0,0650 mg ai/L) a eu un effet stimulateur sur la reproduction représenté par le nombre élevé des œufs dans les ovaires des traités par rapport au témoins (Mommaerts *et al.*, 2006). Il a été démontré que les contenus des protéines ont été diminué aussi bien dans les ovaires de *Plodia interpunctella* (Lepidoptera) traités par le pyriproxifène (Ghasemi *et al.*, 2010) que de *Cydia pomonella* après application du diflubenzuron (Soltani & Soltani-Mazouni, 1992).



CONCLUSION ET PERSPECTIVES



CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La première partie de la présente étude a été consacrée à l'identification des espèces de moustiques dans la région de Souk-Ahras entre décembre 2011 et novembre 2012. Des inventaires ont été effectués dans 4 sites différents (Souk-Ahras ville, Hanancha, Sedrata et Ain Soltane). Les prospections menées sur terrain, ont permis d'inventorier 16 espèces de Culicidae appartenant à 5 genres (*Culex*, *Culiseta*, *Aedes*, *Orthopodomyia* et *Anopheles*).

Principale intervention pour la réduction des risques engendrés par les moustiques, la lutte anti-vectorielle par les insecticides conventionnels (carbamate, organophosphorés et pyréthriinoïdes) reste à ce jour, le seul recours. Toutefois, beaucoup d'obstacles se dressent devant ces méthodes d'intervention. Pour contrôler les insectes nuisibles tout en préservant le maximum le milieu naturel, l'accès aux nouvelles approches est une nécessité écologique. Dans cette optique, notre second axe de recherche s'est orienté vers l'évaluation d'un analogue de l'hormone juvénile (AHJ), kinoprène, afin d'offrir une compréhension préliminaire de son rôle à l'égard de *Cx. pipiens* L. (Diptera : Culicidae).

En premier, on a déterminé les paramètres de létalité du kinoprène par son application à différentes concentrations (162,5 à 650 µg/L) contre les larves du quatrième stade de *Cx. pipiens* nouvellement exuviées pendant 24 h selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé. Les concentrations létales estimées sont la $CL_{50} = 246,8$ µg/L et la $CL_{90} = 524,44$ µg/L. Malgré sa faible toxicité par rapport aux autres AHJs, le kinoprène est considéré comme une alternative au pyriproxifène (forte toxicité vis-à-vis les organismes aquatiques) et au methoprène (photodégradable).

Des expérimentations menées *in vitro* sur la toxicité comparée du kinoprène et du méthoxyfenozide, sur trois lignées cellulaires (S2, CF-203 et Sf9) ont montré que le kinoprène est plus efficace sur l'inhibition de la prolifération cellulaire par rapport au méthoxyfenozide, et que la lignée S2 est plus sensible par rapport aux deux autres (Sf9 et CF-203)

Les deux concentrations létales du kinoprène, précédemment déterminées, ont été testées sur des larves du quatrième stade ou des œufs nouvellement pondus de *Cx. pipiens*. Nos résultats suggèrent que la croissance et le développement sont perturbés sous l'effet du traitement. Globalement, le kinoprène a allongé la durée de développement et il a réduit le volume corporel des différents stades de *Cx. pipiens*.



Des études ont été portées sur les gonades mâles et femelles de *Cx. pipiens*. Le kinoprène a perturbé la morphométrie et la biochimie des gonades. Un effet plus marqué est observé au 4^{ème} jour après l'émergence, suggérant une interférence avec la spermatogénèse et un effet attendu sur le potentiel reproducteur. Nos résultats fournissent une confirmation appréciable à propos de cet AHJ qui possède un potentiel de contrôle de moustiques tout en préservant l'environnement.

Notre enquête entomologique représente un pas vers l'élaboration d'une base de données complète, de manière à établir une liste définitive des culicidés dans la région de Souk-Ahras, qui nécessitent une continuité dans une optique épidémiologique. Les principales perspectives de recherche qui apparaissent à l'issue de cette thèse concernent l'application de nouvelles approches dans l'inventaire des culicidés (étude spatiotemporelle, morphologie, biologie moléculaire...) pour mieux comprendre la dynamique des populations de ces arthropodes. Des études complémentaires sur la cible moléculaire du kinoprène sont nécessaires pour élucider le mécanisme exact entrant en jeu. Ce travail mériterait aussi d'être approfondi par une étude de la descendance des individus traités par le kinoprène. Dans la même perspective, une évaluation plus fine à travers un dosage des ecdystéroïdes ainsi qu'une réalisation des coupes histologiques dans les gonades peut fournir des données précieuses pour apprécier le mécanisme d'action du kinoprène sur la reproduction. Néanmoins, dans un monde où la sauvegarde de l'environnement revêt une importance accrue, l'efficacité seule d'un larvicide n'est plus un critère suffisant pour décider ou non de la réussite d'une campagne de lutte. Des études ultérieures sur d'autres espèces sont indispensables et l'utilisation de mixtures de plusieurs RCIs est une option recommandée.



REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES



REFERERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Ent.* 18: 265-267.
- Abdullah M.A., Merden A.I., 1995) Distribution and ecology of the mosquito fauna in Southwestern Saudi Arabia. *J. Egypt. Soc. Parasitol.* 25(3): 815-837.
- Adebote D.A., Oniye S.J., Ndams I.S., Nache K.M., 2006. The breeding of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in peridomestic containers and implication in yellow fever transmission in villages around Zaria, Northern Nigeria. *J. Entomol.* 3(2): 180-188.
- Afolabi O.J., Simon-Oke I.A., Osomo B.O., 2013. Distribution, abundance and diversity of mosquitoes in Akure, Ondo State, Nigeria. *J. Parasit. and Vector Biol.* 5(10): 132-136.
- Ammar I.M.A., 1983. The delayed effects of sublethal concentrations of the JHA, methoprene and trifluron on development and reproduction of Colorado potato beetle *Leptinotarsa decemlineata* Say. *Zeitschrift für Angewandte Entomologie.* 96 (5): 42-47.
- Amraoui F., 2012. Le moustique *Culex pipiens*, vecteur potentiel des virus West Nile et fièvre de la vallée du Rift dans la région du Maghreb, Thèse de doctorat. L'université mohammed V-AGDAL. Maroc. pp: 105.
- Anonyme, 1983. Informal consultation on insect growth regulators. WHO/VBC/83.
- Anonyme, 2004. Info insectes-Moustique (Toile des insectes du Québec-Insectarium). Adresse URL : [http : // www.toile des insectes.qc.ca./infoinsectes/fiches/ficfiche 18 moustique. Htm.](http://www.toile-des-insectes.qc.ca/infoinsectes/fiches/ficfiche_18_moustique.htm)
- Attardo G., Hansen I., Raikhel A., 2005. Nutritional regulation of vitellogenesis in mosquitoes: implications for autogeny. *Insect Biochem Molec.* 35: 661-675.
- Bagnouls F., Gaussen H., 1953. Saison sèche et indice xérothermique. Documents pour les cartes des productions végétales, t. III, vol. I, art. 8, 47p. Toulouse.
- Bai H., Gelman D.B., Pallia S.R., 2010. Mode of action of methoprene in affecting female reproduction in the African malaria mosquito, *Anopheles gambiae*. *Pest Manag. Sci.* 66: 936-943.
- Bakwo E., Akono P., Belong P., Messi J., 2009. Impact des aménagements piscicoles sur le pullulement culicidien à Yaoundé, Cameroun. *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology.* 62(3): 109-114.
- Brabant P., 2012. Effects of methoprene on the survivorship of adult Aedes mosquitoes: a strategy or inactivating released mosquitoes. Master of Science. College of Agriculture. University of Kentucky. *Theses and Dissertations--Entomology.* Paper 1.



