



FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Thèse en vue de l'obtention du diplôme de  
Doctorat en Neurosciences

**Etude de deux modèles d'insectes nuisibles  
coloniaux des milieux urbains : *Blattella  
germanica* (L.) et *Drosophila melanogaster* :  
Aspect toxicologique et comportemental**

Présenté par :

**ELBAH Djamila**

*Devant la commission d'examen :*

* Présidente :	M <sup>elle</sup> HABBACHI Wafa	MCA	Université de Annaba
* Directeur de Thèse :	M <sup>r</sup> OUAKID M <sup>ed</sup> Laid	Professeur	Université de Annaba
* Examineurs :	M <sup>me</sup> BOUKHROUFA Ferial	MCA	Université de Annaba
	M <sup>r</sup> BAIRI Madjid	Professeur	Université de Annaba
	M <sup>r</sup> MOULAÏ Riadh	Professeur	Université de Béjaïa
	M <sup>r</sup> MEHAOUA Mohamed Seghir	MCA	Université de Biskra

*La science n'est pas seulement un ensemble de recettes pratiques, mais une tentative pour rendre intelligible la nature, tentative indéfiniment ouverte, et légitimement polémique.*

***J. Gayon (2000).***

## **Remerciements**

*Je remercie, en premier lieu, M<sup>elle</sup> **HABBACHI Wafa**, Maitre de conférence à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, pour avoir accepté de présider le jury mais aussi pour tous les échanges techniques, scientifiques, son aide continue et pour sa sympathie.*

*Je voudrais également remercier les examinateurs de cette thèse pour l'intérêt qu'ils ont porté à ce travail et d'avoir accepté de la juger : M<sup>me</sup> **BOUKHROUFA Ferial**, Maitre de conférences à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, M<sup>r</sup> **BAIRI Madjid**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, M<sup>r</sup> **MOULAÏ Riadh**, Professeur de l'Université d'Abderrahamane Mira à Béjaïa et M<sup>r</sup> **MEHAOUA Mohamed Seghir**, Maitre de conférences à l'Université de Mohamed Kheidar à Biskra.*

*Ma profonde et sincère gratitude et reconnaissance s'adresse à mon directeur de thèse M<sup>r</sup> **OUAKID Mohamed Laid**, Professeur à l'Université Badji Mokhtar d'Annaba, pour l'excellent encadrement fourni, son soutien, sa disponibilité et sa patience malgré ses nombreuses tâches. Grâce à ses conseils judicieux et son enthousiasme motivant, j'ai pu réaliser ce travail et j'espère avoir été à la hauteur de ses attentes. Merci d'avoir en toutes occasions pris le temps de m'écouter et de me comprendre. Pour tout cela mais aussi pour votre humanisme, votre bonté et votre gentillesse.*

*Bien sûr, atteindre ces objectifs n'aurait pas été possible sans l'aide des membres de notre équipe d'Ecoéthologie, doctorants et masters. Je tiens à remercier toute personne ayant contribué à la réussite de ce travail, pour leur aide et leur bonne humeur.*

*Un très grand merci à Monsieur **BOUDJELIDA Hamid**, Professeur au Département de Biologie, Université d'Annaba, pour son aide dans la traduction en anglais de ma première publication internationale.*

*J'associe à ces remerciements toute l'équipe du Département de Biologie, les enseignants-chercheurs, les techniciens, et mes collègues doctorants, pour tous les échanges techniques, scientifiques et pour leur sympathie, leur accueil chaleureux pendant ces quatre ans de thèse.*

*À Maman & Papa...*

*À mes chers Frères & Sœur...*

# Sommaire

<b>1. Introduction</b> .....	1
<b>2. Matériel et Méthodes</b> .....	7
<b>2.1. <i>Drosophila melanogaster</i> (Meigen, 1830)</b> .....	7
2.1.1. Présentation de l'insecte .....	7
2.1.2. Élevage .....	9
<b>2.2. <i>Blattella germanica</i> (Linnaeus, 1767)</b> .....	10
2.2.1. Présentation de l'insecte .....	10
2.2.2. Élevage .....	12
<b>2.3. Plantes testées</b> .....	13
2.3.1. <i>Peganum harmala</i> (Linnaeus, 1753) .....	13
2.3.1.1. Présentation de la plante .....	13
2.3.1.2. Préparation des extraits végétaux .....	16
2.3.2. <i>Daphne gnidium</i> (Linnaeus, 1753) .....	17
2.3.2.1. Présentation de la plante .....	17
2.3.2.2. Préparation des extraits végétaux .....	19
<b>2.4. Caractérisation des effets létaux et sublétaux après exposition aux insecticides chez <i>D. melanogaster</i></b> .....	19
2.4.1. Etude toxicologique .....	19
2.4.2. Effets des traitements sur le comportement .....	20
2.4.2.1. Comportement alimentaire chez les larves du 3 <sup>ème</sup> stade .	20
-Test d'attraction olfactive .....	20
-Préparation des boîtes de pétri contenant de l'agar à 2% .	21
-Suivi individuel des larves .....	22
2.4.2.2. Comportement sexuel .....	23
-Description de la parade amoureuse chez la drosophile ...	23
-Test de comportement .....	26
2.4.2.3. Comportement d'oviposition .....	28
<b>2.5. Caractérisation des effets létaux et sublétaux après exposition aux insecticides chez <i>B. germanica</i></b> .....	29
2.5.1. Etude toxicologique .....	29

2.5.2. Effets des traitements sur le comportement .....	29
2.5.2.1. Comportement sexuel .....	30
-Description du comportement sexuel chez <i>B. germanica</i> ...	30
-Test de comportement .....	33
2.5.2.2. Comportement grégaire .....	35
-Préparation des extraits .....	35
-Mise au point du test de comportement d'agrégation olfactive .....	35
<b>2.6. Analyses statistiques des données .....</b>	<b>36</b>
2.6.1. Tests de toxicité .....	36
2.6.2. Les tests comportementaux .....	37
<b>3. Résultats .....</b>	<b>38</b>
<b>3.1. Effets toxiques des extraits végétaux sur la mouche du vinaigre, <i>D. melanogaster</i> .....</b>	<b>38</b>
<b>3.1.1. Effets d'extrait aqueux des feuilles de <i>P. harmala</i> sur la drosophile ....</b>	<b>38</b>
3.1.1.1. Essai insecticide à l'égard des larves du 2 <sup>ème</sup> stade .....	38
3.1.1.2. Impact sur la croissance et la durée de développement .....	39
3.1.1.3. Effets du traitement par une concentration sublétales (300 µg/ml) sur le comportement de <i>D. melanogaster</i> .....	41
-Sur le comportement alimentaire des larves du 3 <sup>ème</sup> stade .....	41
-Sur le comportement sexuel .....	47
-Sur le comportement d'oviposition .....	49
<b>3.1.2. Effets des extraits aqueux des fleurs de <i>P. harmala</i> sur la drosophile ...</b>	<b>52</b>
3.1.2.1. Essai insecticide à l'égard des larves du 2 <sup>ème</sup> stade .....	52
3.1.2.2. Impact sur la croissance et la durée de développement .....	53
3.1.2.3. Effets du traitement par une concentration sublétales (840 µg/ml) sur le comportement de <i>D. melanogaster</i> .....	55
-Sur le comportement alimentaire des larves du 3 <sup>ème</sup> stade .....	55
-Sur le comportement sexuel .....	60
-Sur le comportement d'oviposition .....	62
<b>3.1.3. Effets d'extrait aqueux des graines de <i>P. harmala</i> sur la drosophile ....</b>	<b>65</b>
3.1.3.1. Essai insecticide à l'égard des larves du 2 <sup>ème</sup> stade .....	65
3.1.3.2. Impact sur la croissance et la durée de développement .....	67

3.1.3.3. Effets du traitement par une concentration sublétales (50 µg/ml) sur le comportement de <i>D. melanogaster</i> .....	69
- <i>Sur le comportement alimentaire des larves du 3<sup>ème</sup> stade</i> .....	69
- <i>Sur le comportement sexuel</i> .....	74
- <i>Sur le comportement d'oviposition</i> .....	76
<b>3.1.4. Effets d'extrait aqueux des feuilles de <i>D. gniduum</i> sur la drosophile</b> ....	79
3.1.4.1. Essai insecticide à l'égard des larves du 2 <sup>ème</sup> stade .....	79
3.1.4.2. Impact sur la croissance et la durée de développement .....	80
3.1.4.3. Effets du traitement par une concentration sublétales (300 µg/ml) sur le comportement de <i>D. melanogaster</i> .....	82
- <i>Sur le comportement alimentaire des larves du 3<sup>ème</sup> stade</i> .....	82
- <i>Sur le comportement sexuel</i> .....	87
- <i>Sur le comportement d'oviposition</i> .....	89
<b>3.1.5. Effets d'extrait aqueux des baies de <i>D. gniduum</i> sur la drosophile</b> .....	92
3.1.5.1. Essai insecticide à l'égard des larves du 2 <sup>ème</sup> stade .....	92
3.1.5.2. Impact sur la croissance et la durée de développement .....	93
3.1.5.3. Effets du traitement par une concentration sublétales (50 µg/ml) sur le comportement de <i>D. melanogaster</i> .....	95
- <i>Sur le comportement alimentaire des larves du 3<sup>ème</sup> stade</i> .....	95
- <i>Sur le comportement sexuel</i> .....	100
- <i>Sur le comportement d'oviposition</i> .....	101
<b>3.1.6. Synthèse des résultats obtenus</b> .....	104
<b>3.2. Effets toxiques des extraits végétaux sur la blatte germanique, <i>B. germanica</i></b> .....	106
<b>3.2.1. Effets d'extrait aqueux des feuilles de <i>P. harmala</i> sur la blatte</b> .....	106
3.2.1.1. Essai insecticide à l'égard des adultes .....	106
3.2.1.2. Effets du traitement par une concentration sublétales (300 µg/ml) sur le comportement de <i>B. germanica</i> .....	108
- <i>Sur le comportement sexuel</i> .....	108
- <i>Sur le comportement grégaire</i> .....	112
<b>3.2.2. Effets des extraits aqueux des graines de <i>P. harmala</i> sur la blatte</b> .....	114
3.2.2.1. Essai insecticide à l'égard des adultes .....	114
3.2.2.2. Effets du traitement par une concentration sublétales (300 µg/ml)	

sur le comportement de <i>B. germanica</i> .....	116
- <i>Sur le comportement sexuel</i> .....	116
- <i>Sur le comportement grégaire</i> .....	117
<b>3.2.3. Effets d'extrait aqueux des feuilles de <i>D. gniduum</i> sur la blatte</b> .....	119
3.2.3.1. Essai insecticide à l'égard des adultes .....	119
3.2.3.2. Effets du traitement à une concentration sublétales (300 µg/ml)	
sur le comportement de <i>B. germanica</i> .....	121
- <i>Sur le comportement sexuel</i> .....	121
- <i>Sur le comportement grégaire</i> .....	123
<b>3.2.4. Effets d'extrait aqueux des feuilles de <i>D. gniduum</i> sur la blatte</b> .....	124
3.2.4.1. Essai insecticide à l'égard des adultes .....	124
3.2.4.2. Effets du traitement par une concentration sublétales (100 µg/ml)	
sur le comportement de <i>B. germanica</i> .....	127
- <i>Sur le comportement sexuel</i> .....	127
- <i>Sur le comportement grégaire</i> .....	128
<b>3.2.6. Synthèse des résultats obtenus</b> .....	130
<b>4. Discussion</b> .....	132
<b>5. Conclusion</b> .....	145
<b>6. Références bibliographiques</b> .....	146
<b>Résumés</b>	
<b>Annexe (Production scientifique)</b>	



## Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
1	Les concentrations utilisées pour le traitement des larves de la drosophile	19
2	Les concentrations sublétales retenues dans les tests éthologiques	20
3	Les concentrations utilisées pour le traitement des adultes de la blatte	29
4	Les concentrations sublétales retenues dans les tests éthologiques	29
5	Mortalité corrigée chez les larves de <i>D. melanogaster</i> traitées par l'extrait aqueux de feuilles de <i>P. harmala</i>	38
6	Paramètres toxicologiques des feuilles de <i>P. harmala</i>	39
7	Taux d'individus, par stade, issus des traitements par l'extrait aqueux de feuilles de <i>P. harmala</i>	40
8	Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)	43
9	Attractivité des larves traitées, à une concentration sublétale de feuilles de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml), vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)	44
10	Effet d'une concentration sublétale des feuilles de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez <i>D. melanogaster</i> , (n=30)	48
11	Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)	49
12	Effet d'une concentration sublétale des feuilles de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml) sur le choix du site de ponte chez <i>D. melanogaster</i>	50
13	Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> en présence d'extrait des feuilles de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml)	51
14	Effet des feuilles de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml) sur le nombre total d'œufs pondus selon le type de croisement effectué	52
15	Mortalité corrigée chez les larves <i>D. melanogaster</i> traitées par l'extrait aqueux de fleurs de <i>P. harmala</i>	52
16	Paramètres toxicologiques des fleurs de <i>P. harmala</i>	53
17	Taux d'individus, par stade, issus des traitements aux fleurs de <i>P. harmala</i>	54
18	Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)	56
19	Attractivité des larves traitées, à une concentration sublétale de fleurs de <i>P. harmala</i> (840 µg/ml), vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)	57
20	Effet d'une concentration sublétale des fleurs de <i>P. harmala</i> (840 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez <i>D. melanogaster</i> , (n=30)	61
21	Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)	62
22	Effet d'une concentration sublétale des fleurs de <i>P. harmala</i> (840 µg/ml) sur le choix du site de ponte chez <i>D. melanogaster</i>	63
23	Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> en présence d'extrait des fleurs de <i>P. harmala</i> (840 µg/ml)	64
24	Effet des fleurs de <i>P. harmala</i> (840 µg/ml) sur le nombre total d'œufs pondus selon le type de croisement effectué	65
25	Mortalité corrigée chez les larves de <i>D. melanogaster</i> traitées par l'extrait aqueux de graines de <i>P. harmala</i>	65

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>26</b>	Paramètres toxicologiques des graines de <i>P. harmala</i>	<b>66</b>
<b>27</b>	Taux d'individus, par stade, issus des traitements aux graines de <i>P. harmala</i>	<b>67</b>
<b>28</b>	Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)	<b>70</b>
<b>29</b>	Attractivité des larves traitées, à une concentration sublétale des graines de <i>P. harmala</i> (50 µg/ml), vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)	<b>71</b>
<b>30</b>	Effet d'une concentration sublétale des graines de <i>P. harmala</i> (50 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez <i>D. melanogaster</i> , (n=30)	<b>75</b>
<b>31</b>	Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)	<b>76</b>
<b>32</b>	Effet d'une concentration sublétale de graines de <i>P. harmala</i> (50 µg/ml) sur le choix du site de ponte chez <i>D. melanogaster</i>	<b>77</b>
<b>33</b>	Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> en présence d'extrait des graines de <i>P. harmala</i> (50 µg/ml)	<b>78</b>
<b>34</b>	Effet de graines de <i>P. harmala</i> (50 µg/ml) sur le nombre total d'œufs pondus selon le type de croisement effectué	<b>79</b>
<b>35</b>	Mortalité corrigée chez les larves de <i>D. melanogaster</i> traitées par l'extrait aqueux de feuilles de <i>D. gniduum</i>	<b>79</b>
<b>36</b>	Paramètres toxicologiques de feuilles de <i>D. gniduum</i>	<b>80</b>
<b>37</b>	Taux d'individus, par stade, issus des traitements par l'extrait aqueux de feuilles de <i>D. gniduum</i>	<b>81</b>
<b>38</b>	Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)	<b>83</b>
<b>39</b>	Attractivité des larves traitées, à une concentration sublétale des feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml), vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)	<b>84</b>
<b>40</b>	Effet d'une concentration sublétale des feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez <i>D. melanogaster</i> , (n=30)	<b>88</b>
<b>41</b>	Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)	<b>89</b>
<b>42</b>	Effet d'une concentration sublétale des feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml) sur le choix du site de ponte chez <i>D. melanogaster</i>	<b>90</b>
<b>43</b>	Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> en présence d'extrait des feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml)	<b>91</b>
<b>44</b>	Effet des feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml) sur le nombre total d'œufs pondus selon le type de croisement effectué	<b>92</b>
<b>45</b>	Mortalité corrigée chez les larves de <i>D. melanogaster</i> traitées par l'extrait aqueux de baies de <i>D. gniduum</i>	<b>92</b>
<b>46</b>	Paramètres toxicologiques des baies de <i>D. gniduum</i>	<b>93</b>
<b>47</b>	Taux d'individus, par stade, issus des traitements par l'extrait aqueux de baies de <i>D. gniduum</i>	<b>94</b>
<b>48</b>	Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)	<b>96</b>
<b>49</b>	Attractivité des larves traitées, à une concentration sublétale des baies de <i>D. gniduum</i> (50 µg/ml), vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)	<b>97</b>
<b>50</b>	Effet d'une concentration sublétale des baies de <i>D. gniduum</i> (50 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez <i>D. melanogaster</i> , (n=30)	<b>100</b>

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>51</b>	Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)	<b>101</b>
<b>52</b>	Effet d'une concentration sublétales des baies de <i>D. gniduum</i> (50 µg/ml) sur le choix du site de ponte chez <i>D. melanogaster</i>	<b>102</b>
<b>53</b>	Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de <i>D. melanogaster</i> en présence d'extrait des baies de <i>D. gniduum</i> (50 µg/ml)	<b>103</b>
<b>54</b>	Effet des baies de <i>D. gniduum</i> (50 µg/ml) sur le nombre total d'œufs pondus selon le type de croisement effectué	<b>104</b>
<b>55</b>	Synthèse des résultats sur les effets directs et différés des différents extraits végétaux utilisés contre la mouche du vinaigre, <i>D. melanogaster</i>	<b>105</b>
<b>56</b>	Taux de mortalité des mâles de <i>B. germanica</i> traités par les extraits aqueux des feuilles de <i>P. harmala</i>	<b>106</b>
<b>57</b>	Taux de mortalité des femelles de <i>B. germanica</i> traitées par les extraits aqueux des feuilles de <i>P. harmala</i>	<b>107</b>
<b>58</b>	Concentrations létales des extraits aqueux des feuilles de <i>P. harmala</i>	<b>107</b>
<b>59</b>	Temps létaux des extraits aqueux de feuilles de <i>P. harmala</i>	<b>108</b>
<b>60</b>	Effet d'une concentration sublétales des feuilles de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez <i>B. germanica</i> , (n=10)	<b>108</b>
<b>61</b>	Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=10), (Moy ± SEM)	<b>110</b>
<b>62</b>	Effet de l'extrait aqueux des feuilles de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml) sur la fertilité des oothèques	<b>110</b>
<b>63</b>	Taux d'attractivité des adultes de <i>B. germanica</i> traités avec une concentration sublétales des feuilles de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml)	<b>112</b>
<b>64</b>	Temps moyens de détection (TD), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15)	<b>113</b>
<b>65</b>	Temps moyens d'arriver (TA), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15)	<b>113</b>
<b>66</b>	Taux de mortalité des mâles de <i>B. germanica</i> traités par les extraits aqueux des graines de <i>P. harmala</i>	<b>114</b>
<b>67</b>	Taux de mortalité des femelles de <i>B. germanica</i> traitées par les extraits aqueux des graines de <i>P. harmala</i>	<b>115</b>
<b>68</b>	Concentrations létales des extraits aqueux des graines de <i>P. harmala</i>	<b>115</b>
<b>69</b>	Temps létaux des extraits aqueux de graines de <i>P. harmala</i>	<b>116</b>
<b>70</b>	Effet d'une concentration sublétales des graines de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez <i>B. germanica</i> , (n=10)	<b>116</b>
<b>71</b>	Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=10), (Moy ± SEM)	<b>117</b>
<b>72</b>	Taux d'attractivité des adultes de <i>B. germanica</i> traités avec une concentration sublétales des graines de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml)	<b>118</b>
<b>73</b>	Temps moyens de détection (TD), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15)	<b>118</b>
<b>74</b>	Temps moyens d'arriver (TA), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15)	<b>119</b>

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>75</b>	Taux de mortalité des mâles de <i>B. germanica</i> traités par les extraits aqueux des feuilles de <i>D. gniduum</i>	<b>120</b>
<b>76</b>	Taux de mortalité des femelles de <i>B. germanica</i> traitées par les extraits aqueux des feuilles de <i>D. gniduum</i>	<b>120</b>
<b>77</b>	Concentrations létales des extraits aqueux des feuilles de <i>D. gniduum</i>	<b>121</b>
<b>78</b>	Temps létaux des extraits aqueux des feuilles de <i>D. gniduum</i>	<b>121</b>
<b>79</b>	Effet d'une concentration sublétales des feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez <i>B. germanica</i> , (n=10)	<b>122</b>
<b>80</b>	Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=10), (Moy ± SEM)	<b>122</b>
<b>81</b>	Taux d'attractivité des adultes de <i>B. germanica</i> traités avec une concentration sublétales des feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml)	<b>123</b>
<b>82</b>	Temps moyens de détection (TD), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15)	<b>124</b>
<b>83</b>	Temps moyens d'arriver (TA), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15)	<b>124</b>
<b>84</b>	Taux de mortalité des mâles de <i>B. germanica</i> traités par les extraits aqueux des baies de <i>D. gniduum</i>	<b>125</b>
<b>85</b>	Taux de mortalité des femelles de <i>B. germanica</i> traitées par les extraits aqueux des baies de <i>D. gniduum</i>	<b>125</b>
<b>86</b>	Concentrations létales des extraits aqueux des baies de <i>D. gniduum</i>	<b>126</b>
<b>87</b>	Temps létaux des extraits aqueux des baies de <i>D. gniduum</i>	<b>126</b>
<b>88</b>	Effet d'une concentration sublétales des baies de <i>D. gniduum</i> (100 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez <i>B. germanica</i> , (n=10)	<b>127</b>
<b>89</b>	Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=10), (Moy ± SEM)	<b>128</b>
<b>90</b>	Taux d'attractivité des adultes de <i>B. germanica</i> traités avec une concentration sublétales des baies de <i>D. gniduum</i> (100 µg/ml)	<b>129</b>
<b>91</b>	Temps moyens de détection (TD), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15)	<b>129</b>
<b>92</b>	Temps moyens d'arriver (TA), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15)	<b>130</b>
<b>93</b>	Synthèse des résultats sur les effets directs et différés des différents extraits végétaux utilisés contre la blatte germanique, <i>B. germanica</i>	<b>131</b>

## Liste des Figures

N°	Titre	Page
1	<i>D. melanogaster</i>	7
2	Cycle de vie de <i>D. melanogaster</i>	9
3	Flacons d'élevage	10
4	Tubes d'élevage	10
5	<i>B. germanica</i>	11
6	Cycle de vie de <i>B. germanica</i>	12
7	Élevage de masse de <i>B. germanica</i>	13
8	Arbuste de <i>P. harmala</i> L.	14
9	Différents parties de l'espèce <i>P. harmala</i>	15
10	Structure chimique d'alcaloïdes isolés des graines du <i>P. harmala</i>	16
11	Arbuste de <i>D. gniduum</i>	17
12	Parties de l'espèce <i>D. gniduum</i>	18
13	Traitement des larves du 2 <sup>ème</sup> stade	20
14	Schéma de l'arène de test	21
15	Les différentes étapes et les stimuli sensoriels impliqués de la parade amoureuse chez <i>D. melanogaster</i>	25
16	Schéma récapitulant les séquences comportementales sous le contrôle des interactions chimiques entre les deux partenaires (Chabaud, 2008)	26
17	Dispositif utilisé pour les tests de parade et d'accouplement	27
18	Chambres d'oviposition	28
19	Comportement sexuel chez <i>B. germanica</i>	32
20	Formule chimique de phéromone sexuelle de contact chez la femelle	33
21	Face ventrale de l'abdomen montrant les plaques sous-génitales des adultes de <i>B. germanica</i>	33
22	Enceinte close utilisée pour les tests d'accouplement	34
23	Olfactomètre Bidirectionnel en Y	36
24	Effet d'extrait aqueux de feuilles de <i>P. harmala</i> sur <i>D. melanogaster</i>	41
25	Indice de réponse (IR) des larves de <i>D. melanogaster</i> (témoins et traitées) envers l'extrait aqueux des feuilles de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml) dans le test du choix	45
26	Temps de détection (en secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [Tm : Milieu témoin, Tr : Milieu traité aux feuilles de <i>P. harmala</i> (300µg/ml)]	46
27	Temps de détection (en secondes) des larves traitées, à une concentration subléthale des feuilles de <i>P. harmala</i> (300µg/ml), en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [Tm : Milieu témoin, Tr : Milieu traité aux feuilles de <i>P. harmala</i> (300µg/ml)]	47
28	Nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]	50
29	Nombre d'œufs pondus dans le milieu traité aux feuilles de <i>P. harmala</i> (300µg/ml) [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]	51
30	Effet d'extrait aqueux de fleurs <i>P. harmala</i> sur <i>D. melanogaster</i>	54

N°	Titre	Page
31	Indice de réponse (IR) des larves de <i>D. melanogaster</i> (témoins et traitées) envers l'extrait aqueux des fleurs de <i>P. harmala</i> (840 µg/ml) dans le test du choix	58
32	Temps de détection (en secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [ <i>Tm</i> : Milieu témoin, <i>Tr</i> : Milieu traité aux fleurs de <i>P. harmala</i> (840µg/ml)]	59
33	Temps de détection (en secondes) des larves traitées, à une concentration sub létale des fleurs de <i>P. harmala</i> (840 µg/ml), en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [ <i>Tm</i> : Milieu témoin, <i>Tr</i> : Milieu traité aux fleurs de <i>P. harmala</i> (840µg/ml)]	60
34	Nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; <i>Tm</i> , Témoin ; <i>Tr</i> , Traité]	63
35	Nombre d'œufs pondus dans le milieu traité aux fleurs de <i>P. harmala</i> (840µg/ml) [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; <i>Tm</i> , Témoin ; <i>Tr</i> , Traité]	64
36	Effet d'extrait aqueux de graines de <i>P. harmala</i> sur <i>D. melanogaster</i>	68
37	Indice de réponse (IR) des larves de <i>D. melanogaster</i> (témoins et traitées) envers l'extrait aqueux des graines de <i>P. harmala</i> (50 µg/ml) dans le test du choix	72
38	Temps de détection (en secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [ <i>Tm</i> : Milieu témoin, <i>Tr</i> : Milieu traité aux graines de <i>P. harmala</i> (50 µg/ml)]	73
39	Temps de détection (en secondes) des larves traitées, à une concentration sub létale des graines de <i>P. harmala</i> (50 µg/ml), en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [ <i>Tm</i> : Milieu témoin, <i>Tr</i> : Milieu traité aux graines de <i>P. harmala</i> (50 µg/ml)]	74
40	Nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; <i>Tm</i> , Témoin ; <i>Tr</i> , Traité]	77
41	Nombre d'œufs pondus dans le milieu traité aux graines de <i>P. harmala</i> (50 µg/ml) [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; <i>Tm</i> , Témoin ; <i>Tr</i> , Traité]	78
42	Effet d'extrait aqueux de feuilles de <i>D. gniduum</i> sur <i>D. melanogaster</i>	81
43	Indice de réponse (IR) des larves de <i>D. melanogaster</i> (témoins et traitées) envers l'extrait aqueux des feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml) dans le test du choix	85
44	Temps de détection (en secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [ <i>Tm</i> : Milieu témoin, <i>Tr</i> : Milieu traité aux feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml)]	86
45	Temps de détection (en secondes) des larves traitées, à une concentration sub létale des feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml), en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [ <i>Tm</i> : Milieu témoin, <i>Tr</i> : Milieu traité aux feuilles de <i>D. gniduum</i> (300µg/ml)]	87
46	Nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; <i>Tm</i> , Témoin ; <i>Tr</i> , Traité]	90
47	Nombre d'œufs pondus dans le milieu traité aux feuilles de <i>D. gniduum</i> (300 µg/ml) [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; <i>Tm</i> , Témoin ; <i>Tr</i> , Traité]	91
48	Effet d'extrait aqueux de baies de <i>D. gniduum</i> sur les adultes de <i>D. melanogaster</i>	94

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>49</b>	Indice de réponse (IR) des larves de <i>D. melanogaster</i> (témoins et traitées) envers l'extrait aqueux des baies de <i>D. gniduum</i> (50 µg/ml) dans le test du choix	<b>98</b>
<b>50</b>	Temps de détection (en secondes) des larves témoins, en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [ <i>Tm</i> : Milieu témoin, <i>Tr</i> : Milieu traité aux baies de <i>D. gniduum</i> (50 µg/ml)]	<b>99</b>
<b>51</b>	Temps de détection (en secondes) des larves traitées, à une concentration sub létale des baies de <i>D. gniduum</i> (50 µg/ml), en réponse aux différentes odeurs testées (n=30)[ <i>Tm</i> : Milieu témoin, <i>Tr</i> : Milieu traité aux baies de <i>D. gniduum</i> (50µg/ml)]	<b>100</b>
<b>52</b>	Nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; <i>Tm</i> , Témoin ; <i>Tr</i> , Traité]	<b>102</b>
<b>53</b>	Nombre d'œufs pondus dans le milieu traité aux baies de <i>D. gniduum</i> (50 µg/ml) [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; <i>Tm</i> , Témoin ; <i>Tr</i> , Traité]	<b>103</b>
<b>54</b>	Effet d'une concentration sub létale d'extrait aqueux de feuilles de <i>P. harmala</i> (300 µg/ml) sur les œufs pondus chez <i>B. germanica</i>	<b>111</b>

## 1. Introduction :

Les insectes constituent indiscutablement le taxon animal le plus diversifié avec 5 à 10 millions d'espèces estimées (Odegaard, 2000 ; Niven *et al.*, 2008). Bien que 0,4% des insectes soient considérés nuisibles pour les activités anthropiques et représentent de véritables "pests", les ravages causés par ces derniers sont considérables tant pour la production agricole que la santé humaine et animale (Nicholson, 2007).

Le terme anglais pest vient du latin *pestis*, qui signifie "fléau", il est défini selon le concise oxford dictionary comme étant "une source de gêne ou de destruction, qu'il s'agisse d'une personne, d'un animal ou d'une chose" (Badi, 2015). Dans le même contexte, Dempster (1975) définit le ravageur comme étant "Tout animal causant des dégâts économiques aux cultures et aux animaux domestiques, ou qui est nuisible à la santé humaine". Les ravageurs sont donc toutes espèces dont l'activité les rend hostiles au bien être de l'homme (McKay *et al.*, 2013 ; Menasria *et al.*, 2014 ; White *et al.*, 2014 ; Govindarajan & Rajeswary, 2015 ; Badi, 2015).

Après les moustiques, les mouches sont les insectes qui intéressent le plus l'hygiéniste. On désigne vulgairement sous le nom de "mouches" tous les diptères à antennes courtes qui possèdent souvent une assez forte taille et un corps trapu. À cette catégorie appartiennent diverses Muscidés, Calliphoridés, Sarcophagidés, Syrphidés, Stratiomyidés, Drosophilidés, etc... (Rageau, 1958). Les drosophiles sont connues partout dans le monde sous des noms divers : mouches du vinaigre ou petites mouches des fruits. Ces insectes très communs vivent souvent à proximité des activités humaines (Delbac *et al.*, 2014). La majorité des drosophiles sont frugivores, elles se développent dans les fruits trop mûrs, voire pourris, avec une attirance pour les jus fermentés et le lait gâté. D'autres espèces se nourrissent de champignons, de fleurs ou d'autres sont des prédateurs d'invertébrés (Merritt *et al.*, 2003). Près de 3 300 espèces de drosophiles ont été décrites dans le monde entier, réparties en 66 genres dont le genre *Drosophila* (O'Grady, 2003).

*Drosophila melanogaster* (M.), l'espèce la plus répandue dans le monde, est considérée comme une nuisance redoutée tant pour le désagrément causé par les maladies parasitaires qu'elles peuvent inoculer (Jolivet, 1980 ; Joly, 2006 ; Habbachi *et al.*, 2013a). Elle représente également un vecteur important de divers microorganismes infectieux, comprenant des levures et des bactéries phytopathogéniques qui s'attaquent non seulement aux cultures maraîchères et fruitières mais aussi aux cultures de céréales ou de tournesol (Kloepper *et al.*,



1979 ; Corby-Harris *et al.*, 2007 ; Nadarajah & Stavrinides, 2011 ; Becher *et al.*, 2012). Les drosophiles adultes peuvent devenir gênants par leur pullulation. Les larves ingérées avec des fruits infestés ou des liquides conservés dans des récipients malpropres causent une diarrhée et parfois des myiases intestinales (Rageau, 1958 ; Joly, 2006 ; Delbac *et al.*, 2014).

Parmi autres insectes qui sont bien connus pour ses capacités invasives, les blattes occupent une place importante. Ces dernières appelées aussi cafards ou cancrelats, sont des insectes Dictyoptères, descendants des Aptérygotes, sous-classe primitive dépourvue d'ailes (Schal *et al.*, 1984 ; Grandcolas, 1998 ; Tine, 2013 ; Mourier, 2014). Apparus sur terre il y'a environ 400 millions d'année (Koehler & Patterson, 1987), leurs distribution est mondiale, de l'Arctique à l'Antarctique en passant par les Tropiques (Ebling, 1978). Parmi les 4000 espèces de blattes connues, la grande majorité vit dans la nature où elles sont importantes pour l'écosystème, de part leurs régime omnivore, en participant au recyclage rapide de la matière organique (Cornwell, 1968). Une vingtaine d'espèces seulement occupent les habitations humaines ; elles se sont répondues en suivant les routes commerciales maritimes, terrestres et aériennes et constituent un important problème sanitaire (Grandcolas, 1998 ; Blanc, 2000).

Les blattes, inféodées à l'homme et qualifiées d'espèces domiciliaires ou urbaines, principalement *Periplaneta americana*, *Blatta orientalis*, *Suppella longipalpa* et *Blattella germanica* (Grandcolas, 1998), sont des espèces qui vivent la nuit et qui s'abritent dans les endroits qui leur fournissent un microclimat convenable et un accès facile à la nourriture (Roth & Willis, 1960). Ces insectes peuvent créer de sérieux dégâts pour les denrées alimentaires et être une source de diverses pathogènes pour l'homme. En effet, des études ont démontré que les blattes pouvaient véhiculer différents sortes de bactéries et provoquer des allergies cutanées et respiratoires chez l'homme allant jusqu'à des crises d'asthme et transmettre aussi des maladies infectieuses comme l'hépatite, le choléra et la tuberculose (Frichman & Alcamo, 1977 ; Rivault *et al.*, 1994 ; Baumholtz *et al.*, 1997 ; Messiad, 2006 ; Nejati *et al.*, 2012).