- Beenakers A.M.T.H., Vander Host D.G., Van Marrewijk W.J.A., 1985. Insect lipids and lipoproteins and their role in physiological process. *Prog. Lipid. Res.* 24: 19-67.
- Bendali F., Djebbar F., Soltani N., 2001. Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* (L.) dans des conditions de laboratoire. *Parasitica.* 57(4): 255-265.
- Berti J., González J., Navarro-Bueno E., Zoppi E., Gordon E., Delgado L., 2010. Estacionalidad de la densidad larval del mosquito *Anopheles aquasalis* (Diptera: Culicidae) y otros insectos asociados a su hábitat en Sucre, Venezuela. *Rev. biol. trop.* 58(2): 777-787.
- Berchi S., 2000. *Bioécologie de Culex pipiens L.* (Diptera : Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de luttés. Thèse de Doctorat des Sciences, option Entomologie. Université de Constantine, Algérie, 133 p.
- Bouabida H., Djebbar F., Soltani N., 2012. Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology.* 65: 99-103.
- Bouaziz A., Boudjelida H., Soltani N., 2011. Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Ann. Biol. Res.* 2(3): 134-142.
- Boudjelida H., Bouaziz A., Soin T., Smaghe G., Soltani N., 2005. Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pest. Biochem. Physiol.* 83(2/3): 115-123.
- Boukraa S., Baba Aissa N., Abdelaziz B., Ali Ben Ali-Lounaci Z., Doumandji S., Frédéric F., 2013. Les moustiques (Diptera : Culicidae) de la région du M'Zab-Ghardaïa, Algérie : biodiversité et importance médico-vétérinaire. Conference Paper. In proceeding of: 11ème journée entomologique de Gembloux, At Gembloux, Belgique.
- Boulkenafet F., 2006. Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Mémoire de magister en Entomologie. Université Mentouri. Constantine, Algérie. 192p.
- Boussès P., Dehecq J.S., Brengues C., Fontenille D., 2013. Inventaire actualisé des moustiques (Diptera : Culicidae) de l'île de La Réunion, océan Indien. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 106: 113-125.
- Bradford M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principal of protein binding. *Analyt. Biochem.* 72: 248-254.



- Brunhes J., Rhaim A., Geoffroy B., Angel G., Hervy J.P., 1999. Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne. *Logiciel de l'Institut de Recherche et de Développement de Montpellier (France)*.
- Buckner E.A., Blackmore M.S., Golladay S.W., Covich A.P., 2011. Weather and landscape factors associated with adult mosquito abundance in southwestern Georgia. *U.S.A. J. Vector Ecol.* 36: 269-278.
- Burke R., Barrera R., Lews M., Kluchinsky T., Claborn D., 2010. Septic tanks as larval habitats for the mosquitoes *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus* in Playa-Playita, Puerto Rico. *Medical and Veterinary Entomology.* 24: 117-123.
- Chao A., "Species richness estimation," in *Encyclopedia of Statistical Sciences*, Balakrishnan N., Read C. B., & Vidakovic B., Eds., JohnWiley & Sons, New York, NY, USA, 2004 in
- Ulisses E. C. Confalonieri and Cristina Costa Neto, 2012. Diversity of Mosquito Vectors (Diptera: Culicidae) in Caxiuana, Parà, Brazil. *Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases* Volume 2012, Article ID 741273, 8 pages.
- Chase J.M., Shulman R.S., 2009. Wetland isolation facilitates larval mosquito density through the reduction of predators. *Ecol. Entomol.* 34: 741–747.
- Chaves L.F., Kitron U.D., 2011. Weather variability impacts on oviposition dynamics of the southern house mosquito at intermediate time scales. *Bull. Entomol. Res.* 101(6): 633-641.
- Chuang T.W., Hildreth M.B., Vanroekel D.L., Wimberly M.C., 2011. Weather and land cover influences on mosquito populations in Sioux Falls, South Dakota. *J. Med. Entomol.* 48(3): 669-679.
- Chuang T.W., Ionides E.L., Knepper R.G., Stanuszek W.W., Walker E.D., Wilson M.L., 2012. Cross-correlation map analyses show weather variation influences on mosquito abundance patterns in Saginaw County, Michigan, 1989–2005. *J. Med. Entomol.* 49(4): 851-858.
- Cloyd R.A., 2003. Effect of insect growth regulators on *Citrus mealybug* (*Planococcus citri* (Homoptera: Pseudococcidae)) egg production. *HortScience.* 38 (7): 1397-1399.
- Cohen E., 2010. Chitin biochemistry: Synthesis, hydrolysis and inhibition. *Adv. Insect Physiol.* 38: 5-74.
- Daget J., 1976. Les modèles mathématiques en écologie. Coll. D'écologie. Ed. Masson, Paris, 172p.
- Dajoz R., 1975. Précis d'écologie Ed. Bordas Paris : 549p.



- Dean S.R., Meola R.W., 1997. Effect of Juvenile Hormone and Juvenile Hormone Mimics on Sperm Transfer from the Testes of the Male Cat Flea (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Med. Entomol.* 34 (4): 485-488.
- Decombel L., Tirry L., Smaghe G., 2004. Action of 24-epibrassinolide on a cell line of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology.* 58: 145–156.
- De Groot J.P., Sugumaran R., Brend S.M., Tucker B.J., Bartholomay L.C., 2008. Landscape, demographic, entomological, and climatic associations with human disease incidence of West Nile virus in the state of Iowa, USA. *Int. J. Health Geogr.* 7-19.
- De Loof A., Baggerman G., Breuer M., Claeys I., Cerstiaens A., 2001. Gonadotropins in insects: an overview. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 47: 129-138.
- Devi J.A., Piska R.S., 2006. Effect of fluoride on tissues proteins of freshwater cat fish, *Clarias batrachus* Linn. *J. Aqua. Biol.* 21: 184-187.
- Dhadialla T.S., Retnakaran A., Smaghe G., 2005. Insect growth and development disrupting insecticides. In : Gilbert, L.I., Kostas, I., Gill, S. (Eds.), *Comprehensive Insect Molecular Science*, Vol. 6. Elsevier, Oxford, UK, pp. 55-116.
- Djebbar F., 2008. Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide et methoxyfenozide) à l'égard de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* : toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse de doctorat en Biologie Animale. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie. 168 p.
- Dreux P., 1980. Précis d'écologie. Ed. Presses universitaires de France, Paris, 231 p.
- Duchateau G., Florkin M., 1959. Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem.* 67: 306-314.
- Dohm D.J., O'Guinn M.L., Turell M.J., 2002. Effect of environmental temperature on the ability of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to transmit West Nile virus. *J. Med. Entomol.* 39: 221–225.
- Dumser J.B., 1980. Le règlement de spermatogenèse dans insectes. *Ann. Rev. Entomol.* 25: 341-369.
- El Alaoui M., 1985. Contribution à l'étude de la faune culicidicime de la subéraie en Pays Zaei (Maroc). Aspect écophysiological. D.E.A. Université P. Sabatier Toulouse: 86 p.
- El-Bokl M.M., Baker R.F.A., El-Gammal H.L., Marwa. Z., Mahmoud M.Z., 2010. Biological and histopathological effects of some insecticidal agents against red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus*. *Egypt. Acad. J. biolog. Sci.* 1(1): 7-22.



- Emlen D.J., Nijhout H.F., 1999. Hormonal control of horn length dimorphism in the dung beetle *Onthophagus taurus* (Coleoptera: Scarabeidae). *J. Insect Physiol.* 45: 45-53.
- Farjana T., Tuno N., 2013. Multiple Blood Feeding and Host-Seeking Behavior in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 50(4): 838-846.
- Farajollahi A., Fonseca D.M., Kramer L.D., Marm Kilpatrick A., 2011. 'Bird biting' mosquitoes and human disease: a review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes in epidemiology. *Infect. Genet. Evol.* 11: 1577-1585.
- Fisher R.A., Yates F., 1957. Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research, 5th ed. London: Oliver & Boyd.
- Finney D.J., 1971. Probit analysis. 3d ed., Cambridge University Press, London and New York.
- Gardner A.M., Hamer G.L., Hines A.M., Newman C.M., Walker E.D., Ruiz M.O., 2012. Weather Variability Affects Abundance of Larval *Culex* (Diptera: Culicidae) in Storm Water Catch Basins in Suburban Chicago. *J. Med. Entomol.* 49(2): 270-276.
- Gäde G., 2004. Regulation of intermediary metabolism and water balance of insects by neuropeptides. *Annu. Rev. Entomol.* 49: 93-113.
- Gäde G., Hoffman K.H., Spring J.H., 1997. Hormonal regulation in insects: Facts, gaps, and future directions. *Physiol. Rev.* 77: 963 -1032.
- Ghasemi A., Sandi J.J., Ghadamyari M., 2010. Physiological and biochemical effect of Pyriproxyfen on Indian meal moth *Plodia interpunctella* (HUBNER) (Lepidoptera : Pyralidae). *J. of Plant Protec. Res.* 50: 416-422.
- Ghoneim K.S., Al-Dali A.G., Abdel-Ghaffar A.A., 2003. Effectiveness of lufenuron (CGA-184699) and diofenolan (CGA-59205) on the general body metabolism of the red palm weevil, *Rhynchophorus ferrugineus* (Curculionidae: Coleoptera). *Pakistan J. Biol. Sci.* 6(13): 1125-1129.
- Gilbert L.I., Granger N.A., Roe R.M., 2000. The juvenile hormones: Historical facts and speculations on future research directions. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 30: 617-644.
- Girardie A., 1991 : Régulation endocrinienne du développement, de la reproduction et du polymorphisme phasaire. La lutte anti – acridienne. Ed. AUPELF – UREF , John Libbey Eurotent , Paris C , pp : 119-127.
- Goldsworthy A.C., Mordue W., Guthkelch J., 1972. Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 18: 306-314.