La blatte germanique, *Blattella germanica* (L.), est l'espèce la plus répondue sur la planète, responsable de 90% des infestations rapportées (Elie, 1998). Elle est devenue la blatte la plus communément associée à l'homme et aux structures publiques et privées qu'il a crée en raison de son potentiel reproducteur élevé (Willis *et al.*, 1985 ; Elie, 1998 ;

**Grandcolas, 1998)** et de sa résistance aux conditions difficiles (faim, soif, submersion) (**Rivault et al., 1995**).

Un immense effort est actuellement accompli à l'échelle mondiale pour lutter contre les insectes nuisibles par plusieurs méthodes, qu'elles soient physiques, biologiques ou chimiques (**Bensafi-Gheraïbia, 2015**), mais la lutte à l'aide des pesticides chimiques est la plus adoptée à cause de leurs efficacités sur la cible (**Cantrell et al., 2012 ; Casida & Durkin, 2013 ; Boulahbel, 2015**). Cependant, les signes évidents de toxicité et les conséquences néfastes de l'usage massif de pesticides conventionnels, comme les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates, ne sont plus à prouver puisqu'ils causent des dommages à l'environnement, la biodiversité et à la santé humaine. Ils entraînent une perte d'efficacité liée au développement de résistance des insectes et des pertes économiques importantes (**Eriksson et al., 1992 ; Snedeker, 2001 ; Schoeters & Hoogenboom, 2006 ; Bonde et al., 2008 ; Ekström & Ekbom, 2011 ; Kohler & Triebkorn, 2013 ; Gupta & Milatovic, 2014**).

Ce qui rend urgent l'orientation vers d'autres moyens de lutte qui font appel aux composés naturels propres au monde vivant (végétal ou micro-organismes) pouvant être à l'origine de traitements préventifs et curatifs (**Mehaoua, 2014**). Dans ce contexte les biologistes ont mis l'accent sur la création de d'une nouvelle génération de biopesticides à base d'huiles naturelles, de bactéries pathogènes, des régulateurs de croissance d'insectes (IGR), de phéromones, de nématodes et de toxines marines (**Abdullah, 2009**).

De plus, les recherches sur les produits naturels d'origines végétales susceptibles d'avoir une activité phytosanitaire (biopesticides) retrouvent un regain d'intérêt (**Mordue et al., 2010 ; Bezzar-Bendjazia, 2016**). Les plantes produisent des substances actives ayant des propriétés insecticides, aseptiques ou encore régulatrices de la croissance des insectes. Le plus souvent, ces substances actives sont des métabolites secondaires qui, à l'origine, protègent les végétaux des herbivores et elles affectent profondément le comportement des insectes phytophages (**Benayad, 2008 ; Deravel et al., 2014**).

Les biopesticides en générale et ceux d'origines végétales en particulier offrent de nombreux avantages. Ils sont écologiquement beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des espèces contre lesquelles ils sont dirigés (**Deravel et al., 2014**). Ces molécules sont moins rémanentes que leurs homologues chimiques et possèdent une toxicité plus faible vis-à-vis des espèces non ciblées, ce qui

supporte une utilisation compatible dans les programmes de lutte intégrée (**Deravel et al., 2014**). De plus, les biopesticides végétaux sont souvent efficaces en faible quantité et leurs molécules bioactives emploient plusieurs modes d'action, ce qui les rend particulièrement intéressantes pour limiter l'apparition de bio-agresseurs résistants (**Deravel et al., 2014**).

Cette action phytosanitaire des plantes est appelée à se développer et fait l'objet de nombreux travaux (**Boulogne, 2011 ; Bezzar-Bendjazia, 2016**). Cependant, elle n'est pas si récente puisque les espèces végétales sont parmi les premiers pesticides naturels connus depuis l'Antiquité (**Boulogne, 2011 ; Badi, 2015**) ; les anciens Perses ayant découvert les propriétés insecticides des fleurs broyées du pyrèthre, une plante de la famille des Astéracées (**Ramade, 2011**). En Inde, l'usage du soufre et du neem (*Azadirachta indica*) comme insecticide semble remonter à environ 2000 ans avant Jésus Christ (**Philogène et al., 2002**). En Chine, l'utilisation des dérivés arsenicaux comme insecticides est connue depuis le XVI<sup>ème</sup> siècle. C'est vers la fin de ce siècle et au cours du suivant que sont découvertes les propriétés insecticides du tabac (nicotine), ainsi que celles des racines de plantes de la famille de Papilionacées telles que *Lonchocarpus* ou *Derris* (roténone) (**Philogène et al., 2002**).

**Yang & Tang (1988)** ont étudié les plantes utilisées pour le contrôle des insectes nuisibles et ont trouvé qu'il existe une forte corrélation entre les plantes médicinales et les pesticides (**Jbilou et al., 2006**). Ainsi plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées dont le produit le plus utilisé est l'huile de neem, un insecticide extrait des graines d'*Azadirachta indica* (**Schmutterer, 1990**). Les molécules du métabolisme secondaire des plantes appartiennent à des familles chimiques très diverses telles que les alcaloïdes, les phénols, les flavonoïdes, les trépénoïde et les stéroïdes (**Benayad, 2008**). Ces produits ont également été étudiés pour leur toxicité aiguë, leurs effets anti-appétants, répulsifs ou attractifs et fumigeants, ainsi que l'inhibition de la reproduction de nombreux espèces ravageurs (**Cox, 2004 ; Kubo, 2006**).

Depuis des décennies, la plus part des travaux en Algérie convergent vers l'utilisation des extraits de plantes comme moyen de lutte contre divers ravageurs (**Aouinty et al., 2006 ; Kemassi, 2008 ; Lebouz, 2010 ; Bounechada & Arab, 2011 ; Merabti et al., 2015**). La flore algérienne avec ses 3000 espèces appartenant à plusieurs familles botaniques, dont 15% endémiques (**Quezel & Santa, 1963**), reste très peu explorée sur le plan phytochimique (**Ayad, 2008**), ainsi par leurs propriétés insecticides et leurs pouvoirs intrinsèques. C'est dans

cet esprit que nous aborderons le cas de deux plantes spontanées réputées toxiques, il s'agit de *Peganum harmala* et *Daphne gniduum*.

*Peganum harmala* (Zygophyllaceae), appelé aussi le "*harmel*", est une plante aromatique qui possède de nombreuses vertus thérapeutiques (Ahmad *et al.*, 1992 ; Zaïdi & Munir, 1995 ; Bellakhdar, 1997). C'est une plante très toxique pour les animaux et l'homme en particulier (El Bahri & Chemli, 1991 ; Bruneton, 1993 ; Bellakhdar, 1997). Les effets de ses alcaloïdes indoliques ont été rapportés notamment sur la fécondité, le développement ovarien, la structure des œufs et de la fertilité chez les criquets (Abbassi *et al.*, 2003a,b,c ; Abbassi *et al.*, 2005 ; Idrissi Hassani & Hermas, 2008).

*Daphne gniduum*, appelé aussi le "*garou*", est un arbuste de la famille des Thyméléacées. En Phytothérapie, la plante est indiquée dans le traitement de diverses maladies ; elle possède des effets cytotoxiques, antioxydants et antimicrobiens (Benayad, 2008). Sa toxicité provient des coumarines et des flavonoïdes qu'elle contient (Mohammedi, 2013). Ces derniers peuvent perturber la croissance, inhiber la mue d'insectes. Ils servent également de puissants anti-appétant et insectifuges (Maistrello *et al.*, 2005).

Les différents types de comportements rencontrés chez les insectes dépendent principalement d'un ensemble d'actes moteurs commandés par le système nerveux en réponse à des stimuli chimiques provenant de facteurs externes (nourriture, phéromones sexuelles, phéromones d'alarme, sécrétions aphrodisiaques, phéromones grégaires,...) (Kaiser, 1999). Des études récentes décrivent que les pesticides pourraient aussi interférer avec la communication chimique (les sens olfactifs et gustatifs) des espèces exposées et donc provoquer des réponses comportementales inadaptées (Desneux *et al.*, 2007). Quelques études ont montré l'impact de doses sublétales d'insecticides sur le comportement d'insectes nuisibles ou utiles (Haynes, 1988 ; Lürning & Scheffer, 2007) et notamment une diminution des réponses comportementales aux phéromones sexuelles chez des individus traités (Wei & Du, 2004 ; Zhou *et al.*, 2005).

Dans ce travail, nous avons évalué la toxicité d'extraits aqueux des deux plantes, *P. harmala* (feuilles, fleurs et graines) et *D. gniduum* (feuilles et baies) sur les larves du 2<sup>ème</sup> stade de *D. melanogaster* et les adultes de *B. germanica*. Après cette étude toxicologique, nous avons également testé les effets sublétaux ou différés de chaque produit sur :

- Le cycle vital, la communication chimique (comportement alimentaire des laves du 3<sup>ème</sup> stade, sexuel et oviposition) et sur le nombre d'œufs pondus chez la mouche.
- Le comportement sexuel (succès reproducteur), la production de l'oothèque et le nombre des larves viables, ainsi sur le comportement grégaire (orientation olfactive) chez la blatte.

## 2. Matériel et Méthodes :

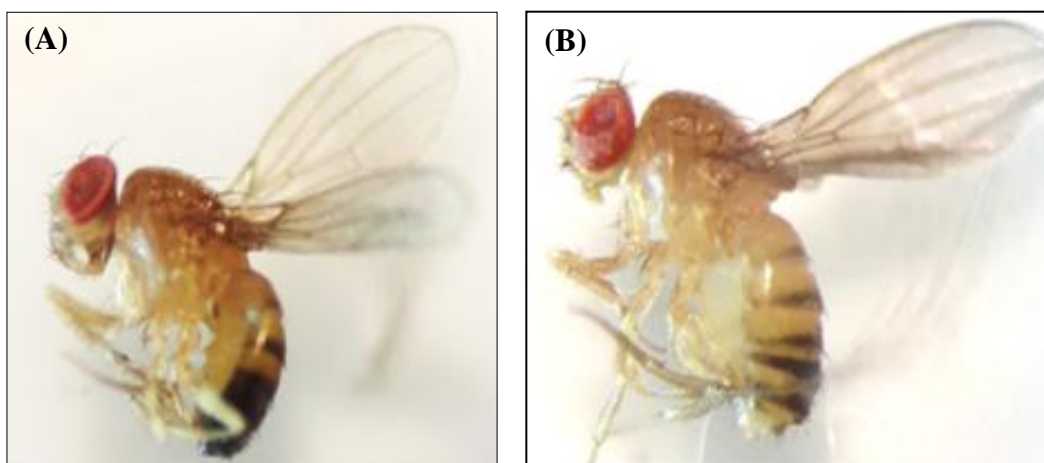
### 2.1. *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) :

#### 2.1.1. Présentation de l'insecte :

La drosophile est un insecte Diptère Brachycère (Joly, 2006), connue sous le nom de « mouche de vinaigre » pour son attirance envers les produits fermentés (Mc Kenzie, 1974 ; Mc Kenzie & Mc Kechnie, 1979 ; Hoffmann & Parsons, 1991). Elle a une alimentation très variée, se nourrissant sur les fruits et légumes mûrs, les végétaux et champignons en décomposition et les liquides fermentés et sucrés (Tracqui & Demongeot, 2003).

Il existe différents groupes et espèces de drosophile dont l'espèce la plus représentante, *Drosophila melanogaster* du groupe melanogaster. Elle est d'origine tropicale (Afrique de l'est), qui a subi une répartition globale probablement à cause des activités humaines, et dont l'abondance est corrélée au niveau d'urbanisation des régions (Avondet *et al.*, 2003 ; Keller, 2007).

Cet insecte holométabole, hygrophile et lucicole de couleur jaune brunâtre pèse environ 0,5 mg et mesure 3 à 4 mm de long, ailes incluses (Gilbert, 1996 ; Slack, 2004). Son abdomen est plutôt court et rayé de bandes sombres, elle présente un dimorphisme sexuel (Parvathi *et al.*, 2009) ; son extrémité est foncée et arrondie chez le mâle, plus claire et pointue chez la femelle (Fig. 1). Le mâle se distingue aussi par sa plus petite taille et par la présence de « peignes sexuels » sur ses pattes avant.



**Figure 1.** *D. melanogaster* (Photos originales)

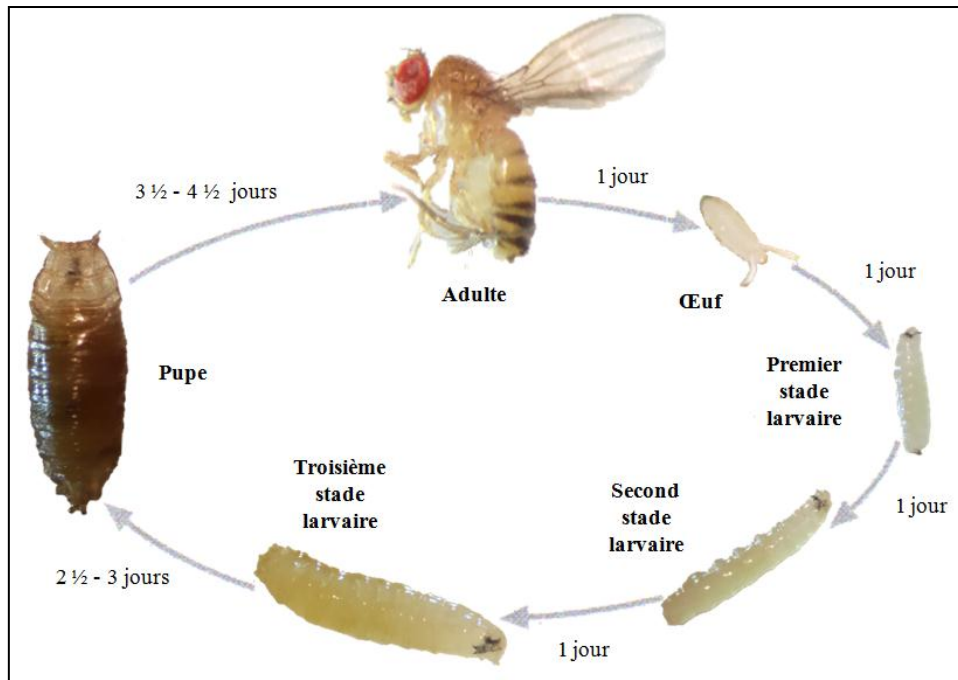
[A : Mâle ; B : Femelle (x 4,5)]

La position systématique de *D. melanogaster* est la suivante :

Règne :	Animalia
Embranchement :	Arthropoda
Sous Embranchement :	Mandibulata
Classe :	Insecta
Sous-classe :	Pterygota
Infra-classe :	Neopetera
Ordre :	Diptera
Sous-ordre :	Brachycera
Infra-ordre :	Muscomorpha
Famille :	Drosophilidae
Sous-famille :	Drosophilanae
Genre :	<i>Drosophila</i>
Espèce :	<i>Drosophila melanogaster</i> (Meigen, 1830)

Le cycle de reproduction de la drosophile varie en fonction de la température et dure environ 12 jours à 25°C (Chabaud, 2008). Après l'accouplement, la femelle pond ses œufs sur la chair des fruits mûrs et blessés une centaines d'œufs allongées et blanchâtres d'environ 0,5 mm de long (Griffiths *et al.*, 2002 ; Tavernier & Lizeaux, 2002). Le stade embryonnaire dure 24h. Après l'éclosion, la drosophile apparaît sous forme d'une larve blanchâtre et commence immédiatement à se nourrir. Le développement larvaire comprend trois stades ponctué par 2 mues successives (à 24h et à 48h) et est caractérisé par une forte activité alimentaire. À la fin du 3<sup>ème</sup> stade larvaire, l'asticot cesse de se nourrir, quitte le milieu nutritif, s'immobilise et se transforme en puppe. Elle subit alors une métamorphose complète qui dure environ 5 jours, transformant progressivement son organisme larvaire en un individu adulte (Fig. 2). À l'émergence, l'imago recommence à s'alimenter, il passe encore par une phase de 8h à 12h d'immaturité ou son système nerveux finit de se développer, puis le nouvel adulte devient sexuellement mature et s'engage dans la reproduction (Tavernier & Lizeaux, 2002). La durée de vie de la drosophile est de 30 jours environ (Lorec, 2013).

Les drosophiles ont une stratégie de reproduction de type itéroparité (par opposition avec la stratégie de semelparité) (Costa 2006), c'est à dire que les femelles se reproduisent plusieurs fois au cours de leur cycle de vie et pondent des œufs en grande quantité à différents endroits et à plusieurs périodes de temps. Chaque femelle adulte peut donner plus de 300 descendants (Bouharmont *et al.*, 2007). Cette stratégie se base sur le fait que la probabilité de survie d'un adulte est plus élevée que la probabilité de survie d'un individu de la progéniture (Chabaud, 2008).



**Figure 2. Cycle de vie de *D. melanogaster*** (Photo originale)

[A : Œuf (x 50) ; B : Stade larvaire, pupal et adulte (x 4,5)]

### 2.1.2. Élevage :

Les drosophiles utilisées pour l'ensemble d'expérimentations sont une souche sauvage récoltée sur des pommes pourries dans la région d'Annaba (Algérie).

Les mouches sont maintenues au laboratoire à une température de 25°C sous une photopériode de 12 heures de jour et 12 heures de nuit avec un taux d'humidité relative de 70%. Elles sont élevées dans des tubes en verres (9,5 x 2,5 cm) et des flacons contenant du milieu nutritif standard [farine de maïs (33,33 g), de levure (33,33 g), d'agar-agar (4,8 g) et d'antifongique (25 ml de méthyl-hydroxy-4-benzoate à 10% dans l'éthanol 70%)] nécessaire pour la ponte, le développement et l'alimentation des larves et adultes. Pour la préparation du milieu nutritif, on met dans une cocotte tous les produits secs et on ajoute le volume nécessaire d'eau tiède en remuant à la spatule pour éviter les grumeaux. On chauffe la plaque en remuant jusqu'à ce que le milieu s'épaississe. À la fin, on le laisse pour refroidir quelques minutes et on rajoute l'antifongique progressivement.

La mise en œuvre du milieu d'élevage est réalisée en répartissant à chaud le substrat (15 à 30 ml) dans le fond des flacons, des erlenmeyers de 250 ml et des tubes en verre à fond rond (de 9,5 cm de hauteur et de 2,3 cm de diamètre) obturés par une éponge poreuse (**Fig. 3,4**). Ce



milieu peut être gardé au réfrigérateur pendant environ un ou deux mois jusqu'au moment d'utilisation.



Figure 3. Flacons d'élevage (Photo originale)



Figure 4. Tubes d'élevage (Photo originale)

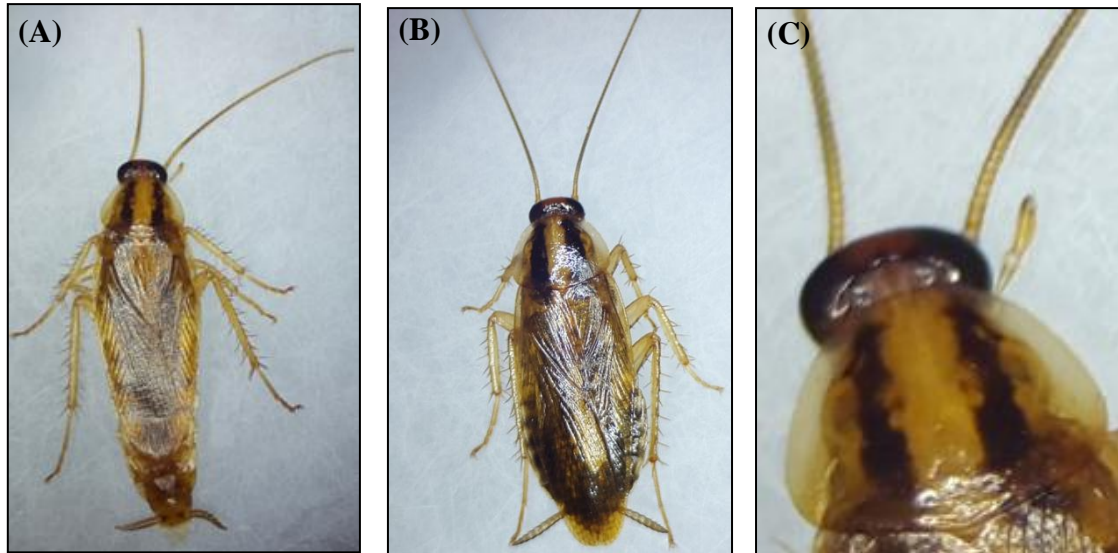
## 2.2. *Blattella germanica* (Linnaeus, 1767) :

### 2.2.1. Présentation de l'insecte :

La blatte germanique, *B. germanica* (L.), de l'ordre des Dictyoptères et de la famille des Blattellidae (Guillaumin *et al.*, 1969). Elle est originaire des régions du nord-est africain, entre les grands lacs, l'Éthiopie et le Soudan. D'Afrique du nord, elle a gagné l'Europe de l'est depuis plus de deux cents ans, ainsi l'Asie mineure et le sud de la Russie (Tokro, 1984 ; Mourier, 2014).

C'est une espèce de petite taille (10 à 15 mm de longueur), qui se caractérise par une couleur brune tirant sur le jaune et par deux bandes longitudinales de couleur noire sur le pronotum (Habbachi, 2013). Les adultes des deux sexes ont des ailes bien développées. Les femelles sont plus sombres et possèdent un corps trapu et robuste avec un abdomen arrondi

complètement recouvert par les ailes, alors que les mâles présentent un abdomen effilé et un pygidium non recouvert par les ailes laissant visible le segment terminal de l'abdomen (**Rust et al., 1995**) (**Fig. 5**). À l'extrémité postérieure de l'abdomen se trouve deux appendices sensoriels : les cerques, pourvus de soies à fonction tactile, olfactive et auditive (**Wigglesworth, 1972**).



**Figure 5.** *B. germanica* (Photos originales)

[A, B : Mâle et Femelle (x 0,67) ; C : Bandes noires caractéristiques (x 4,5)]

Sa position systématique est la suivante :

Règne :	Animalia
Embranchement :	Arthropoda
Sous Embranchement :	Mandibulata
Classe :	Insecta
Sous-Classe :	Aptérygota
Super-Ordre :	Blattopteroiidae
Ordre :	Dictyoptera
Sous-Ordre :	Blattaria
Super-Famille :	Blaberoidae
Famille :	Blattellidae
Sous-Famille :	Blattellinae
Genre :	<i>Blattella</i>
Espèce :	<i>Blattella germanica</i> ( <b>Linnaeus, 1767</b> )

*B. germanica* est une espèce domestique cosmopolite, omnivore, nocturne à développement hétérométabole (**Gordon, 1996** ; **Guillaumin et al., 1969** ; **Miller & Koehlen, 2003**). Les femelles peuvent produire 5 à 8 oothèques dans leur vie contenant 30 à

48 œufs, elles pondent ainsi 300 œufs en moyenne au cours de leur vie. Les oothèques sont déposées près d'une source de nourriture, 24 heures avant l'éclosion (Tanaka, 1976 ; Gordon, 1996). Aussitôt, les nouveau-nés partiront en quête de cette dernière. Il faut compter environ deux semaines pour la formation d'une deuxième oothèque (Jacobs, 2013). Les jeunes larves qui éclosent sont molles, de couleur blanchâtre et, après tannage de la cuticule en quelques heures, prennent une couleur brunâtre. Les larves sont aptères (Willis *et al.*, 1958). Le développement larvaire présente 5 à 7 stades successifs séparés par des mues. Dans des conditions propices (25° et 70% d'humidité relative), il se fait en 5 à 6 mois (Wattiez & Beys, 1999) (Fig. 6). Il peut prendre plus d'un an si les conditions sont défavorables (Mourier, 2014). L'espérance de vie de la blatte est de 100 à 200 jours (Mourier, 2014). Une blatte peut à elle seule avoir jusqu'à 10000 descendants au bout d'un an, à raison de deux générations (Borozan-Dorey, 2002).

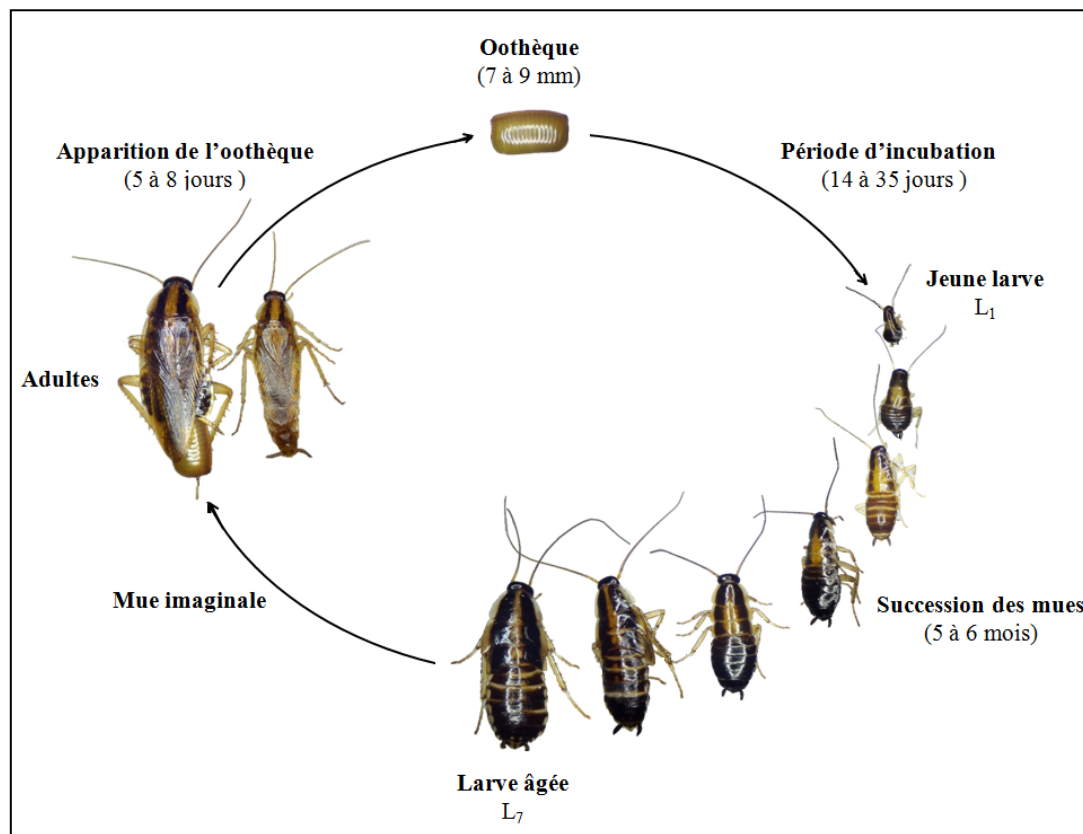


Figure 6. Cycle de vie de *B. germanica* (x 0,67), (Photo originale)

### 2.2.2. Élevage :

Les prélèvements des blattes se font à différents endroits de la ville (hôpitaux, structures commerciales, résidences universitaires et logements). Les expérimentations sont réalisées sur

des insectes de 4<sup>ème</sup> à 5<sup>ème</sup> générations à fin d'éviter les résidus d'insecticides dans le cas où ils ont été mis en contact avec ces derniers.

L'élevage de masse (**Fig. 7**) se fait dans des boîtes en plastiques transparentes présentant des orifices grillagées. Des cartons à œufs font office d'abris. Les blattes sont nourries de biscuits pour chiens (Royal Canin) et abreuvées grâce à des tubes remplis d'eau et bouchés par du coton ; ces tubes assurent également l'humification du milieu. L'élevage est maintenu à une température de  $25 \pm 2^\circ\text{C}$ , une hygrométrie de 70 à 80% et une scotophase de 12 : 12h.



**Figure 7.** Élevage de masse de *B. germanica* (Photo originale)

### 2.3. Plantes testées :

Dans la présente étude, nous avons choisi deux plantes en raison de ces propriétés toxiques, appartenant à des familles botaniques très différentes. Il s'agit de *Peganum harmala* et *Daphné gniduum*.

#### 2.3.1. *Peganum harmala* (Linnaeus, 1753) :

##### 2.3.1.1. Présentation de la plante :

*P. harmala* (L.) appartient à la famille des Zygophyllaceae, elle se trouve de façon abondante dans les zones subdésertiques de l'Afrique du Nord (Maroc, Algérie, Tunisie, Libye, Egypte) et dans certaines régions de l'Europe méditerranéenne (**Bézanger-**

**Beauquesne et al., 1980 ; Massoud et al., 2002)** et en Asie (Iran, Pakistan, Turkestan, Tibet) (**Bézanger-Beauquesne et al., 1980**).

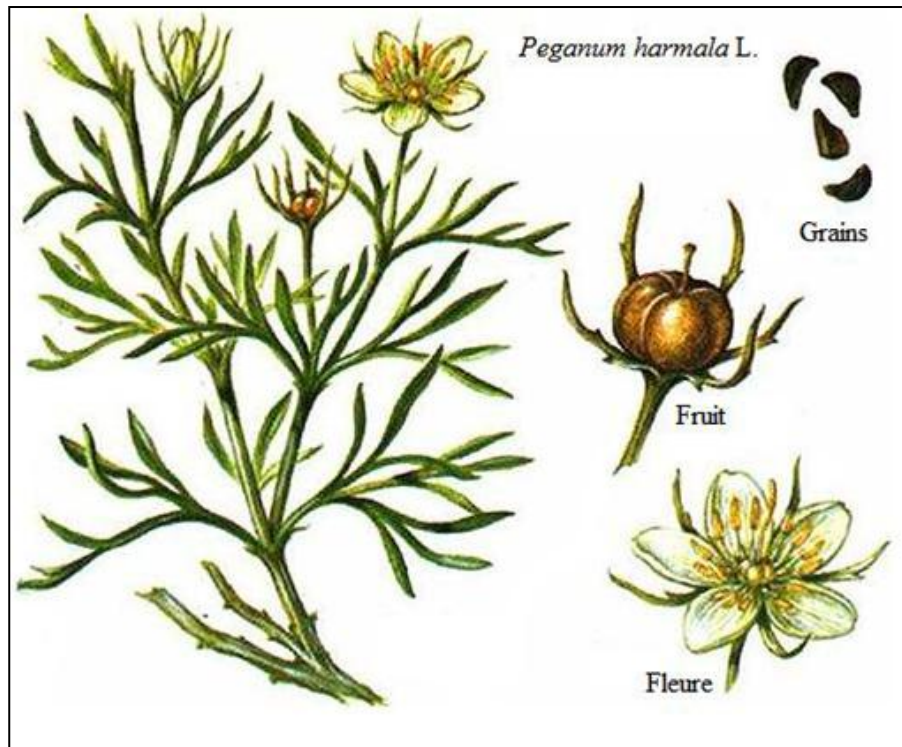
En Algérie, *P. harmala* (L.) est commune aux hauts plateaux, au Sahara septentrional et méridional, et aux montagnes du Sahara central. Il est réputé pour les terrains sableux, dans les lits d'oued et à l'intérieur des agglomérations (**Chopra et al., 1960 ; Ozenda, 1991 ; Maire, 1933**) (**Fig. 8**).



**Figure 8. Arbuste de *P. harmala* L.**

**(Source : Faculty.ksu.edu.sa)**

Harmel est une plante herbacée vivace, buissonnante de 30 à 90 cm de haut. Les feuilles alternes vertes glauques, sont divisées en lanières étroites. Elles émettent une odeur désagréable quand on les froisse. Les fleurs solitaires, assez grandes (25 à 30 mm), d'un blanc-jaunâtre veinées de vert. Les graines nombreuses, petites, anguleuses, subtriangulaires, de couleur marron foncé, dont le tégument externe est réticulé et renferme un pigment rouge connu sous le nom de "*Turkey red*" (**Fig. 9**). Les graines ont une saveur amère et sont récoltées pendant l'été (**Chopra et al., 1960 ; Quezel & Santa, 1963 ; Ozenda, 1977**).



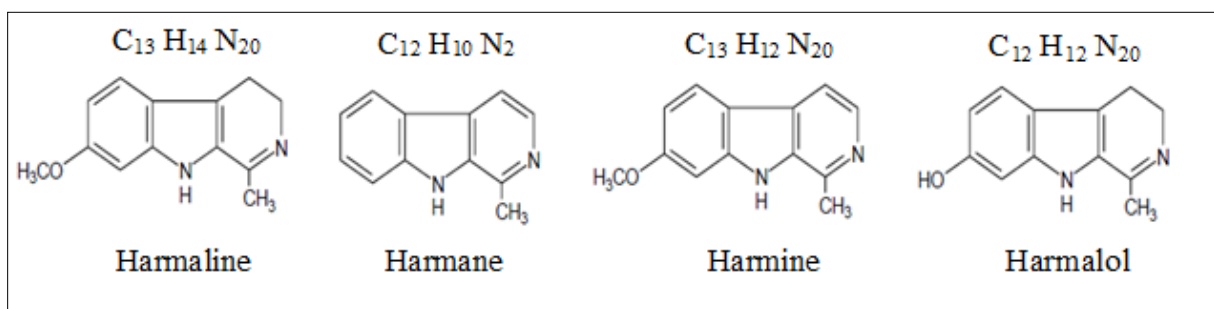
**Figure 9. Différentes parties de l'espèce *P. harmala***

(Source : [Healthyhomegardening.com](http://Healthyhomegardening.com))

C'est une espèce très toxique pour les animaux et l'homme en particulier (Aqel & Haddi, 1991 ; El Bahri & Chemli, 1991 ; Bruneton, 1993 ; Ayoub *et al.*, 1994 ; Bruneton, 1996). Elle est responsable de la paralysie du système nerveux et entraîne la mort par arrêt respiratoire chez les vertébrés, et peut provoquer l'interruption de grossesse chez les femmes (Bellakhdar, 1997). Elle est également abortive et anti-fertilisante chez les rats (Nath *et al.*, 1993 ; Lamchouri *et al.*, 2002). La plante est connue ainsi pour leurs propriétés antibactériennes, antifongiques et antivirales (Bellakhdar, 1997 ; Mahmoudian *et al.*, 2002 ; Nenaah, 2010), possédant également une activité anti-protozoaire notamment contre la leishmaniose (Lala *et al.*, 2004 ; Yousefi *et al.*, 2009), la theileriose méditerranéenne et tropicale (Mirzaei, 2007), le paludisme (Kayser, 2003), ainsi qu'un pouvoir insecticide sur les criquets *Schistocerca gregaria* (Idrissi *et al.*, 1998) et nématocide contre *Meloidogyne ssp.*, nématodes à galles (El-Allagui *et al.*, 2007).