- Gopalakrishnan R., Das M., Baruah I., Veer V., Dutta P., 2013. Physicochemical characteristics of habitats in relation to the density of container-breeding mosquitoes in Asom, India. *J. Vector Borne Dis.* 50(3): 215-219.
- Gulia-Nuss, M., Robertson A., Brown M., Strand M., 2011. Insulin-like peptides and the target of rapamycin pathway coordinately regulate blood digestion and egg maturation in the mosquito *Aedes aegypti*. *Plos One*.
- Gwadz R.W., Spielman A., 1973. Corpus allatum control of ovarian development in *Aedes aegypti*. *J. Insect Physiol.* 19: 1441-1448.
- Hadjinicolaou J., Betzios B., 1972. *Biological Studies on Anopheles sacharovi Favr in Greece*. World Health Organisation, Geneva, Switzerland, p. 15.
- Hagedorn H., Oconnor J., Fuch M., Sage B., Schlaeger D., Bohm M., 1975. The ovary as a source of alpha ecdysone in an adult mosquito. *P. Natl. Acad. Sci. USA.* 72: 3255-3259.
- Hagedorn H.H., Shapiro J.P., Hanaoka K., 1979. Ovarian ecdysone secretion is controlled by a brain hormone in an adult mosquito. *Nature.* 282: 92-94.
- Hardin M.R., Benrey B., Coll M., Lamp W.O., Roderick G.K., Barbosa P., 1995. Arthropod pest Resurgence: an Overview of Potential Mechanisms. *Crop Protection.* 14: 3-18.
- Hamaidia H., 2004. Inventaire et biodiversité des Culicidae (Diptera, Nematocera) dans la région de Souk-Ahras et de Tébessa (Algérie). Mémoire de magister en Entomologie. Université Mentouri. Constantine, Algérie. 152p.
- Henrick C.A., 1995. Juvenoids. In: Godfrey CRA. (ed.): *Agrochemicals from natural products*. Dekker M, Inc, New York. 3: 147-214.
- Himmi O., Dakki M., Trari B., Elagbani M.A., 1995. Les Culicidae du Maroc. Clés d'identification avec données biologiques et écologiques. *Travaux de l'Institut Scientifique série Zoologie*, Rabat 44, 50 p.
- Huang J., Tian L., Abdou M., Wen D., Wang Y., Li S., Wang J., 2011. DPP-mediated TGF- β signaling regulates juvenile hormone biosynthesis by upregulating expression of JH acid methyltransferase. *Development.* 138: 2283-2291.
- Hui J.H.L., Benena W.G., Tobe S.S., 2013. Future perspectives for research on the biosynthesis of juvenile hormones and related sesquiterpenoids in Arthropod endocrinology and ecotoxicology. In: J. Devilliers (Ed.), *Juvenile hormone and juvenoids. Modeling biological effects and environmental fate*. CRC Press Taylor & Francis Group, New York, pp. 15-30.



- Ishaaya I., Yablonski S., Horowitz A.R., 1995. Comparative toxicology of two ecdysteroid agonists, RH-2485 and RH-5992, on susceptible and pyrethroid-resistance strains of the Egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. *Phytoparasitica*. 32: 139-145.
- Johnson M.F., Gómez A., Pinedo-Vasquez M., 2008. Land use and mosquito diversity in the Peruvian Amazon. *J. Med. Entomol.* 45:1023-1030.
- Judson C.L., Lumen H.Z., 1976. Some effects of juvenile hormone and analogues on ovarian follicles of the mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Med. Entomol.* 13: 197-201.
- Kaufmann C., Brown M.R., 2008. Regulation of carbohydrate metabolism and flight performance by a hypertrehalosaemic hormone in the mosquito *Anopheles gambiae*. *J. Insect Physiol.* 54: 367-377.
- Kamita S.G., Samra A.I., Liu J-Y., Cornel A.J., Hammock B.D., 2011. Juvenile Hormone (JH) Esterase of the Mosquito *Culex quinquefasciatus* is not a target of the JH Analog insecticide methoprene. PLoS ONE 6(12): e28392.DOI:10.1371/journal.pone.0028392.
- Karch S., Asidi N., Manzambi Z.M., Salaun J.J., 1993. La faune culicidienne et sa nuisance à Kinshasa (Zaïre). *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 86: 68-75.
- Khater HF., 2003. Biocontrol of some insects. Ph.D. Thesis. Moshtohor, Zagazig University. Benha Branch, Egypt.151p.
- Katherine N.P., Bjorn T.B., Stephen D.M., 2007. Effects of hexaxinone and atrazine on the physiology and endocrinology of smolt development in Atlantic salmon. *Aquat. Toxicol.* 84: 27-37.
- Kilpatrick A.M., 2011. Globalization, land use, and the invasion of West Nile virus. *Science* 334: 323-327.
- Klowden M.J. 2002. Physiological systems in insects. Academic Press. London.
- Konan N.S., Kouamé B., Bossoh A.M., Bekro J.M., Konan K.,M. Nemlin G.J., Pirat J-L, Bekro Y-A., 2011. Etude chromatographique et activité anti-oxydante de l'huile essentielle d'*Afraegle paniculata* (Rutaceae). *European Journal of Scientific Research*. 63(4): 482-488.
- Konopova B., Jindra M., 2008. Broad-Complex acts downstream of Met in juvenile hormone signaling to coordinate primitive holometabolism metamorphosis. *Development*. 135: 559-568.
- Krishnaraj T., 2011. The Effect of Water Quality and Aquatic Vegetation on West Nile Virus Vector Larval Abundance in Toronto and Region Wetlands and Stormwater Management Ponds. Toronto and Region Conservation Authority (TRCA). pp : 32.



- Kubera M., Holan V., Mathison R., Maes M., 2000. The effect of repeated amitriptyline and desipramine administration on cytokine release in C57BL/6 mice. *Psychoneuroendocrinology*. 25(8):785-797.
- Lambrechts L., Scott T.W., Gubler D.J., 2010. Consequences of the expanding global distribution of *Aedes albopictus* for dengue virus transmission. *Plos. Neglect. Trop. D.* 4:646.
- Landesman W.J., Allan B.F., Langerhans R.B., Knight T.M., Chase J.M., 2007. Inter-annual associations between precipitation and human incidence of West Nile virus in the United States. *Vector-borne Zoonotic Dis.* 7: 337-343.
- Leisnham P.T., Slaney D.P., Lester P.J., Weinstein P., 2005. Increased larval mosquito densities from modified land uses in the Kapiti region, New Zealand: vegetation, water quality, and predators as associated environmental factors. *Ecohealth*. 2: 313-322.
- Lim S.J., Lee S.S., 1981. The effect of starvation on hemolymph metabolites, fat body and ovarian development in *Oxya japonica* (Acrididae : Orthoptera). *J. Insect. Physiol.* 27: 93-96.
- Linton Y.M., Nisbet A.J., Mordue A.J., 1997. The effect of azadirachtin on the testes of desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.) *J. Insect Physiol.* 43: 1077-1084.
- Liu TX., 2003. Effects of a juvenile hormone analog, pyriproxyfen, on *Thrips tabaci* (Thysanoptera: Thripidae). *Pest. Mang. Sci.* 59: 904-912.
- Lounaci Z., Doumandji S., 2013. Biodiversité des Culicidae (Diptera, Nematocera) d'intérêt médical et vétérinaire du marais de Réghaia et Tizi Ouzou (Algerie). Communication orale. 11^{ème} Journée entomologique de Gembloux. Université de Liège.
- MacGregor M.E., 1929. The significant of pH in the development of mosquito larvae. *Parasitology*. 21: 132-157.
- Madder D.J., Surgeoner G.A., Helson B.V., 1983. Number of generations, egg production, and developmental time of *Culex pipiens* and *Culex restuans* (Diptera : Culicidae) in southern Ontario. *J. Med. Entomol.* 20(3): 275-287.
- Madhu S.K., Vijayan V.A., 2009. Laboratory evaluation of a juvenile hormone mimic, pyriproxyfen on *Culex quinquefasciatus* Say and *Aedes aegypti* Linn. At Mysore, India. *J. Commun Dis.* 41(3): 169-174.
- Magurran A.E., 2006. *Measuring Biological Diversity*, Princeton University Press.
- Mala A.O., Irungu L.W., Shililu J.I., Muturi E.J., Mbogo C.C., Njagi J.K., Githure J.I., 2011. Dry season ecology of *Anopheles gambiae* complex mosquitoes at larval habitats in two traditionally semi-arid villages in Baringo, Kenya. *Parasites & Vectors.* 4:25.



- Mosallanejad H., Smaghe G., 2009. Biochemical mechanisms of methoxyfenozide resistance in the cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. *Pest Manag. Sci.* 65: 736-737.
- Meola R.W., Dean S.R., Bhaskaran G., 2001. Effects of juvenile hormone on eggs and adults of the cat flea (Siphonaptera: Pulicidae). *J. Med. Entomol.* 38: 85-92.
- Messai N., Berchi S., Boulknaf F., Louadi K. 2010. Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera: Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). *Entomologie Faunistique-Faunistic Entomology.* 63(3): 203-206.
- Michaelakis A., Porichi A.E., Koliopoulos G., 2009. Activity of pyriproxyfen , an insect growth regulator, on *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). *Hellenic Plant Protection Journal.* 2: 41-46.
- Mirth C.K., Riddiford L.M., 2007. Size assessment and growth control: how adult size is determined in insects. *Bio. Essays.* 29: 344-55.
- Mommaerts V., Sterk G., Smaghe G., 2006. Bumblebees can be used in combination with juvenile hormone analogues and ecdysone agonists. *Ecotox.* 15: 513-521.
- Nelder M., Kesavaraju B., Farajollahi A., Healy S., Unlu I., Crepeau T., Ragavendran A., Fonseca D., Gaugler R., 2010. Suppressing *Aedes albopictus* , an Emerging Vector of Dengue and Chikungunya Viruses, by a Novel Combination of a Monomolecular Film and an Insect-Growth Regulator. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 82(5): 831-837.
- Nijhout H.F., 1994. Insect hormones. Princeton University Press, Princeton. Noriega, F.G. 2004. Nutritional regulation of JH synthesis: a mechanism to control reproductive maturation in mosquitoes. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 34: 687-693.
- Oh S., Min B., Logan B.E., 2004. Cathode performance as a factor in electricity generation in microbial fuel cells. *Environ. Sci. Technol.* 38(18): 4900-4904.
- Oyewole I.O., Momoh O.O., Anyasor G.N., Ogunnowo A.A., Ibidapo C.A., Oduola O.A., Obansa J.B., Awolola T.S., 2009. Physico-chemical characteristics of *Anopheles* breeding sites: Impact on fecundity and progeny development. *African J. of Envi. Sci. and Technol.* 3(12): 447-452.
- Palik B., Batzer D., Kern C., 2006. Upland forest linkages to seasonal wetlands: litter flux, processing, and food quality. *Ecosystems.* 9: 142-151.
- Parthasarathy R., Sun Z., Bai H., Palli S. R., 2010. Juvenile hormone regulation of vitellogenin synthesis in the red flour beetle, *Tribolium castaneum*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 40: 405-414.
- Pawar P.V., Pisale S.P., Sharma R.N., 1995. Effect of some new insect growth regulators on metamorphosis and reproduction of *Aedes aegypti*. *Indian J. Med. Res.* 101: 13-18.



- Pelizza S.A., Lopez Lastra C.C., Becne J.J., Bisara V., Garcia J.J., 2007. Effects of temperature, pH and Salinity on the infection of *Leptolegnia Capmany Seymour* (Peronosporomycetes) in mosquito larvae. *J. invertebrate Pathol.* 96(2): 133-137.
- Pursley S., Ashok M., Wilson T.G., 2000. Intracellular localization and tissue specificity of the Methoprene-tolerant (Met) gene product in *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 30: 839-845.
- Raikhel A.S., Dhadialla T.S., 1992. Accumulation of yolk proteins in insect oocytes. *Annu. Rev. Entomol.* 37: 217-251.
- Ramade F., 1984. Eléments d'écologie. Ecologie fondamentale. Ed. Mc Graw-Hill. Paris, 397p.
- Ravoahangimalala R.O., Randrianambinitsoa F.J, Tchuinkam T., Robert V., 2008. Paludisme en milieu urbain d'altitude à Antananarivo, Madagascar : bioécologie d'*Anopheles arabiensis*. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 101(4): 348-352.
- Rehimi N., 2004. Etude de la reproduction chez *Culex pipiens pipiens*. Aspects : morphologique, éthologique et physiologique. Effets de quelques inhibiteurs du développement sur quelques paramètres biologiques. Thèse de doctorat d'état en Sciences Naturelles. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie. 195 p.
- Rehimi N., Soltani N., 1999. Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae): Effects on development and cuticle secretion. *J. Appl. Entomol.* 123: 437-441.
- Rehimi N., Soltani N., 2002. Laboratory evaluation of andalin, an insect growth regulator interfering with cuticle deposition, against mosquito larvae. *Rev. Sci. Tech.* 18: 106-110.
- Reiskind M.H., Wilson M.L., 2008. Interspecific competition between larval *Culex restuans* theobald and *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) in Michigan. *J. Med. Entomol.* 45: 20-27.
- Reiter M.E., Lapointe D.A., 2007. Landscape factors influencing the spatial distribution and abundance of mosquito vector *Culex quinquefasciatus* (Diptera:Culicidae) in a mixed residential-agricultural community in Hawaii. *J. Med. Entomol.* 44: 861-868.
- Resseguier P., 2011. Contribution à l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens* . Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole nationale vétérinaire de Toulouse-ENVT. 80p.
- Retnakaran A., Krell P., Feng Q., Arif B., 2003. Ecdysone agonists: mechanism and importance in controlling insect pests of agriculture and forestry. *Arch Insect Biochem Physiol* 54: 187-199 In Smagghe G. & Swevers L., 2012. Cell-based screening systems for insecticides. *Advanced technologies for managing insect pests.* p.107-134



- Riddiford L.M., 2008. Juvenile hormone action: a 2007 perspective. *J. Insect Physiol.* 54: 895-901.
- Riddiford L.M., 2012. How does juvenile hormone control insect metamorphosis and reproduction? *Gen. Comp. Endocrinol.* 179(3): 477-484.
- Rioux J.A., Juminer B., Kchouk M., Croset H., 1965. Présence du caractère autogène chez *Culex pipiens pipiens* L. dans un biotope épigé de l'île de Djerba. *Arch. Inst. Pasteur Tunis.* 42: 1-8.
- Rodriguez-Ortega M.J., Grosvik B.E., Rodriguez-Ariza A. Goksoyr A., Lopez-Barea J., 2003. Changes in protein expression profiles in bivalve molluscs (*Chamaelea gallina*) exposed to four model environmental pollutants. *Proteomics.* 3 (8): 1535-1543.
- Rothwangl K.B., Cloyd R.A., Wiedenmann R.N., 2004. Effects of Insect Growth Regulators on Citrus Mealybug Parasitoid *Leptomastix dactylopii* (Hymenoptera: Encyrtidae). *J. of Econ. Entomol.* 97: 1239-1244.
- Ruberson J.R., Nemoto H., Hirose Y., 1998. Pesticides and Conservation of Natural Enemies in Pest Management. In: Barbosa P. (ed.) Conservation Biological Control. Academic Press, San Diego, CA; 207-220.
- Ruiz M.O., Chaves L.F., Hamer G.L., Sun T., Brown W.M., Walker E.D., Haramis L., Goldberg T.L., Kitron U.D., 2010. Local impact of temperature and precipitation on West Nile virus infection in *Culex* species mosquitoes in northeast Illinois, USA. *Parasit. Vectors* 3: 19.
- Saenz-de-Cabeson F.J., Marco V., Zalom F.G., Perez-Moreno I., 2005. Effect of methoxyfenozide on *Lobesia botrana* Den and Schiff (Lepidoptera : Tortricidae), egg, larval and adult stages. *Pest. Manag. Sci.* 61: 1133-1137.
- Sedaghat M.M., Linton Y.M., Nicolescu G., Smith L., Koliopoulos G., Zounos A.K., 2003. Morphological and molecular characterization of *Anopheles (Anopheles) sacharovi* Favre, a primary vector of malaria in the Middle East. *Syst. Entomol.* 28: 241-256.
- Satoh G.T, Plapp Jr F.W., Slosser J.A. 1995. Potential of juvenoid insect growth regulators for managing cotton aphids (Homoptera: Aphididae). *J. Econ. Entomol.* 88: 254:258.
- Seguy., 1951. Ordre des Diptères (Diptera Linné, 1758): 449-744 in Grasse P-P., 1951 – Traité de zoologie, anatomie, système nerveux, biologie. Insectes supérieurs et Hémiptéroïdes. Tome X, fasc., 975 p.
- Sehnal F., 1983. Juvenile hormone analogues. In: *Endocrinology of Insects*, eds. RGH Downer, H Laufer, pp. 657-672. New York: Alan R. Liss.