Des études phytochimiques ont mené à l'isolation de plusieurs types de composés chimiques dans ses différentes parties, tels que les alcaloïdes, les stéroïdes, les flavonoïdes, les coumarines, les anthraquinones, les bases volatiles, les tanins, les stérols, les triterpènes, les acides aminés (valine, proline, thréonine, histidine, acide glutamique, l'aniline, N-phénylformamide, et N-acétylaniline phénylalanine) et les polysaccharides...etc (Chatterjee

& Ganguly, 1968 ; Sharaf *et al.*, 1997 ; Movafeghi, 2009). Parmi ces derniers, les alcaloïdes, généralement de type  $\beta$ -carbolines tels que l'harmine, l'harmaline, l'harmalol, l'harmol et le tetrahydroharmine, sont responsables de la toxicité de la plante (Kartal *et al.*, 2003 ; Xing *et al.*, 2012) (Fig. 10). Le taux d'alcaloïdes est beaucoup plus élevé dans la graine (3 à 4%) que dans la racine, la tige (0,36%) et la feuille (0,52%) (Frison *et al.*, 2008 ; Shao *et al.*, 2013). La teneur en alcaloïdes s'élève brusquement en été, durant la phase de mûrissement du fruit, au moment de la récolte de la graine (Ben Salah *et al.*, 1986). L'harmaline est un méthoxy-harmalol et une dihydroharmine, elle constitue les 2/3 des alcaloïdes totaux de la graine (Tahrouch *et al.*, 2002).



**Figure. 10 : Structure chimique d'alcaloïdes isolés des graines du *P. harmala* (Mahmoudian *et al.*, 2002)**

Selon Ozenda, 1991, La position systématique de *P. harmala* est la suivante :

Règne :	Végétal
Embranchement :	Spermatophytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous classe :	Rosidae
Ordre :	Sapindales
Famille :	Zygophyllaceae
Genre :	Peganum
Espèce :	<i>Peganum harmala</i> (Linnaeus, 1753)

### 2.3.1.2. Préparation des extraits végétaux :

Pour la présente étude, il est adopté une méthode d'extraction dont la décoction pour extraire les principes actifs, à partir de feuilles, fleurs et graines de *P. harmala*. La plante a été collectée dans la région de Laghouat en Algérie (latitude 33°47'59" N, longitude 2°51'54" E), où elle pousse essentiellement. Cinq cent grammes de chaque partie sont mises, séparément, à bouillir dans 1600 ml d'eau distillée pendant une 1h 15 min sur une plaque chauffante à

180°C. Le mélange obtenu est filtré à l'aide d'un papier filtre (Wattman). Le filtrat récupéré représente une solution stock initiale à 1000 µg/ml.

### 2.3.2. *Daphne gnidium* (Linnaeus, 1753) :

#### 2.3.2.1. Présentation de la plante :

*Daphne gnidium*, plus connu sous le nom de Garou, Thymèle ou Saint bois, appartient à la famille des Thyméléacées. C'est un arbuste des garrigues méditerranéennes (**Pottier-Alapetite, 1979**) et des sables atlantiques, existe dans tout le Tell de l'Algérie (**Benayad, 2008 ; Mohammedi, 2013**) (**Fig. 11**).



**Figure 11.** Arbuste de *D. gnidium* (Photo originale)

C'est un arbrisseau, de 60 cm à 2 m de haut ou plus, à rameaux minces très feuillés. Des feuilles persistantes ou caduques, lancéolées-linéaires, larges de 5 à 7 mm au plus, cuspidées et très denses (**Benayad, 2008 ; Mohammedi, 2013**). Inflorescences terminales en panicule rameuse longue de 5 à 10 cm, entièrement blanche-tomentueuse, fleurs blanches caduques. Le fruit (**Fig. 12**) est une drupe ovoïde, rouge orangé (**Julve, 1998**). La floraison va d'octobre à mars, c'est une plante entomogame (**Mohammedi, 2013**).





**Figure. 12 : Parties de l'espèce *D. gnidium***

[A : Feuilles ; B : Baies rouges (Photos originales)]

*D. gnidium* est considéré comme dangereux en raison de sa forte toxicité. Il produit des maux de tête, frissons, pâleur, dilatation de la pupille, enflure de la bouche et des lèvres, difficulté de déglutition, la diarrhée et les spasmes digestifs, convulsions, troubles pulmonaires et la mort (Charnot, 1945 ; Bellakhdar, 1997 ; Chaabane *et al.*, 2012). Le Garou possède des effets cytotoxiques, antioxydants et antimicrobiens (Mohammedi, 2013). Cependant, peu de travaux ont été consacrés pour son activité insecticide.

Le *D. gnidium* contient des coumarines (Daphnétine, daphnine, acétylimbelliférone, daphnorétine) et des flavonoïdes (lutéolin-3',7-di-*O*-glucoside lutéoline, orientine, isoorientine, quercétine, apigénine-7-*O*-glucoside, genkwanine, 5-*O*-b-D-primeverosyl genkwanine, 2,5,7,4'-tétrahydroxyisoflavanol) et l' $\alpha$ -tocophérol (Mohammedi, 2013). Les graines et les écorces des différentes espèces de *Daphne* renferment des diterpènes toxiques, la daphnétoxine (écorce) et la mézéréine (graines) (Mohammedi, 2013). La Classification classique de la plante est sous la forme suivante :

Règne :	Végétal
Embranchement :	Phanérogames
Sous Embranchement :	Angiospermes
Classe :	Eudicots
Ordre :	Malvales
Famille :	Thymelaeaceae
Genre :	<i>Daphne</i>
Espèce :	<i>Daphne gnidium</i> (Linnaeus, 1753)

### 2.3.2.2. Préparation des extraits végétaux :

La matière végétale a été prélevée depuis les forêts de l'Edough dans la région de Séraïdi à Annaba (latitude 36° 55' 00" N, longitude 7° 40' 00" E), Nord Est d'Algérie. Nous avons procédé la même méthode d'extraction (la décoction) pour obtenir des extraits aqueux à partir de 500 g de feuilles fraîches et de 200 g de baies de *D. gnidium*.

## 2.4. Caractérisation des effets létaux et sublétaux des extraits végétaux chez *D. melanogaster* :

### 2.4.1. Etude toxicologique :

Le test de toxicité consiste à exposer ou à administrer (par ingestion) de différentes concentrations d'extraits végétaux aux larves du 2<sup>ème</sup> stade de la drosophile (**Tab. 1**), dans des conditions bien contrôlées du laboratoire.

**Tableau 1 : Les concentrations utilisées pour le traitement des larves de la drosophile**

Concentrations		1 (µg/ml)	2 (µg/ml)	3 (µg/ml)	4 (µg/ml)
Molécules toxiques					
<i>P. harmala</i>	<b>Feuilles</b>	50	300	1000	-
	<b>Fleurs</b>	250	500	750	840
	<b>Graines</b>	50	200	300	-
<i>D. gnidium</i>	<b>Feuilles</b>	100	300	1000	-
	<b>Baies</b>	50	200	300	-

Dix millilitres de chaque concentration à tester, sont rajoutées à 40 g de milieu de culture, qui sont ensuite déposées en quatre tubes. Dans chaque tube, vingt larves prélevées au hasard dans l'élevage de masse, sont immergées. Vingt autres larves sont mises dans un autre tube ne contenant que la nourriture témoin, il s'agit d'un lot témoin (**Fig. 13**). Le suivi de la mortalité et du développement des larves se fait durant 15 jours. Les différentes malformations obtenues sont aussi enregistrées.

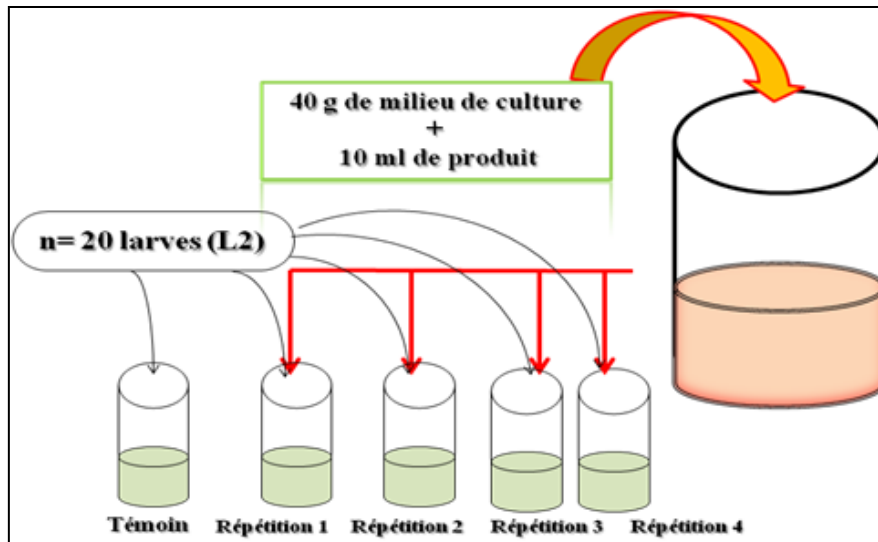


Figure. 13 : Traitement des larves du 2<sup>ème</sup> stade (Schéma original)

#### 2.4.2. Effets des traitements sur le comportement :

Dans ce travail, nous avons analysé les effets de différents extraits végétaux (à des concentrations sublétales) sur un comportement général aux insectes dont la drosophile, l'orientation olfactive, mis en jeu dans la recherche de la nourriture chez les larves, dans la reconnaissance des partenaires sexuels et dans la recherche des sites de ponte appropriés. Les concentrations sublétales (**Tab. 2**) utilisées lors de nos tests éthologiques sont citées dans le tableau suivant :

Tableau 2 : Les concentrations sublétales retenues dans les tests éthologiques

Molécules toxiques		Concentrations ( $\mu\text{g/ml}$ )
<i>P. harmala</i>	Feuilles	300
	Fleurs	840
	Graines	50
<i>D. gniduum</i>	Feuilles	300
	Baies	50

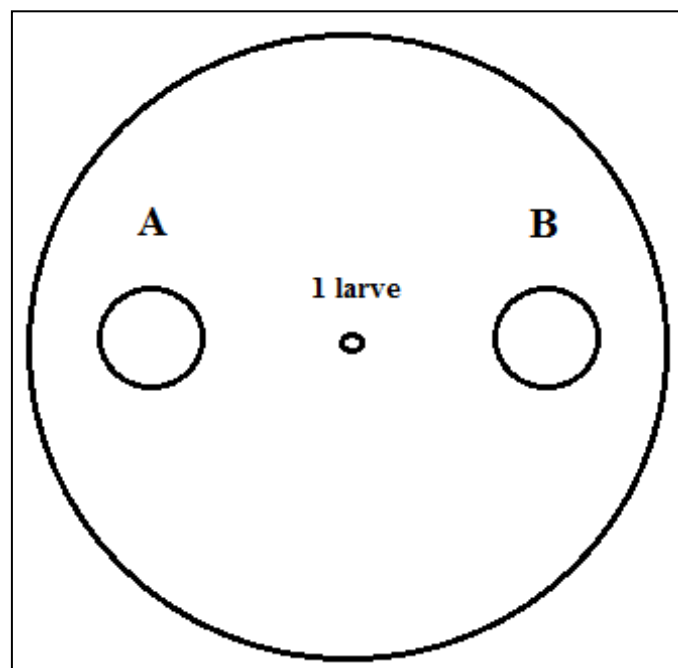
##### 2.4.2.1. Comportement alimentaire chez les larves du 3<sup>ème</sup> stade :

###### *Test d'attraction olfactive :*

Nous avons tout d'abord effectué des tests basiques afin de mettre en évidence un comportement larvaire associé aux différentes odeurs testées. Nous avons émis l'hypothèse qu'elles étaient capables de détecter leurs endroits, de les reconnaître et éventuellement de les distinguer.

Les larves testées sont prises au début du dernier stade larvaire (L<sub>3</sub>). Ces larves, dont le seul but est de se nourrir afin d'accumuler des réserves, sont faciles à manipuler et seront utilisées pour nos tests.

Afin de réaliser ces tests, nous avons utilisé le matériel suivant : boîtes de pétri en plastique (Ø 100 mm), papiers filtres Whatman, pinces fines, petites aiguilles (10 mm), spatules inox, chronomètres et coupelles en verre. L'arène de test utilisée est une boîte de pétri contenant de l'agar à 2%, dont le fond est recouvert d'un papier sur lequel on a dessiné au crayon deux 2 zones circulaires (Zone «A» et «B») disposées ligne ; chacune des zones représente 10% de la surface totale de l'arène (**Fig. 14**).



**Figure. 14 : Schéma de l'arène de test (Schéma original)**

[Boîte de pétri, Ø 100 mm]

Pour commencer, on a découpé les papiers filtres en forme cylindrique de 15 mm de diamètre, puis on les a rincé 3 fois à l'éthanol et on les a mis dans une étuve à 90°C pendant une nuit. Après le rinçage, ils seront manipulés uniquement avec les pinces. De la même manière, tout le matériel utilisé (pinces, boîte de pétri, coupelle en verre..., etc.) est aussi préparé 24 heures avant le jour d'utilisation.

#### ***Préparation des boîtes de pétri contenant de l'agar à 2% :***

Pour préparer 30 boîtes, on dissout 18,75 g d'agar avec 937,5 ml d'eau distillée, puis on pose la casserole sur la plaque chauffante et on agite sans arrêt pour s'assurer que la poudre se

dissout complètement dans l'eau. Le mélange est porté à ébullition jusqu'à l'apparition d'une couche dense. La quantité préparée est distribuée sur les boîtes de pétrie à une épaisseur d'environ 5 mm. Dans la température du laboratoire, deux heures sont suffisantes pour que le milieu gélosé refroidit et la surface devient lisse. Ce dernier assure la facilité de déplacement des larves.

Ensuite, on introduit les papiers filtres dans un milieu de culture témoin et un autre mélangé avec une concentration dite sub létale de chaque produit testé (en renouvelant les solutions de traitement à chaque fois selon le test). Après 3 heures, période suffisante pour que les papiers filtres gardent l'odeur de la nourriture fraîche, on les retire et on enlève le milieu de culture en frottant avec une spatule sur ses deux côtés. Ces papiers sont ensuite placés dans les boîtes de pétri dans la zone A et B, puis fixés avec des petites aiguilles.

#### *Suivi individuel des larves :*

Les larves sont transvasées de l'élevage vers une coupelle en verre, rincées à l'eau distillée afin d'éliminer toutes traces de milieu. Les larves sont alors placées dans un verre de montre à l'aide d'un fin pinceau. Elles seront toutes déposées en même temps dans la zone de départ (**Fig. 14**). On referme alors la boîte à l'aide d'un couvercle. À ce moment, on déclenche le chronomètre et on note le choix de chaque larve au bout de 5, 10, 15, 20 et 30, 60 minutes, ainsi que le temps qu'elle met pour effectuer son premier choix (temps de détection en secondes).

Les expérimentations se font sur des larves témoins et des larves traitées avec les différentes concentrations sublétales de chaque produit avant 48h du jour de test ; c-à-dire que le traitement se fait au 2<sup>ème</sup> stade. Nous avons réalisé l'ensemble des tests suivants :

#### *Larves témoins (n=90)*

- Milieux testés :
- Témoin vs Traité (n=30)
  - Traité vs Traité (n=30)
  - Témoin vs Témoin (n=30)

#### *Larves traitées (n=90)*

- Milieux testés :
- Témoin vs Traité (n=30)
  - Traité vs Traité (n=30)
  - Témoin vs Témoin (n=30)

Au cours de toutes les expériences, les boîtes de Pétri sont tournées les unes par rapport aux autres de 180° afin d'éviter toute influence de la lumière.

Un Indice de Réponse (IR) est calculé selon **Honda *et al.* (2014)** comme suit :  $IR = (\text{nombre de larves présentes sur un milieu traité} - \text{nombre de larves présentes sur un milieu témoin}) / (\text{nombre de larves présentes sur un milieu traité} + \text{nombre de larves présentes sur un milieu témoin})$ . Théoriquement il varie entre -1 (grande aversion pour le produit) et +1 (grande attraction pour le produit).

#### 2.4.2.2. Comportement sexuel :

##### *Description de la parade amoureuse chez la drosophile :*

La parade amoureuse (**Fig. 15**) chez la drosophile est un comportement riche en événements (**Clynen *et al.*, 2011 ; Chardonnet, 2013**). Il n'est donc pas surprenant que cela soit un des comportements les plus étudiés (**Grillet, 2006, 2009**). Le comportement sexuel des mâles est défini par un rituel de cour complexe correspondant à une succession d'actions prédéterminées et invariables (**Terhzaz, 2003 ; Dickson, 2008 ; Revadi *et al.*, 2015**) et requiert de nombreux signaux sensoriels dont les signaux chimiques tiennent une place importante (**Greenspan & Ferveur, 2000 ; Sokolowski, 2001**). Chez les drosophiles, les phéromones (**Fig. 16**) connues sont des hydrocarbures cuticulaires (HCs) et le *cis*-vaccenyl acetate (cVA) (**Grillet, 2009**). En effet, les femelles réceptives répondent à cette parade amoureuse en permettant la copulation et ensuite l'oviposition des œufs (**Hall, 1994 ; Bussell *et al.*, 2014**).