- Severson D.W., Behura S.K., 2012. Mosquito genomics: progress and challenges. *Annu. Rev. Entomol.* 57: 143-166.
- Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyneck C., New Hall et Feidman L., 1966. A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.* 19: 415-528.
- Shin S.W., Zou Z., Saha T.T., Raikhel A.S., 2012. bHLH-PAS heterodimer of methoprene-tolerant and Cycle mediates circadian expression of juvenile hormone-induced mosquito genes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 109(41): 16576-16581.
- Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Hevry J.P., Rhaïem A., Brunhes J., 2001. Moustiques d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification.
- Slama K., 1999. The history and current status of juvenoids. Proceedings of the 3rd International Conference on Urban Pests. Wm Robinson H, Rettich F, Rambo GW. (Eds); 1-25.
- Soin T., Iga M., Swevers L., Rouge P., Janssen C.R., Smaghe G, 2009. Towards Coleoptera-specific high-throughput screening systems for compounds with ecdysone activity: development of EcR reporter assays using weevil (*Anthonomus grandis*)-derived cell lines and in silico analysis of ligand binding to *A. grandis* EcR ligand-binding pocket. *Insect Biochemistry and Molecular Biology.* 39: 523-534.
- Soin T., De Geyter E., Mosallanejad H., Iga M., Martín D., Ozaki S., Kitsuda S., Harada T., Miyagawa H., Stefanou D., Kotzia G., Efrose R., Labropoulou V., Geelen D., Iatrou K., Nakagawa Y., Janssen C.R., Smaghe G., Swevers L., 2010. Assessment of species specificity of molting accelerating compounds in Lepidoptera: comparison of activity between *Bombyx mori* and *Spodoptera littoralis* by *in vitro* reporter and *in vivo* toxicity assays. *Pest. Manag. Sci.* 66: 526-535.
- Soltani N., Rehim N., 2002. Laboratory evaluation of Andalin, a new insecticide interfering with cuticle deposition, against *Culex pipiens*. *Algerian J. of Med.* 4(1): 28-33.
- Soltani N., Soltani-Mazouni N., 1992. Diflubenzuron and oogenesis in the codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Pestic. Sci.* 34: 257-261.
- Soltani-Mazouni N., Khebbeb M.E.H., Soltani N., 1999. Production d'ecdystéroïdes ovariens durant la maturation des oocytes chez *Tenebrio molitor*. *Ann. Soc. Entomol. France.* 35: 82-86.
- Strambi A., Strambi C., Cayre M., 1997. Hormonal control of reproduction and reproductive behavior in crickets. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35: 393-404.



- Sugumaran M., 2010. Chemistry of cuticular sclerotization. *Advances in Insect Physiology*. 39: 151-209.
- Suman D.S., Parashar B.D., Prakash S., 2010. Efficacy of Various Insect Growth Regulators on Organophosphate Resistant Immatures of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) from Different Geographical Areas of India. *Journal of Entomology*. 7: 33-43.
- Suman D.S., Wang Y., Anwar L., Bilgrami A.L., Gaugler R., 2013. Ovicidal activity of three insect growth regulators against *Aedes* and *Culex* mosquitoes. *Acta Tropica*. 128: 103-109.
- Sun X., Barrett B.A., Biddinger D.J., 2000. Fecundity and fertility reductions in adult leafrollers exposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonists tebufenozide and methoxyfenozide. *Ent. Exp. Appl.* 94: 75-83.
- Sundaram M., Palli S., Krell P., Sohi S., Dhadialla T., Retnakaran A., 1998. Basis for selective action of a synthetic molting hormone agonist RH-5992 on lepidopteran insects. *Insect Biochem. Molec.* 28: 693-704.
- Swaroop S., 1957. Statistical Methodology in Malaria Work. World Health Organization. p246.
- Swaroop S., Gilroy A.B., Uemura K., 1966. Statistical methods in malaria eradication. Geneva: World Health Organisation.
- Swevers L., Kravariti L., Ciolfi S., Xenou-Kokoletsi M., Ragoussis N., Smaghe G., Nakagawa Y., Mazomenos B., Iatrou K., 2004. A cell-based high-throughput screening system for detecting ecdysteroid agonists and antagonists in plant extracts and libraries of synthetic compounds. *FASEB J.* 18: 134-136.
- Szopa T.M., Lenoir R.J.J., Yuncker C., Happ G.M., 1985. Ecdysteroids accélèrent mitoses dans les glandes accessoires (complices) de scarabée pupae. *Dev. Biol.* 107: 675-682.
- Takeda T., Whitehouse C.A., Brewer M., Gettman A.D., 2003. Arbovirus surveillance in Rhode Island: assessing potential ecological and climatic correlates. *J. Am. Mosq. Control Assoc.* 19: 179-189.
- Taraphdar D., Sarkar A., Chatterjee S., 2012. Mass scale screening of common arboviral infections by an affordable, cost effective RT-PCR method, Asian Pac. *J. Trop. Biomed.* 2: 97-101.
- Thiboutot M.M., Kannan S., Kawalekar O.U., Shedlock D.J., Khan A.S., Sarangan G., 2010. Chikungunya: a potentially emerging epidemic? *Plos Neglect Trop D.* 4: 623.



- Timmermann S.E., Briegel H., 1999. Larval growth and biosynthesis of reserves in mosquitoes. *J. Insect Physiol.* 45: 461-470.
- Tine-Djebbar F., Soltani N., 2008. Activité biologique d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue sur *Culiseta longiareolata*: analyses morphométrique, biochimique et énergétique. *Synthèse.* 18: 23-34.
- Tine-Djebbar F., Larhem A.B., Soltani N., 2011. Enzyme immunoassay measurements of the molting hormone in different post-embryonic stages of two mosquito species, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *African Journal of Biotechnology.* 10(67): 15195-15199.
- Toto J.C., Besnard P., Le Mire J., Almeida D. S. I., Dos Santos M. A., Fortes F., Foumane V., Simard F., Awono-Ambene H.P., Carnevale P., 2011. Premiers tests OMS d'évaluation de la sensibilité aux insecticides chez *Anopheles gambiae* et *Culex quinquefasciatus* à Lobito, Angola. *Bulletin de la Société de pathologie exotique.* 104(4): 307-312.
- Wen Z., Gulia M., Clark K., Dhara A., Crim J., Strand M., Brown M., 2010. Two insulin-like peptide family members from the mosquito *Aedes aegypti* exhibit different biological and receptor binding activities. *Mol. Cell. Endocrinol.* 328: 47-55.
- Wheelock C.E., Nakagawa Y., Harada T., Oikawa N., Akamatsu M., Smaghe G., Stefanou D., Iatrou K., Swevers L., 2006. High-throughput screening of ecdysone agonists using a reporter gene assay followed by 3-D QSAR analysis of the molting hormonal activity. *Bioorg. Med. Chem.* 14: 1143-1159.
- Wilson T.G., Fabian J., 1986. A *Drosophila melanogaster* mutant resistant to a chemical analog of juvenile hormone. *Dev. Biol.* 118: 190-201.
- Yadav P., 2009. Factors affecting mosquito populations in created wetlands. THESIS Presented in Partial Fulfillment of the Requirements for the Master of Science in the Graduate School of The Ohio State University. 61pp.
- Yee D.A., Juliano S.A., 2006. Consequences of detritus type in an aquatic microsystem: effects on water quality, micro-organisms and performance of the dominant consumer. *Freshw. Biol.* 51:448-459.
- Venables W.N., Ripley B.D., 2002. *Modern Applied Statistics with S.* Fourth Edition. Springer, New York. ISBN 0-387-95457-0.
- Vinogradova O.I., 1999. Slippage of water over hydrophobic surfaces. *Int. J. Miner. Process.* 56: 31-60.



- Vinogradova E.B., 2000. *Culex pipiens pipiens* mosquitos: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. Sofia: Pensoft Publishers.
- Wang J., Ogden N.H., Zhu H., 2011. The impact of weather conditions on *Culex pipiens* and *Culex restuans* (Diptera: Culicidae) abundance: a case study in peel region. *J. Med. Entomol.* 48(2): 468-475.
- Westerlund S.A., 2004. Measuring juvenile hormone and ecdysteroid titers in insect haemolymph simultaneously by LC-MS: The basis for determining the effectiveness of plant-derived alkaloids as insect growth regulators. Ph.D. Thesis. University of Bayreuth, pp. 92.
- Zhou X., Riddiford L.M., 2002. Broad specifies pupal development and mediates the ‘*status quo*’ action of juvenile hormone on the pupale-adult transformation in *Drosophila* and *Manduca*. *Development* 129: 2259-2269.

RESUMES





RESUME

Selon nos propres prospections, l'étude de la biodiversité culicidienne est menée sur une année, de décembre 2011 à novembre 2012. Nos récoltes bimensuelles des larves de Culicidae sont effectuées par la méthode « dipping » dans quatre sites réparties en huit stations dans la région de Souk-Ahras (Est algérien). Au total, 5016 individus appartenant à cinq genres : *Culex*, *Aedes*, *Culiseta*, *Anopheles* et *Orthopodomyia* sont capturés, dont 4 846 *Culex*, 31 *Aedes*, 117 *Culiseta*, 20 *Anopheles* et 2 *Orthopodomyia*. *Cx. pipiens* avec un nombre de 3861 représente 76,97% de la faune totale.

La physiologie des insectes est régie par un équilibre hormonal complexe dans lequel l'hormone juvénile (HJ) joue un rôle important. Au dernier stade larvaire, la teneur en HJ est particulièrement faible dans le corps de l'insecte. Tout changement dans cet équilibre par les analogues de l'hormone juvénile perturbe la croissance et le développement de l'insecte visé. La présente étude vise à évaluer un analogue de l'hormone juvénile (AHJ), kinoprène (Enstar® 65% EC), à l'égard de *Cx. pipiens* L. (Diptera : Culicidae), espèce de moustique la plus abondante dans la région. En vue de déterminer les paramètres de létalité, la toxicité du kinoprène a été éprouvée par application à différentes concentrations (162,5 à 650 µg/L) dans l'eau sur des larves nouvellement exuviées pendant 24 h selon les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé. L'AHJ montre une activité insecticide directe sur les larves traitées du quatrième stade ($CL_{50} = 1287,4$ µg/L) et une action cumulée jusqu'à l'émergence des adultes ($CL_{50} = 246,8$ µg/L). La mortalité se manifeste après inhibition précoce du développement ou suite à une incapacité à s'exuvier. De plus, kinoprène a perturbé la croissance et le développement. Plusieurs types morphologiques sont observés et on note un prolongement de la durée des stades larvaire et nymphal. En parallèle, et pour accomplir nos études *in vivo*, nous avons établi des essais *in vitro* avec deux régulateurs de croissance d'insectes, kinoprène et méthoxyfenozide, sur trois lignées cellulaires (S2, CF-203 et Sf9). Nos résultats montrent que le kinoprène a plus d'activité par rapport au méthoxyfenozide, et que la lignée S2 est plus sensible par rapport aux deux autres (Sf9 et CF-203).

Dans une deuxième série d'expériences, l'action du kinoprène sur le développement de *Cx. pipiens*, a été testée à deux concentrations ($CL_{50} = 246,8$ µg/L et la $CL_{90} = 524,44$ µg/L) sur les larves du quatrième stade ou des œufs nouvellement pondus. L'impact du traitement a été examiné sur le poids et la morphométrie (longueur des ailes des adultes, largeur du thorax des larves et des pupes) des individus de différents stades. L'AHJ diminue significativement la taille corporelle des différents stades. Cependant, il n'a aucun effet significatif sur leurs



poids. De plus, les fortes valeurs sont signalées chez les femelles par rapport aux mâles chez les témoins et traitées et cela aussi bien pour la morphométrie que pour la biochimie. En plus, des paramètres biométriques (largeur et longueur) et biochimiques (glucides, lipides, protéines) des gonades des adultes mâles et femelles survivants au traitement des larves ont été déterminés. L'insecticide affecte significativement le contenu des principaux constituants biochimiques des gonades des séries traitées par rapport aux témoins. Les résultats obtenus sont discutés par rapport aux travaux antérieurs et suggèrent que le kinoprène possède un potentiel insecticide biorationnel pour contrôler les moustiques tout en préservant l'écosystème aquatique.

Mots clés: Moustiques, *Culex pipiens*, Analogue de l'hormone juvénile, Kinoprène, Méthoxyfenozone, Toxicité, Gonades



ABSTRACT

According to our own prospecting, a biodiversity study of Culicidae was conducted over one year, from December 2011 till November 2012. Larvae of Culicidae were collected by the dipping method in four sites subdivided to eight stations in the region of Souk-Ahras (East of Algeria). A total of 5016 mosquitoes belonging to five genera were captured, of which 4 846 were *Culex*, 31 *Aedes*, 117 *Culiseta*, 20 *Anopheles* and 2 *Orthopodomyia*. *Cx. pipiens* represents 76,97% of the total fauna.

Insect physiology is governed by a complex hormonal balance in which juvenile hormone (JH) plays an important role. At the last-instar larvae, the content of JH is particularly low in insect body. Any change in this balance after interference with juvenile hormone analogues (JHAs) disrupts the growth and the development of the aimed insect.

In the present study, the first objective was to estimate the toxicity of an insect growth regulator with juvenile hormone-like activity, kinoprene (Enstar® 65% EC), on *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae), the most abundant and investigated mosquito species. Kinoprene was tested at different concentrations ranging between 162.5 and 650 µg/L on newly molted fourth-instar larvae that were exposed for 24 h under standard laboratory conditions according to World Health Organization recommendations. Kinoprene exhibited insecticidal activity by direct action on the treated fourth-instar larvae but also by differed action on the other following stages of development. Mortality occurred after earlier inhibition of their development or by their inability to complete their ecdysis. The LC₅₀ values were 1287.4 µg/L for the direct action on fourth instar larvae, and 246.8 µg/L for the differed action until adult emergence. Moreover, the compound disturbed growth and development since several morphological types and an increase in the duration of larval and pupal stages were recorded. In parallel, in order to achieve our *in vivo* studies, we established *in vitro* essays with two insects growth regulators, kinoprene and methoxyfenozide, on three cell lines (S2, CF-203 and Sf9). Our data show that the kinoprene is more active as compared methoxyfenozide, and that S2 cell line is more sensitive than the others (Sf9 and CF-203).

In a second series of experiments, kinoprene was applied at two concentrations (LC₅₀ = 246.8 µg/L, LC₉₀ = 524.44 µg/L) on newly emerged fourth-instar larvae or on newly laid eggs of *Cx. pipiens*. The effects were examined on weight and morphometric measurements of larvae, pupae and adults. The compound was found to affect body volume of all considered instars, however it had no effect on their weight. Furthermore, the important values are



indicated in females compared with males, in control such as in treated series, as well for the morphometric as for the biochemical assay. Besides, biometric (width and length) and biochemical parameters (carbohydrates, lipids, proteins) in adult's gonads surviving from the treatment of kinoprene were determined. The insecticide affects significantly the contents of the main biochemical constituents of gonads of treated series with regard to controls. The overall results are discussed in relation to previous reports and suggested that kinoprene have potential as a biorational insecticide for controlling of mosquitoes in an environmentally-friendly manner to the aquatic ecosystem.