Après l'agrégation de mâles et de femelles sur la nourriture grâce au cVA, un mâle va s'orienter vers une partenaire potentielle en utilisant sa vision (**Grillet, 2009**). Après la poursuite (**Fig. 15-A**), comportement appelé "tracking" dans la littérature, le mâle s'approche de la femelle et tapote son abdomen avec ses pattes avant munies de leurs peignes sexuels afin de s'assurer qu'elle est bien de la même espèce et ceci grâce à ses phéromones sexuelles (hydrocarbures à chaîne lourde, perceptibles à faible portée et par contact) (**Fig. 15-B**) (**Hall, 1994 ; Chabaud, 2008 ; Clynen *et al.*, 2011**).

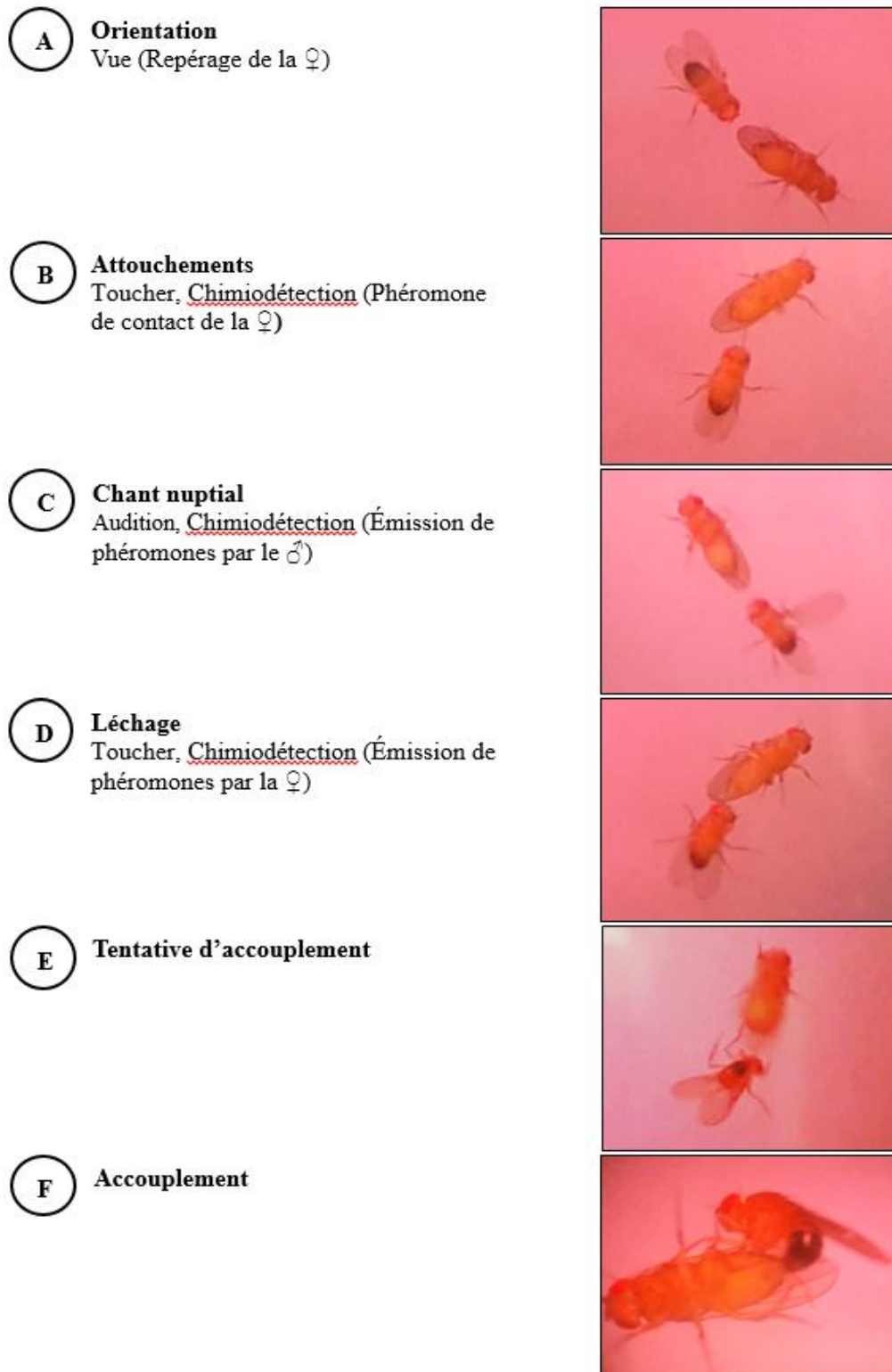
Après la phase de tapotement, le mâle étend l'une des deux ailes perpendiculairement à son corps et la fait vibrer. Ces vibrations produisent deux types distincts de sons ; le son "pulse" et le son "sine", qui sont répétées plusieurs fois en une seule séquence et qui forment le chant amoureux (**Fig. 15-C**) (**Von Schilcher, 1976 ; Crossley *et al.*, 1995 ; Kowalski *et***

*al.*, 2004). En réponse à ce chant, la femelle réduit sa locomotion et s'arrête indiquant une augmentation de sa réceptivité (Grillet, 2009).

Ensuite le mâle se positionne derrière la femelle immobilisée, fait ressortir son proboscis et lèche les parties génitales de la femelle (Fig. 15-D), qui fait ressortir à son tour son ovipositeur où elle émet également d'une gouttelette. Cette étape permet des échanges de signaux tactiles et/ou chimiques entre le mâle et la femelle (Marillac *et al.*, 2005 ; Kurtovic *et al.*, 2007 ; Benton, 2007 ; Pavlou & Goodwin, 2013 ; Lebreton *et al.*, 2014).

Immédiatement, le mâle essaie de copuler ce qui est visible par la courbure de son abdomen (Fig. 15-E). Quand la femelle est réceptive, elle étend ses ailes latéralement, ouvre sa plaque vaginale et permet au mâle de se positionner sur son dos en s'accrochant à l'aide de ses peignes sexuels (Hall, 1994). Une femelle non réceptive va donner des coups de pattes au mâle, élever et descendre son abdomen, fuir ou extruder totalement son ovipositeur (Spieth, 1952 ; Lasbleiz *et al.*, 2006). Si l'accouplement échoue, le mâle peut éventuellement reprendre sa parade à une étape précédente (Grillet, 2009).

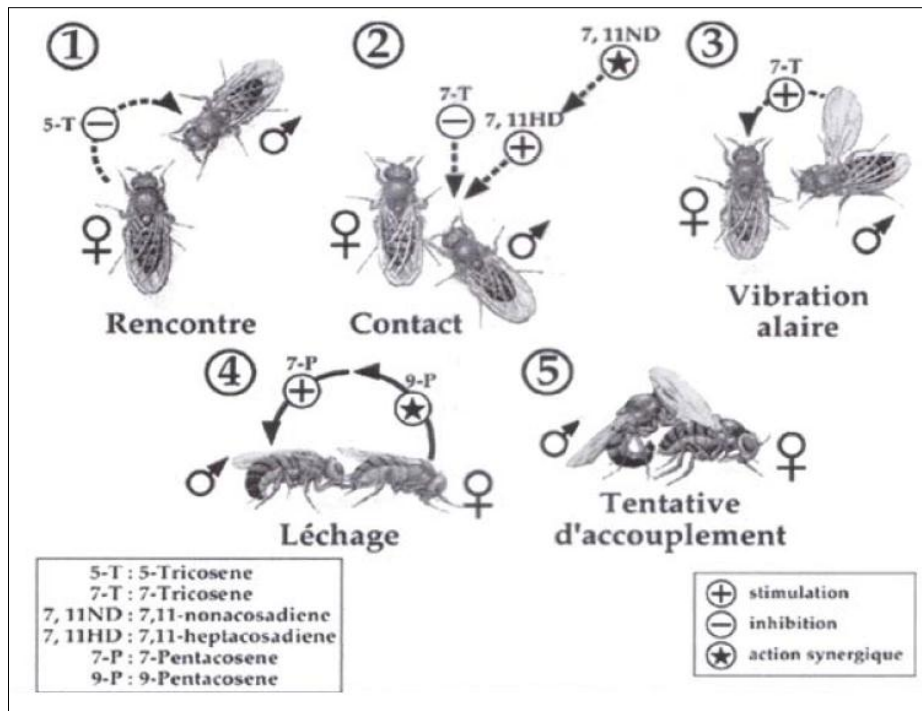
Deux partenaires normaux réussissent l'accouplement avec un taux de plus de 90% (Fig. 15-F). Après une copulation qui dure environ 20 minutes chez *D. melanogaster*, le mâle se retire. La même femelle pourra éventuellement recouvrer de nouveau sa réceptivité 8 à 10 jours après la première copulation (Terhzaz, 2003).



**Figure. 15 : Les différentes étapes et les stimuli sensoriels impliqués de la parade amoureuse chez *D. melanogaster* [A, B, C, D et E : (x 0,67) ; F : (x 3)] (Photos originales)**

*[Les observations comportementales ont été enregistrées au niveau du laboratoire à l'aide d'un stéréoscope sous des conditions contrôlées, qui sont bien décrites dans la partie suivante]*





**Figure. 16 : Schéma récapitulant les séquences comportementales sous le contrôle des interactions chimiques entre les deux partenaires (Chabaud, 2008).**

[La légende à gauche correspond aux hydrocarbures cuticulaires (phéromones sexuelles) produits par les partenaires et celle de droite à leurs effets sur le comportement au cours des différentes phases de la parade. Source: Everaerts C., CNRS UMR 5548]

### **Test de comportement :**

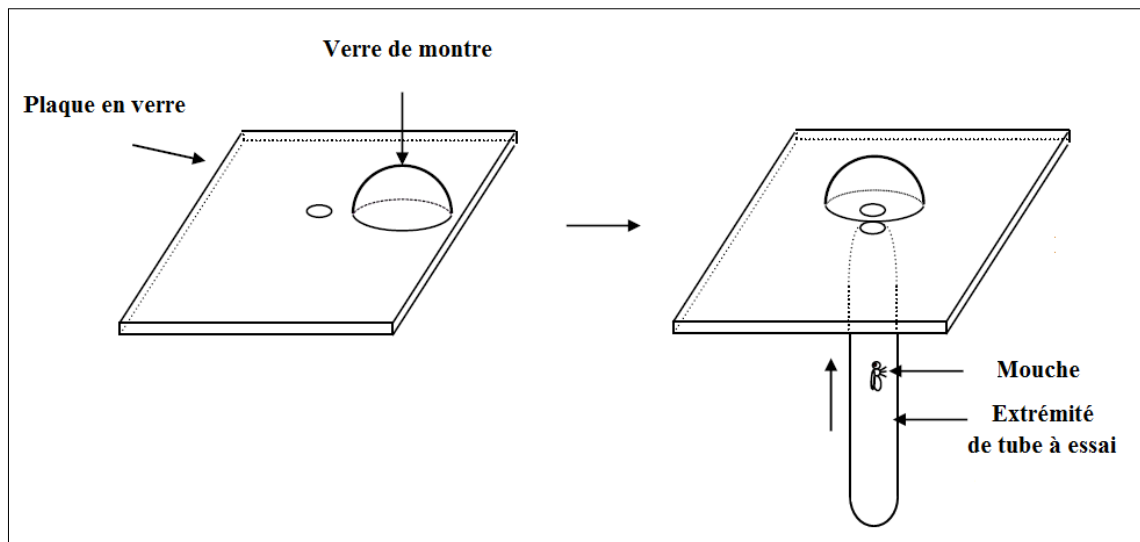
Les mouches utilisées lors des tests du comportement sont issues de traitement réalisé sur des larves du 2<sup>ème</sup> stade par les différents extraits végétaux à des concentrations sublétales. Ces dernières sont vierges et âgées de 3 à 5 jours afin qu'elles soient sexuellement matures. Les individus sont sexés à l'émergence après avoir subi une brève anesthésie au froid. Nous avons évité l'utilisation de l'éther ou le dioxyde de carbone, où l'anesthésie par froid semble être la seule mode qui n'affecte pas le système nerveux d'insectes. En effet, le temps de réveil est réduit (de l'ordre d'une à deux minutes). De plus, aucune modification comportementale liée à cette méthode n'a été signalée (Ashburner & Roote, 1989). Les insectes sont maintenus isolés (individuellement) dans des petits tubes contenant le milieu d'élevage. L'isolement permet de s'assurer que les insectes n'ont pas eu de contact entre eux.

Toutes les expérimentations se déroulent dans une salle silencieuse, obscure et éclairée par une lumière rouge. Cette dernière permet de limiter considérablement l'influence des stimuli visuels (Boll & Noll, 2002). Les tests ont toujours lieu entre 9h et 13h, qui est la

période qui correspond au pic d'activité comportementale des mouches, dans les mêmes conditions de température et d'humidité décrites précédemment (d'élevage).

Afin de pouvoir observer les mouches, nous utilisons des cellules du comportement composées d'un verre de montre de 3 cm de diamètre et de 0,5 cm de hauteur retourné sur une plaque de verre de 6 cm x 5 cm percée en son centre d'un orifice de diamètre 0,3 cm (**Fig. 17**). Ce trou permet d'insérer les mouches à l'aide d'un petit tube directement dans la cellule du comportement après l'anesthésié des individus.

Sachant que cette manipulation est stressante pour les insectes, le mâle est d'abord introduit dans la cellule du comportement afin de s'habituer à ce nouvel environnement, puis la femelle cinq minutes plus tard. Le moment où la femelle est introduite dans la cellule correspond au temps  $t_0$  de début du test.



**Figure. 17 : Dispositif utilisé pour les tests de parade et d'accouplement** (Schéma modifié d'après **Grillet, 2009**)

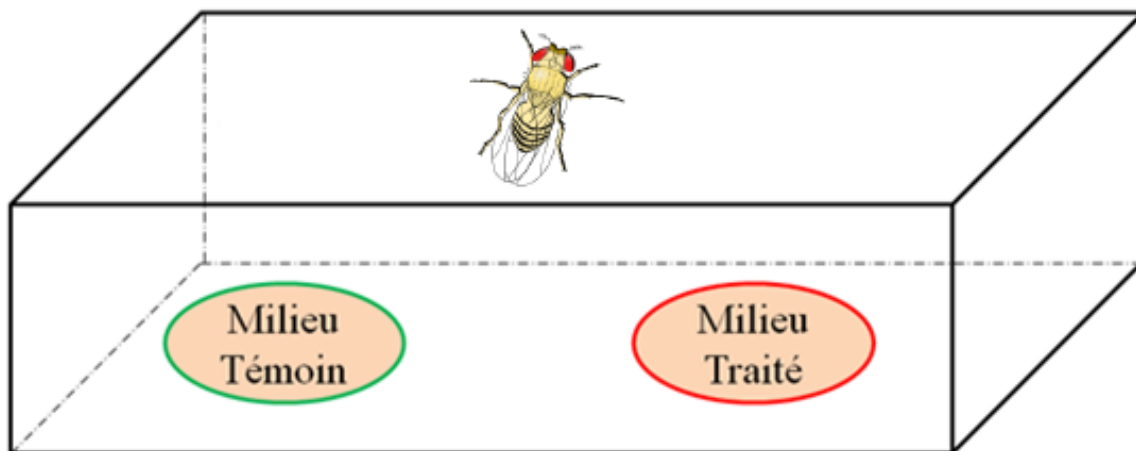
La série séquentielle de la parade sexuelle est directement observée par une loupe à main, pendant une période totale d'observation de 30 minutes. Le temps de premier contact, vibration ailière, léchage et tentative sont enregistrés ainsi leurs nombres. Les paramètres mesurés sont les suivants : la fréquence d'accouplement qui correspond au nombre de couples s'étant accouplés sur le nombre de couples testés multiplié par 100. La latence d'accouplement (LA) qui correspond au temps écoulé avant le début de l'accouplement. La durée d'accouplement (DA) qui correspond au temps durant lequel les partenaires se sont

accouplés. Les tests du comportement sexuel sont effectués suivant quatre types de croisement :

- a/ Mâle témoin x Femelle témoin (30 couples),
- b/ Mâle traité x Femelle témoin (30 couples),
- c/ Mâle témoin x Femelle traitée (30 couples),
- d/ Mâle traité x Femelle traitée (30 couples).

#### 2.4.2.3. Comportement d'oviposition :

Dans le but de déterminer le choix du site de ponte chez *D. melanogaster*, les femelles fécondées pendant le test précédant (seulement qui ont abouti à un accouplement réussi) sont séparées individuellement dans des boîtes en plastique. Deux verres de montre contiennent un milieu de culture sain et un autre traité par une concentration sublétales (selon le produit testé), sont placés au fond de chaque boîte. Ces derniers vont être récupérés après 48 heures afin de compter les œufs pondus sous un stéréoscope, avec la précision de la nature du milieu sélectionné (**Fig. 18**).



**Figure 18. Chambres d'oviposition** (Schéma original)

Un Indice de Préférence d'oviposition (IPO) est calculé selon **Flaven-Pouchon et al. (2014)** comme suit : 
$$\text{IPO} = \frac{(\text{nombre d'œufs sur un milieu traité}) - (\text{nombre d'œufs sur milieu témoin})}{(\text{nombre d'œufs sur le milieu traité}) + (\text{nombre d'œufs sur le milieu témoin})}$$
 Théoriquement il varie entre -1 (grande aversion pour le produit) et +1 (grande attraction pour le produit).