Keywords: Mosquitoes, *Culex pipiens*, Juvenile hormone analog, Kinoprene, Methoxyfenozide, Toxicity, Gonads.



ملخص

قمنا بدراسة التنوع البيولوجي للبعوض ، و التي دامت سنة كاملة من ديسمبر 2011 إلى غاية نوفمبر 2012، قمنا خلالها بخرجتين شهريا لأجل تجميع يرقات البعوض بطريقة Dipping على مستوى أربعة مواقع في منطقة سوق أهراس (الشمال الشرقي للجزائر) .

إجمالاً، قمنا بتجميع 5016 فرد من البعوض: *Culex* (4846)، *Aedes*، (31) *Culiseta* (117) *Anopheles* (20)، *Orthopodomyia* (2) وكان النوع الأكثر انتشاراً بنسبة 76.97 % هو *Culex pipiens* .

يتحكم توازن هرموني معقد في فيزيولوجيا الحشرات ، بما فيها هرمون الطور البرقي الذي يلعب فيها دوراً هاماً. خلال الطور البرقي الأخير تتدنى نسبة هذا الهرمون في جسم الحشرة ، وأي تغير في هذا التوازن بسبب تدخل ما ثلاث هرمون الطور البرقي يحدث في الحشرة المستهدفة خلافاً في النمو و التطور .

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم احد مماثلات هرمون الطور البرقي kinoprene (Enstar 65% Ec) ضد أكثر أنواع البعوض انتشاراً في المنطقة : *Culex pipiens* من اجل تحديد المستويات القاتلة لهذه المادة ، قمنا بدراسة سميتها باستعمال عدة تراكيز (من 162.5 الى 650 ميكروغرام / لتر) ضد يرقات الطور الرابع حديثة الانسلاخ حسب توصيات المنظمة العالمية للصحة كان لل kinoprene سمية مباشرة بتركيز $CL_{50} = 1287.4$ ميكروغرام / لتر و سمية تجميعة بتركيز $CL_{50} = 246.8$ ميكروغرام / لتر بسبب تثبيط سابق لأوانه للانسلاخ إضافة إلى ذلك، قامت هذه المادة بتثويش مراحل النمو و التطور كإطالة فترة تطور اليرقات و العذارى .

و في نفس السياق ، ومن اجل تكملة دراسة السمية في الجسم ، قمنا بتجارب مخبرية ضد ثلاثة أنواع من الخلايا : Sf9 S2 CF-308 باستعمال Kinoprene و Methoxyfenozide و قد أسفرت النتائج عن سمية اكبر للمادة الأولى ، كما أن الخلايا S2 كانت الأكثر حساسية بالنسبة للخلايا الأخرى .

في سلسلة ثانية من التجارب، قمنا بتطبيق التركيزين القاتلين لل kinoprene (CL_{50} و CL_{90}) على يرقات الطور الرابع أو البيوض *Culex pipiens* الحديثة ،وقد تم تقييم عمل هذه المادة على النمو وزن و حجم كل أطوار النمو (يرقات، عذارى، حشرات كاملة). حيث وجدنا نقص في حجم



الجسم و لكن بدون تأثير على الوزن كما لاحظنا أن القيم العالية سواء في دراسة حجم الجسم أو المكونات البيوكيميائية كانت لدى الإناث مقارنة بالذكور .

بالإضافة إلى ما سبق ، قمنا بتقييم عمل هذه المادة على التكاثر ، فقمنا بدراسة نسبة المكونات البيوكيميائية (بروتينات ، غلوسيدات و ليبيدات) وكذا حجم الغدد التكاثرية الذكرية و الأنثوية للحشرات البالغة فوجدنا أن لهذه المادة تأثير على هذه الخصائص مقارنة بمجموعة الشواهد .

أخيرا قمنا بمقارنة النتائج المتحصل عليها خلال هذه الدراسة مع دراسات سابقة ، و التي أسفرت عن امتلاك Kinoprene على خصائص قاتلة للحشرات مع توفير الحماية الكافية للبيئة .

الكلمات المفتاحية : البعوض - مماثلات هرمون الطور اليرقي - السمية - الغدد التكاثرية - Kinoprene- Methoxyfenozide .

ANNEXES





Annexes

Tableau 1 : Variation numérique des récoltes des larves de culicidés en fonction des précipitations mensuelles (mm), des températures mensuelles (°C) et d'humidité relative mensuelle (%) moyennes dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).

Mois	Décembre	Janvier	Février	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre
Précipitations (mm)	198	120	254	143	110	10	02	03	10	58	53	32
Températures (°C)	8,4	6,6	4	10,5	12,8	17,1	25,1	26,7	28,5	21,7	18,2	13,8
Humidité (%)	77	86	83	73	73	64	60	52	41	62	66	74
Effectifs larvaires	28	24	16	55	245	762	853	195	558	1301	717	273

Tableau 2 : Effets du kinoprene appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur le pourcentage d'éclosion (viabilité) des œufs chez *Cx. pipiens* (m ± SD, n = 4 répétitions contenant chacune 3 nacelles). Les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes (p > 0,05).

Traitement	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
Pourcentage			
œufs frais (%)	100a	100a	100a
œufs éclos (%)	98,07a	95,16a	96,10a

Tableau 3 : Effets du kinoprene appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur la durée (jours) des différents stades larvaires chez *Cx. pipiens* (m ± SD, n = 4 répétitions contenant chacune 10 individus). Les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes (p > 0,05).

Stades larvaires	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
L1	2,00±0,00a	2,30±0,34a	3,15±0,25b
L2	1,37±0,60a	2,00±0,36a	2,92±0,37b
L3	3,17±0,55a	3,50±0,70a	3,80±0,77a
L4	5,45±0,34a	10,70±0,36b	17,06±0,92c



Tableau 4 : Effets du kinoprene appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur le poids corporel (mg) des stades larvaires chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 individus). Les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$).

Stades	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
L1	0,12±0,02a	0,10±0,02a	0,10±0,01a
L2	0,39±0,02a	0,26± 0,04a	0,19±0,06b
L3	1,22±0,15a	0,92±0,18b	0,83±0,19c
L4	0,59±3,27a	2,39±0,45b	0,89±0,06c

Tableau 5 : Effets du kinoprene appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur la largeur du thorax (mm) des stades larvaires chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 individus). Les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$).

Stades	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
L1	0,06±0,00a	0,06±0,01a	0,05±0,00a
L2	0,37±0,02a	0,18±0,01b	0,08±0,00c
L3	1,27±0,02a	0,98±0,07b	0,69±0,06c
L4	1,72±0,02a	1,61±0,06a	1,50±0,02b

Tableau 6 : Effets du kinoprene appliqué avec deux concentrations (CL₅₀ et CL₉₀) sur le volume corporel (mm³) des stades larvaires chez *Cx. pipiens* ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions contenant chacune 10 individus). Les valeurs suivies par les mêmes lettres ne sont pas statistiquement différentes ($p > 0,05$).

Stades	Témoins	CL ₅₀	CL ₉₀
L1 (x10 ⁻³)	0,26 ± 0,00a	0,25 ± 0,12a	0,18 ± 0,00a
L2	0,05 ± 0,01a	0,006 ± 0,00b	0,0006 ± 0,00c
L3	2,07 ± 0,13a	0,96 ± 0,21b	0,33 ± 0,08c
L4	5,09 ± 0,22a	4,22 ± 0,50a	3,42 ± 0,17b



Tableau 7 : Analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des différentes concentrations du kinoprene sur la lignée cellulaire Sf9 (SCE : somme des carrés des écarts, ddl : degré de liberté, MC : carré moyen, F : valeur du test de F, * : signification).

Sf9	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Inter concentration	95292,236	5	19058,447	74,195	0,000*
Intra concentration	10788,576	42	256,871		
Totale	106080,812	47			

Tableau 8 : Analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des différentes concentrations du kinoprene sur la lignée cellulaire S2 (SCE : somme des carrés des écarts, ddl : degré de liberté, CM : carré moyen, F : valeur du test de F, * : signification).

S2	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Inter concentration	64292,143	5	12858,429	77,607	0,000*
Intra concentration	6958,805	42	165,686		
Totale	71250,948	47			

Tableau 9 : Analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des différentes concentrations du kinoprene sur la lignée cellulaire CF-203 (SCE : somme des carrés des écarts, ddl : degré de liberté, CM : carré moyen, F : valeur du test de F, * : signification).

CF-203	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Inter concentration	128741,864	5	25748,373	53,869	0,000*
Intra concentration	15773,302	33	477,979		
Totale	144515,166	38			

Tableau 10 : Analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des différentes concentrations du methoxyfenozide sur la lignée cellulaire Sf9 (SCE : somme des carrés des écarts, ddl : degré de liberté, CM : carré moyen, F : valeur du test de F).

Sf9	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Inter concentration	77401,893	6	12900,315	0,883	0,515
Intra concentration	657555,112	45	14612,336		
Totale	734957,005	51			



Tableau 11 : Analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des différentes concentrations du methoxyfenozide sur la lignée cellulaire S2 (SCE : somme des carrés des écarts, ddl : degré de liberté, CM : carré moyen, F : valeur du test de F).

S2	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Inter concentration	3381,682	6	563,614	1,856	0,110
Intra concentration	13665,326	45	303,674		
Totale	17047,009	51			

Tableau 12 : Analyse de la variance à un critère de classification (ANOVA) des différentes concentrations du methoxyfenozide sur la lignée cellulaire CF-203 (SCE : somme des carrés des écarts, ddl : degré de liberté, CM : carré moyen, F : valeur du test de F, * : signification).

CF-203	SCE	ddl	CM	F	Sig.
Inter concentration	55195,639	6	9199,273	12,630	0,000*
Intra concentration	26948,921	37	728,349		
Totale	82144,560	43			

Tableau 13 : Variation saisonnière des effectifs larvaires dans les sites d'étude (décembre 2011-novembre 2012).

Sites Saison	Souk-Ahras	Hanancha	Sedrata	Ain Soltane	Total
Hiver	38	30	00	00	68
Printemps	490	374	159	39	1062
Eté	260	299	987	49	1606
Automne	566	212	1461	52	2291

Tableau 14 : Les valeurs moyennes de l'oxygène dissous (mg/l) dans les stations des sites d'étude dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).

Stations Saison	Souk-Ahras		Hanancha		Sedrata		Ain Soltane	
	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2
Hiver	2,12	3,98	4,27	4,19	4,97	4,81	2,15	2,33
	2,16	3,83	4,52	4,12	4,98	4,98	2,24	2,76
	2,54	4,13	4,11	4,23	4,89	4,75	2,11	2,12
Printemps	3,07	2,75	3,17	2,89	3,15	3,5	1,78	2,07
	3,12	2,98	3,21	3,12	3,13	3,75	1,85	1,99
	2,93	2,45	3,07	2,97	3,21	3,76	1,69	2,12
Eté	1,12	1,24	2,27	1,91	1,32	2,13	0,75	0,85
	1,3	1,12	2,72	2,84	1,65	2,25	0,74	0,88
	1,08	1,36	2,19	2,1	1,12	2,14	0,79	0,76
Automne	0,95	0,53	1,84	0,99	0,75	1,88	0,73	0,66
	0,87	0,52	2,1	0,89	0,89	2,12	0,8	0,76
	0,92	0,59	1,79	1,1	0,54	1,78	0,66	0,58



Tableau 15 : Les valeurs moyennes de la conductivité électrique ($\mu\text{s}/\text{cm}$) dans les stations des sites d'étude dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).

Stations Saison	Souk-Ahras		Hanancha		Sedrata		Ain Soltane	
	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2
Hiver	310,3	349,7	375,3	307,8	709,5	334,1	357,6	435,3
	315,7	363,3	365,4	310,7	687,4	342,5	387,8	532,6
	311,2	332,6	380,5	333,2	712,9	321,8	332,5	399,6
Printemps	501,7	436,5	307,2	318,5	747	665,7	516,2	343,7
	512,6	478,8	299,8	317,6	766,8	676,8	633,8	335,6
	489,5	423,2	315,8	342,8	438,5	683,7	465,6	332,8
Eté	853	827,9	334,2	407,5	951	937,3	825,2	432,6
	879,5	843,9	345,3	423,6	964,8	912,4	787,8	388,9
	830,7	812,5	324,6	412,8	988,5	984,5	843,9	456,6
Automne	807,8	878,3	447,5	503,3	818,2	877,9	712	415,3
	812,7	889,7	453,4	529,8	823,7	897,8	722,7	423,4
	806,9	859,6	435,7	446,6	844,6	876,6	713,1	399,6

Tableau 16 : Les valeurs moyennes du pH dans les stations des sites d'étude dans la région de Souk-Ahras (décembre 2011-novembre 2012).

Stations Saison	Souk-Ahras		Hanancha		Sedrata		Ain Soltane	
	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2	Station 1	Station 2
Hiver	8,13	8,47	8,45	8,19	8,57	8,23	8,15	7,71
	8,23	8,49	8,55	8,1	8,54	8,24	8,13	7,73
	8,12	8,66	8,43	7,79	8,57	8,21	8,15	7,77
Printemps	7,94	7,8	7,42	7,63	8,08	7,46	7,7	8,02
	7,86	8	7,41	7,83	8,1	7,43	7,71	8,06
	7,97	7,86	7,45	7,81	8,02	7,51	7,73	8,01
Eté	7,58	8,17	7,39	8,27	7,83	7,89	7,54	8,32
	7,65	8,12	7,34	8,24	7,8	7,9	7,54	8,22
	7,45	8,17	7,41	8,24	7,85	7,91	7,55	8,31
Automne	7,67	7,76	8,17	8,07	7,74	8,18	7,71	7,75
	7,65	7,87	8,35	8,05	7,75	8,12	7,88	7,78
	7,78	7,74	8,31	8,12	7,75	8,17	7,79	7,81

PRODUCTION

SCIENTIFIQUE

Production scientifique

Publication (1)

HAMAIDIA K & SOLTANI N. (2014). Laboratory evaluation of a biorational insecticide, kinoprene, against *Culex pipiens* larvae: effects on growth and development. *Annual Research and Review in Biologie*. 4 (14): 2263-2273.

Communications (6)

HAMAIDIA K., Tine-Djebbar F. & Soltani N. (2008). Effet d'un régulateur de croissance, le Méthoxifenozone (RH-2485) (Insecticide non polluant) sur la reproduction d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*. 1^{ère} journées internationales Algéro-Tunisiennes de Microbiologie. Tébessa, 18 et 19 mai.

Tine-Djebbar F., **HAMAIDIA K.** & Soltani N. (2008). Pesticides et Environnement : Evaluation d'un insecticide non polluant, le Méthoxifenozone (RH-2485) à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*. 1^{ère} journées nationales sur la biologie des écosystèmes aquatiques. Skikda, 24 et 25 mai.

HAMAIDIA K., Tine-Djebbar F. & Soltani N. (2010). Effet d'un régulateur de croissance, le méthoxyfenozone sur une espèce de moustique, *Culex pipiens* (Diptère : Culicidé). Le 2^{ème} congrès Franco-Maghrébin de zoologie et les 4^{èmes} journées Franco-Tunisiennes de Zoologie. Zarzis, Tunisie, 4 au 9 novembre.

HAMAIDIA K., Tine-Djebbar F. & Soltani N. (2013) : Effets d'un insecticide à faible risque environnemental (kinoprene) chez les larves de moustique : Létalité, Développement et Biochimie. 1^{er} colloque international sur la préservation de l'environnement des régions semi-arides. Université de Tébessa 20 et 21 Octobre.

Tine-Djebbar F., Ziani T., **HAMAIDIA K.** & Soltani N. (2013) : Evaluation d'une nouvelle molécule, le kinoprene à l'égard d'une espèce de moustique *Cs. Longiareolata* : potentiel reproducteur, biochimie et morphométrie. 1^{er} colloque international sur la préservation de l'environnement des régions semi-arides. Université de Tébessa 20 et 21 Octobre.

HAMAIDIA K. & Soltani N., (2014) : Activité d'un insecticide biorationnel, kinoprene, à l'égard de *Culex pipiens* (L.) (Diptera : Culicidae): toxicité et effets sur les testicules. La 8^{ème} Conférence Internationale Francophone d'Entomologie (CIFE 8). Hammamet, Tunisie, 23 au 27 Juin 2014.