## 2.5. Caractérisation des effets létaux et sublétaux des extraits végétaux chez *B. germanica* :

### 2.5.1. Etude toxicologique :

L'application a été effectuée par ingestion sur des adultes de *B. germanica* nouvellement émergés (0 jour) ; les jeunes adultes sont isolés et regroupés par 10 du même sexe dans des boîtes (12 x 9 x 4,5 cm) avec de croquettes pour chien (aliment) et des tubes contenant de diverses concentrations d'extraits végétaux (selon le test) pour abreuver (**Tab. 3**). Chaque expérience est répétée trois fois (10 individus du même sexe/répétition). Une série témoin est conduite en parallèle où les individus reçoivent uniquement de l'eau pure (n=10). Pendant 30 jours, on note quotidiennement le nombre d'individus morts.

**Tableau 3 : Les concentrations utilisées pour le traitement des adultes de la blatte**

Concentrations		1 (µg/ml)	2 (µg/ml)	3 (µg/ml)
Molécules toxiques				
<i>P. harmala</i>	Feuilles	300	700	1000
	Graines	300	500	750
<i>D. gniduum</i>	Feuilles	300	700	1000
	Baies	100	250	500

### 2.5.2. Effets des traitements sur le comportement :

Cette étude vise à rechercher les effets des concentrations sublétales de différents extraits végétaux sur le comportement sexuel et le comportement d'orientation olfactive (grégaire) de *B. germanica* vis-à-vis de l'odeur de congénères. Nous avons utilisé les concentrations suivantes :

**Tableau 4 : Les concentrations sublétales retenues dans les tests éthologiques**

Molécules toxiques		Concentrations (µg/ml)
<i>P. harmala</i>	Feuilles	300
	Fleurs	700
	Graines	300
<i>D. gniduum</i>	Feuilles	300
	Baies	100

### 2.5.2.1. Comportement sexuel :

#### *Description du comportement sexuel chez B. germanica :*

Chez *B. germanica*, le comportement sexuel se compose très schématiquement de cinq phases successives (**Fig. 19**) : l'attraction à distance du mâle, la reconnaissance mutuelle des partenaires après contacts antennaires, la parade du le mâle, le léchage des glandes tergaux du mâle par la femelle et enfin l'accouplement (**Tokro, 1984 ; Clynen *et al.*, 2011 ; Habbachi, 2013 ; Bell *et al.*, 2014**).

Le rapprochement des sexes favorisé par l'existence d'une phéromone sexuelle femelle sensu stricto ; elle adopte une position caractéristique, peu spectaculaire et difficile à observer (ouverture furtive de l'atrium génital) pendant qu'elle émet sa phéromone sexuelle volatile, Blattellaquinone (**Fig. 19-A**) (**Liang & Shall, 1993 ; Nojima *et al.*, 2005**). Le mâle ne présente pas de modification comportementale et il n'y a pas de posture particulière associée à la détection la phéromone sexuelle femelle (**Tokro, 1984**).

Le mâle ainsi attiré vient au contact de la femelle ; il fléchit ses pattes antérieures, baisse la tête et les antennes se déplaçant dans toutes les directions jusqu'à ce qu'il entre en contact de la femelle (**Nishida & Fukami, 1983**). Il lui faut environ de cinq à trente secondes pour la percevoir.

Le mâle et la femelle se reconnaissent mutuellement à l'aide des contacts antennaires (**Fig. 19-B**) ; lorsqu'un mâle arrive au contact d'une femelle, ses antennes sont presque verticales puis il les abaisse brusquement afin qu'elles la touchent. Souvent la femelle relève aussi ses antennes pour établir des contacts avec lui (**Tokro, 1984 ; Bell *et al.*, 2014**). Ils discriminent le sexe du partenaire grâce aux nombreux chimiorécepteurs de contacts présents sur leurs antennes (**Masson & Brossut, 1981 ; Nishida & Fukami, 1983**).

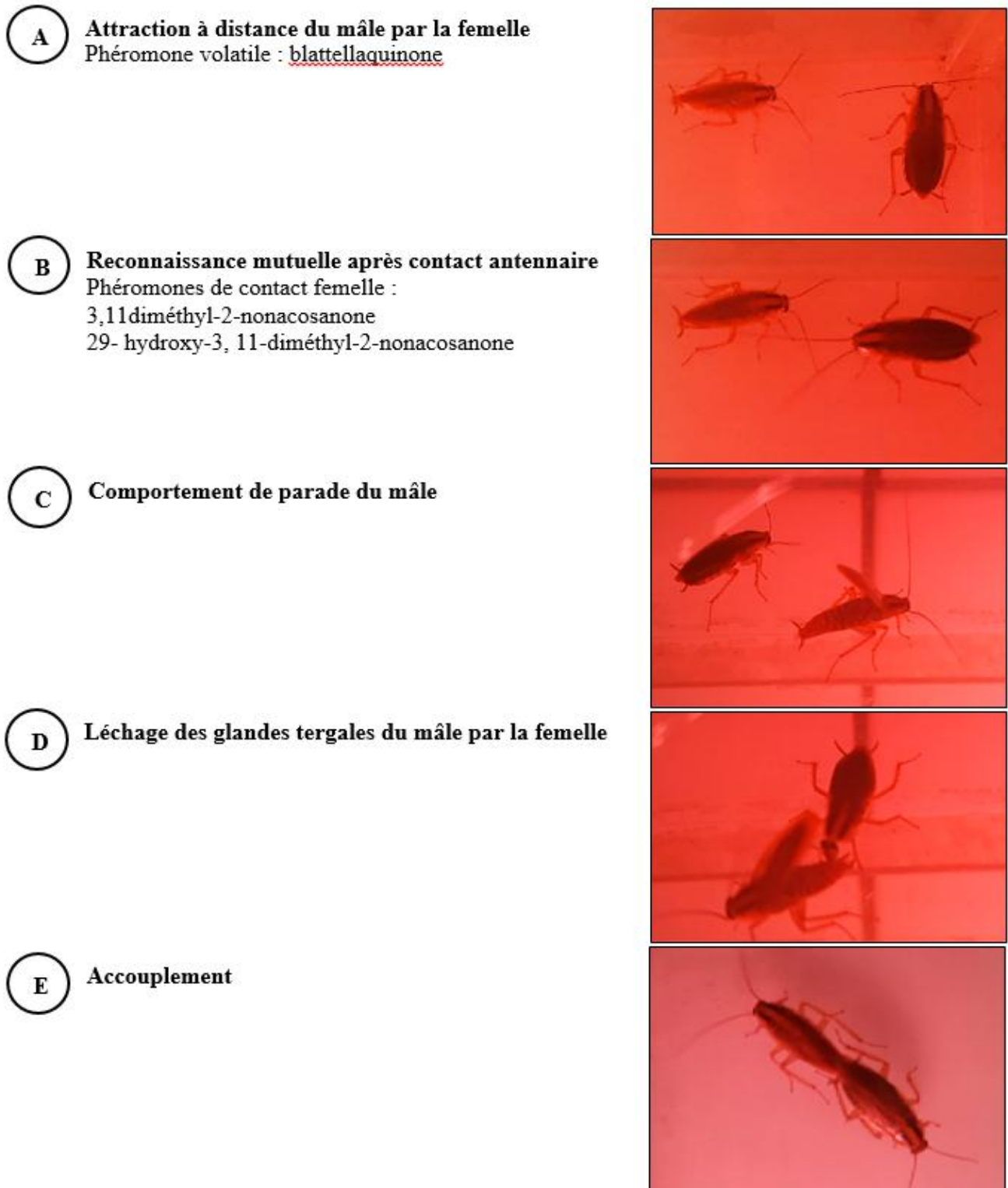
Le contact mutuel déclenche chez le mâle un comportement de parade (**Fig. 19-C**), il tourne son abdomen vers la femelle et relève brusquement ses ailes, lui présentant ainsi les glandes tergaux (**Bell *et al.*, 2014**). Il répète cet acte une dizaine de fois en moyenne. Les ailes, qui restent relevés quelques secondes (une minute au maximum), forment un angle de 30° à 90° environ avec le reste du corps. Il découvre complètement ses tergites abdominaux sur lesquels se trouvent les glandes tergaux (partie antérieure des tergites 7 et 8), la cuticule à cet endroit présente de profondes modifications (**Hales & Breed, 1983 ; Gemeno & Schal, 2004 ; Lihoreau *et al.*, 2008**). Au repos, ces glandes sont cachées par le bord postérieur des

tergites 6 et 7 et par les ailes. Les glandes tergales sont visibles à l'œil nu ; il suffit de relever les ailes et de presser le thorax pour distendre l'abdomen. Souvent, on peut même apercevoir la sécrétion tergale aphrodisiaque (film liquide) au fond et au bord des dépressions cuticulaires (**Rust et al., 1995**). Pendant qu'il parade, les antennes du mâle restent toujours en contact avec le corps ou les antennes de la femelle (**Nishida & Fukami, 1983**).

Un mélange de deux produits phéromone sexuelle de contact (diméthyle-3, 11 nonacosanone-2 et diméthyle-3, 11 hydroxy-29-nonacosanone-2), présent dans la cire cuticulaire (hydrocarbures cuticulaires) de la femelle, déclenche le relèvement des ailes du mâle (ou "wing-raising posture") après contact antennaire (**Fig. 20**) (**Nishida & Fukami, 1983 ; Gemeno & Schal, 2004 ; Kilani-Morakchi et al., 2009**).

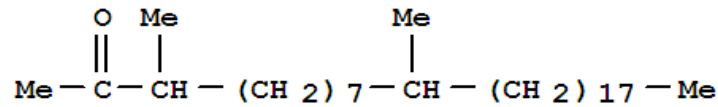
La femelle, réceptive et excitée, monte sur le dos du mâle pour lécher les sécrétions tergales, ce qui la place dans une position favorable à l'accouplement (**Fig. 19-D**) (**Hall, 1994**). La sécrétion des glandes tergales ne constitue pas uniquement un message sensoriel perçu par contact. Les palpes labiaux (surtout) de la femelle sont constamment en mouvement, mais l'observation des pièces buccales montre que la sécrétion est « léchée » et absorbée. Le léchage est assez bref (10 à 40 secondes). Durant le léchage, la tête de la femelle est au-dessus des tergites 7 et 8, l'abdomen du mâle est aplati contre le sol et les cerques arrivant sous le thorax de la femelle. Il arrive qu'une femelle léchant les sécrétions tergales refuse de s'accoupler, elle s'éloigne. Le mâle, qui la suit en gardant le contact antennaire et relevant de temps en temps les ailes, continue de la suivre en la touchant de ses antennes puis finit par renoncer (**Tokro, 1984 ; Habbachi, 2013**).

Lorsque la femelle est sur le dos du mâle, ce dernier étend progressivement son abdomen sous la femelle et agrippe les genitalia à l'aide de son phallomère. Une fois l'accouplement réalisé, le mâle se retourne et les deux individus se retrouvent en position opposée (**Fig. 19-E**) (**Bell et al., 2007**). Tandis que le mâle reste immobile, la femelle est plus active et se déplace en "tirant" le mâle derrière elle. L'accouplement dure environ 45 à 70 minutes.

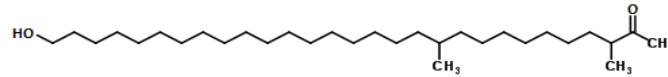


**Figure. 19 : Comportement sexuel chez *B. germanica* (Photos originales)**

[Les observations comportementales ont été enregistrées au niveau du laboratoire sous des conditions contrôlées, qui sont bien décrites dans la partie précédente]



diméthyle-3,11 nonacosanone-2



diméthyle-3, 11 hydroxy-29-nonacosanone-2

**Figure. 20 : Formule chimique de phéromone sexuelle de contact chez la femelle**

**Test de comportement :**

Les larves les plus âgées sont prélevées dans l'élevage de masse et regroupées entre elles, ce qui nous permet de récupérer quotidiennement les adultes dès la mue imaginale (j0). Ces derniers sont regroupés selon leur sexe. Ils sont élevés dans les mêmes conditions d'élevage.

L'identification des mâles et des femelles se fait à l'œil nu grâce à la forme des ailes et à celle des extrémités abdominales ventrales (**Fig. 21**).



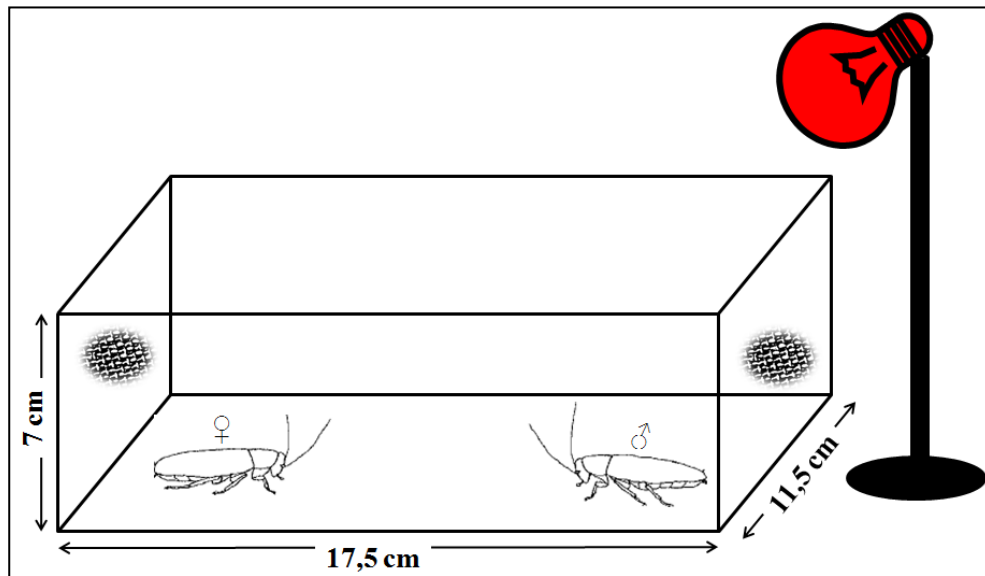
**Figure 21. Face ventrale de l'abdomen montrant les plaques sous-génitales des adultes de *B. germanica* (Photos originales)**

[A : Mâle, B : Femelle (x 2)]

Les expérimentations sont faites sur des adultes vierges n'ayant jamais été en contact avec leurs partenaires et âgés de 8 jours (sexuellement matures). Pendant cette période, les insectes sont en exposition aux différentes concentrations d'extraits végétaux. Nous avons utilisé des boîtes rectangulaires (17,5 x 11,5 x 7 cm) avec deux ouvertures grillagées de 1,5 cm de diamètre percées dans le couvercle. Les tests se déroulent dans une salle obscure sous une



lumière rouge de faible intensité (non visible par cette espèce) (**Fig. 22**). Les conditions de température et d'humidité de la salle de test sont les mêmes que celles de l'élevage.



**Figure 22. Enceinte close utilisée pour les tests d'accouplement** (Schéma original)

Nous introduisons chaque fois une femelle à l'extrémité de l'enceinte et quelques minutes ensuite nous introduisons un mâle à l'extrémité opposée. Grâce à un chronomètre, on note le temps de premier contact antennaire entre les deux sexes, le temps de la première parade du mâle, le nombre de parades, le temps du premier léchage des sécrétions tergaux du mâle par la femelle, le nombre de léchage, le temps de la première tentative d'accouplement et le nombre de ces tentatives. La latence et la durée d'accouplement, s'il est réussi, sont aussi enregistrées. Nous avons réalisé les quatre tests suivants :

- a/ Mâle témoin x Femelle témoin (10 couples),
- b/ Mâle traité x Femelle témoin (10 couples),
- c/ Mâle témoin x Femelle traitée (10 couples),
- d/ Mâle traité x Femelle traitée (10 couples).

Une fois l'accouplement réussit, les oothèques pondues sont récupérées dans des tubes en plastiques bouchés par le coton. Ces dernières ont fait l'objet d'un suivi au laboratoire et on note la durée que met la blatte pour pondre l'oothèque, la date d'éclosion ainsi le nombre des larves de L<sub>1</sub> qui quittent cette capsule.

### 2.5.2.2. Comportement grégaire :

Il s'agit d'abord de tester différentes sources d'odeurs (hydrocarbures cuticulaires) vis-à-vis les adultes de *B. germanica*, afin de mettre en évidence un éventuel effet insecticide d'extraits végétaux sur le phénomène d'attraction et l'acuité olfactive d'insectes.

#### *Préparation des extraits :*

Après anesthésie par le froid (-20°C), les adultes sont plongés individuellement dans des petits flacons contenant 1 ml d'hexane. L'extraction dure 5 minutes à température ambiante. On retire les insectes du solvant et les extraits sont conservés à -20°C jusqu'à leur utilisation.

Les individus extraits sont des mâles et des femelles naïfs âgées de 8 jours, témoins ou traités par les différents extraits végétaux à des concentrations sublétales. Les quatre extraits adultes que nous avons préparés sont les suivants :

- mâle témoin,
- femelle témoin,
- mâle et femelle (traités avec chaque concentration sublétale utilisée).

#### *Mise au point du test de comportement d'agrégation olfactive :*

Les réponses d'agrégation sont enregistrées dans un olfactomètre bidirectionnel. C'est un dispositif permettant de quantifier le comportement exploratoire d'un animal de petite taille vis-à-vis d'une source odorante. Selon sa taille, il peut être utilisé pour différents insectes comme les pucerons (**Petterson, 1970**), des parasitoïdes (**Vet et al., 1983**), les abeilles (**Pham-Delègue et al., 1990**). L'insecte s'y déplace en marchant (**Rafalimanana, 2004**). Il prend en compte la variabilité inter-individuelle des réponses (**Petterson, 1970 ; Vet et al., 1983**).

C'est un tube en verre en forme de Y de 2 cm de diamètre (branche principale : 30 cm de long, branches secondaires 20 cm de long) (**Fig. 23**). L'olfactomètre est traversé par un faible courant d'air pur (fourni par un petit compresseur d'aquarium) filtré sur une cartouche de charbon activé. La vitesse du courant d'air arrivant en amont des branches secondaires est contrôlée par un débitmètre et fixée à 10 ml/min afin d'éviter toute réponse anémotactique de l'insecte.

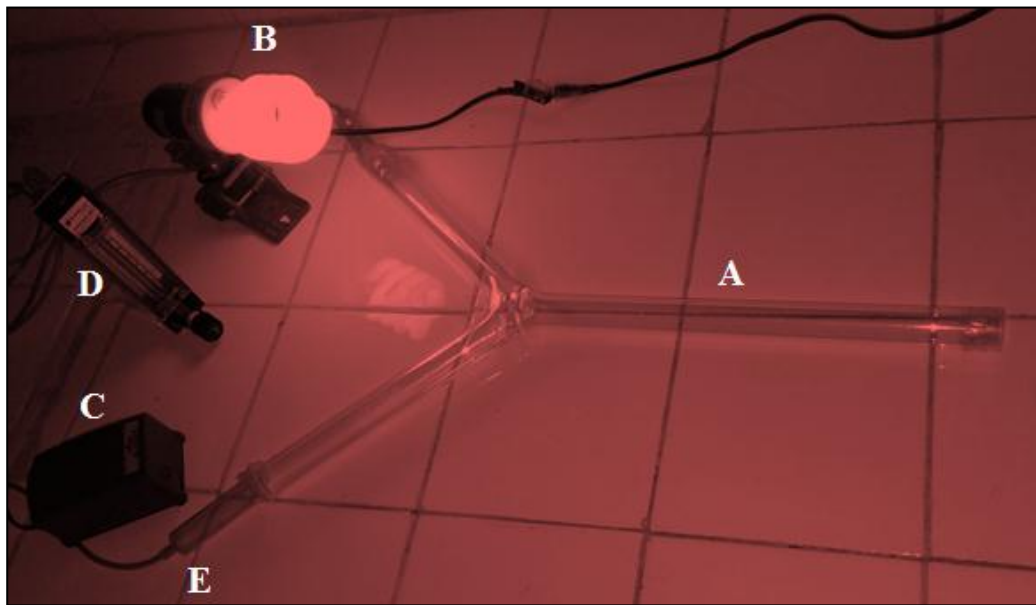
Les individus à tester (n=15) sont placés dans une petite boîte (6 x 5 x 4,5 cm) munie d'une porte grillagée qui permet de libérer l'insecte dans la branche principale de

l'olfactomètre. Un papier filtre (1 cm<sup>2</sup> environ) imbibé d'extrait à tester est placé, dans l'une des branches secondaires, 2 à 5 minutes avant le début du test pour que l'hexane s'évapore. Ce stimulus est renouvelé tous les 3 individus testés.

Après chaque changement d'individu testé, la chambre d'observation est nettoyée à l'éthanol afin d'éviter l'effet des éventuels marquages chimiques laissés par les individus précédents, ainsi après chaque extrait utilisé.

Le début du test correspond au moment de la libération de la blatte dans la branche principale de l'olfactomètre. On note le temps de détection (TD) qui correspond au temps que met la blatte à arriver à l'intersection des deux branches, le choix de l'insecte et le temps qu'il met pour arriver (TA) à la source odorante (le papier filtre).

Ces tests se déroulent dans les mêmes conditions de température et d'obscurité citées plus haut.



**Figure 23. Olfactomètre Bidirectionnel en Y (Photo originale)**

[A : Olfactomètre ; B : Lampe rouge ; C : Compresseur ; D : Débitmètre ;  
E : Tuyaux d'arrivée d'air]

## 2.6. Analyses statistiques des données :

### 2.6.1. Tests de toxicité :

En ce qui concerne les résultats obtenus pour l'étude toxicologique, nous avons calculé, selon les procédés mathématiques de Finney, les concentrations létales (CL50 et CL90) et les temps létaux (TL50 et TL90) pour chacun des extraits végétaux utilisés.

Selon la période d'exposition aux produits, la variable mesurée est le nombre des individus morts quotidiennement chez les deux insectes étudiés. Le taux de mortalité observé est corrigé par la formule d'Abott qui permet de connaître la toxicité réelle des produits. Les différents taux subissent une transformation angulaire d'après les tables de Bliss. Les données sont ainsi normalisées et font l'objet d'une analyse de variance sur XLStat 2009 ; celles obtenues sont alors transformées en probits, ce qui permet d'établir une droite de régression en fonction des logarithmes décimaux des concentrations utilisées. Le test Chi2 permet un bon ajustement de la droite (**Finney, 1971**). À partir de cette droite, on calcule les concentrations létales ou les temps létaux.

### **2.6.2. Les tests comportementaux :**

Les différents temps obtenus ont été analysés par des méthodes métriques descriptives donnant la moyenne, l'écart-type, le minimum et le maximum ainsi que la variance (Box plots). Les résultats obtenus sont alors comparés en utilisant une analyse des variances (ANOVA) sur XLSTAT 2014 software (Addinsoft, New York, NY).

Les résultats des tests de choix obtenus sont comparés en utilisant la simulation de Monté-Carlo, basée sur un test Chi2 au seuil  $\alpha = 0,05$  (**Vaillant & Derrij, 1992**).

### 3. Résultats :

#### 3.1. Effets toxiques des extraits végétaux sur la mouche du vinaigre, *D. melanogaster* :

##### 3.1.1. Effets d'extrait aqueux des feuilles de *P. harmala* sur la drosophile :

##### 3.1.1.1. Essai insecticide à l'égard des larves du 2<sup>ème</sup> stade :

Le tableau 5 illustre l'évolution du taux de mortalité chez *D. melanogaster* en fonction du temps pour le test de toxicité par ingestion de la décoction de feuilles de *P. harmala*, à l'égard des larves du 2<sup>ème</sup> stade.

À une concentration de 50 µg/ml, ce produit provoque seulement 3,3% de mortalité au bout de 2 jours, ce taux se stabilise jusqu'à la fin du 15<sup>ème</sup> jour d'exposition (**Tab. 5**). Pour la concentration de 300 µg/ml, le taux moyen de mortalité des larves est, respectivement, de 1,11 et 3,33% à 2 et 5 jours, de 16,66% à 10 jours et de 27,8% à 15 jours (**Tab. 5**). La mortalité augmente lorsqu'on utilise la concentration la plus élevée (1000 µg/ml) ; 22,22% à 5 jours et 42,22% à 10 jours. À cette dernière, plus de 71,1% d'insectes meurent au bout de 15 jours (**Tab. 5**). Notons qu'aucune mortalité n'a été observée chez les témoins.

Au seuil de significativité  $\alpha = 0,05$ , la comparaison des variances montre qu'il n'existe pas de différences significatives entre la mortalité enregistrée pour les trois concentrations utilisées au bout de 2, 5, 10 et 15 jours (**Tab. 5**).

**Tableau 5 : Mortalité corrigée chez les larves de *D. melanogaster* traitées par l'extrait aqueux de feuilles de *P. harmala***

	2j	5j	10j	15j	F <sub>obs</sub>	p
50µg/ml	3,3%	3,3%	3,3%	3,3%	0	1
300µg/ml	1,11%	3,33%	16,66%	27,8%	0,69	0,58
1000µg/ml	15,55%	22,22%	42,22%	71,1%	1,15	0,38
F <sub>obs</sub>	0,26	1,91	1,13	1,26		
p	0,78	0,23	0,38	0,35		

Les résultats consignés dans le tableau 6 résument les différents paramètres toxicologiques d'extrait aqueux de feuilles de *P. harmala*. Ces derniers montrent qu'il y a une forte corrélation entre le taux de mortalité et le temps d'exposition des mouches à différentes concentrations de produit (le coefficient de corrélation « R<sup>2</sup> » est de 0,96 à 0,97) (**Tab. 6**).

Les concentrations létales obtenues, 2, 5, 10 et 15 jours après traitement, sont respectivement de  $3,71 \cdot 10^5$ ,  $2,19 \cdot 10^4$ ,  $1,58 \cdot 10^3$  et  $5,49 \cdot 10^2$   $\mu\text{g/ml}$  pour la CL50 et  $7,71 \cdot 10^7$ ,  $1,07 \cdot 10^6$ ,  $1,58 \cdot 10^4$  et  $2,75 \cdot 10^3$   $\mu\text{g/ml}$  pour la CL90 (Tab. 6). Les temps létaux, pour les différentes concentrations testées, sont respectivement de 69,18, 32,36 et 7,08 jours la TL50 et de 1318,26, 144,54 et 69,18 jours la TL90 (Tab. 6).

**Tableau 6 : Paramètres toxicologiques des feuilles de *P. harmala***

**A** : en fonction du temps d'exposition des larves / **B** : en fonction de la concentration utilisée

"A"	Concentrations léthales :		
	Droite de regression	CL <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	CL <sub>90</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
2j	Y= 1,99 + 0,54 X R <sup>2</sup> = 0,30	$3,71 \cdot 10^5$	$7,71 \cdot 10^7$
5j	Y= 1,70 + 0,76 X R <sup>2</sup> = 0,64	$2,19 \cdot 10^4$	$1,07 \cdot 10^6$
10j	Y= 1 + 1,25 X R <sup>2</sup> = 0,99	$1,58 \cdot 10^3$	$1,58 \cdot 10^4$
15j	Y= 0,02 + 1,82 X R <sup>2</sup> = 0,99	$5,49 \cdot 10^2$	$2,75 \cdot 10^3$
"B"	Temps léthaux :		
	Droite de regression	TL <sub>50</sub> (jours)	TL <sub>90</sub> (jours)
50 $\mu\text{g/ml}$	Y= 3,16 + 0,003 X R <sup>2</sup> = 0,97	69,18	1318,26
300 $\mu\text{g/ml}$	Y= 1,99 + 1,99 X R <sup>2</sup> = 0,96	32,36	144,54
1000 $\mu\text{g/ml}$	Y= 3,89 + 1,30 X R <sup>2</sup> = 0,96	7,08	69,18

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des concentrations et/ou des temps]

### 3.1.1.2. Impact sur la croissance et la durée de développement :

L'effet d'extrait aqueux de feuilles de *P. harmala* administré par ingestion chez les larves de 2<sup>ème</sup> stade de *D. melanogaster* allonge significativement la durée de la vie larvaire (durée sans traitement d'environ 2 à 3 jours) (Tab. 7). Au bout de 2 et 5 jours, une diminution dans le pourcentage des pupes d'une manière proportionnelle aux concentrations testées est également enregistrée (Tab. 7). À 2 jours, les valeurs moyennes enregistrées sont de 60% pour les témoins, 23% pour 50  $\mu\text{g/ml}$ , 58,43% pour 300  $\mu\text{g/ml}$  et 32,89% pour 1000  $\mu\text{g/ml}$  (Tab. 7). De plus, 4,29% à 6,90% des larves n'arrivent pas à assurer leur transformation pupale à 5 jours du traitement (Tab. 7).

Ce produit réduit également le pourcentage d'émergence des adultes de *D. melanogaster* comparativement aux témoins et ce avec un effet dose-réponse (Tab. 7). Au bout de 10 jours, les valeurs moyennes sont de 100% pour les témoins, alors que 26,93% (3,86% des larves et 23,07% des pupes) n'arrivent pas à se développer en adultes (Tab. 7).

**Tableau 7 : Taux d'individus, par stade, issus des traitements par l'extrait aqueux de feuilles de *P. harmala***

Tm		2j			5j			10j			15j	
		L			L			L			L	
Tm	N=30	L	40%	N=30	L	0	N=30	L	0	N=30	L	0
		P	60%		P	100%		P	0		P	0
		A	0		A	0		A	100%		A	100%
1	N=29	L	77%	N=29	L	6,90%	N=29	L	0	N=29	L	0
		P	23%		P	93,10%		P	10,34%		P	0
		A	0		A	0		A	89,66%		A	100%
2	N=29,66	L	41,57%	N=29	L	0	N=25	L	0	N=21,67	L	0
		P	58,43%		P	100%		P	12%		P	0
		A	0		A	0		A	88%		A	100%
3	N=25,33	L	67,11%	N=23,33	L	4,29%	N=17,34	L	3,86%	N=8,66	L	3,81%
		P	32,89%		P	95,71%		P	23,07%		P	3,81%
		A	0		A	0		A	73,07%		A	92,38%

[Tm : Témoins ; 1 : 50µg/ml ; 2 : 300µg/ml ; 3 : 1000µg/ml ; N : Nombre moyen d'individus issus des différents traitements ; L : Larve ; P : Pupe ; A : Adulte]

Des malformations (**Fig. 24**) ont été enregistrées chez les pupes, au niveau des ailes et des pattes des adultes, après un traitement par les différentes concentrations de la plante toxique. De plus, certaines pupes présentent une réduction importante de la taille par rapport aux témoins.



(A) Sur les larves de 3<sup>ème</sup> stade (x 4,5)



(B) Sur les adultes (x 4,5)

Figure 24. Effet d'extrait aqueux de feuilles de *P. harmala* sur *D. melanogaster* (Ph.O)

### 3.1.1.3. Effets du traitement par une concentration sublétales (300µg/ml) sur le comportement de *D. melanogaster* :

#### *Effet sur le comportement alimentaire des larves du 3<sup>ème</sup> stade :*

Dans un premier temps, nous avons observé la réponse des larves du 3<sup>ème</sup> stade (témoins et traitées) afin de souligner des différences potentielles dans les préférences alimentaires (attraction ou répulsion) avec ou sans exposition à l'extrait végétal ; cas de la décoction foliaire de *P. harmala*. Ce test permet ainsi de déterminer les effets différés du produit, à une concentration sublétales (300 µg/ml), sur la capacité olfactive de l'insecte.

#### *Chez les larves témoins :*

Le tableau 8 illustre l'évolution du pourcentage de larves témoins présentes au dessus ou au dessous du papier filtre en fonction du temps.



Il indique que sur 51,72 % des larves effectuent un choix (attirées) au bout de 2 minutes, elles choisissent toutes le côté témoin à 100% alors qu'aucune larve n'a choisit le côté du papier filtre imprégné de milieu traité par la décoction ( $p = 1$ ) (**Tab. 8**). Après 5, 15, 30 à 60 minutes, le taux d'attractivité augmente graduellement jusqu'à 93,10% (seulement 6,90% des larves sont non attirées) (**Tab. 8**). Le test de Monté Carlo indique que le nombre moyen de larves présentes dans la zone traitée de décoction (18,52%) est significativement différent de celui du témoin (81,48%) avec une  $p$  égale à 1 (**Tab. 8**). Lors des observations, on remarque que les larves font demi-tour lorsqu'elles arrivent sur une zone traitée, comme pour l'éviter.

En présence des deux milieux traités (traité vs traité), peu de larves témoins montrent des réponses marquées envers l'odeur de feuilles de *P. harmala* (**Tab. 8**). Cependant, on peut remarquer qu'elles continuent à distinguer clairement les deux milieux témoins (témoin vs témoin) ; dont le taux d'attractivité est égale à 100% en 2 minutes seulement (**Tab. 8**). Ce test montre une répartition homogène des larves sur les 2 spots, ce qui indique que ce dernier a un effet apparent sur leur comportement.

#### ***Chez les larves traitées :***

Le tableau 9 illustre l'évolution du pourcentage de larves traitées, qui sont élevées sur un milieu artificiel additionné à une concentration sub létale d'extrait aqueux des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml), présentes au dessus ou au dessous du papier filtre en fonction du temps.

Dans un intervalle de temps de 2 à 5 minutes, plus de 51,72% à 89,66% des larves traitées sont non attirées par n'importe quelle odeur testée ( $p = 1$  et  $p < 0,904$ , respectivement) (**Tab. 9**). En revanche, ce n'est qu'après 30 à 60 minutes où elles peuvent effectuer un choix en démontrant une attirance non significative pour le milieu traité à la décoction ( $\approx 77\%$ ) (**Tab. 9**).

Quand elles sont en présence de deux milieux similaires (témoin vs témoin ou traité vs traité), les résultats obtenus ne révélèrent aucun signe d'une préférence alimentaire dans ces conditions expérimentales (**Tab. 9**). Pour chaque test, les taux d'attractivité après 2, 5, 15, 30 et 60 minutes sont respectivement : 0, 27,59, 65,52, 65,52 et 62,07% pour les milieux témoins et 0, 10,34, 27,59, 62,07 et 58,62% pour les milieux traités (**Tab. 9**).

Tableau 8 : Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)

Dans 2 min :				
Test	A		NA	p
1	51,72%		48,28%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	100%	0%		
	<b>p : 1,00 (S)</b>			
2	100%		0%	<b>1,00 (S)</b>
3	6,90%		93,10%	<b>1,00 (S)</b>
Dans 5 min :				
Test	A		NA	p
1	75,86%		24,14%	<b>0,992 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	95,45%	4,45%		
	<b>p : 1,00 (S)</b>			
2	96,55%		3,45%	<b>1,00 (S)</b>
3	37,93%		62,09%	< <b>0,904 (NS)</b>
Dans 15 min :				
Test	A		NA	p
1	79,31%		20,69%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	65,22%	34,78%		
	<b>p : &lt; 0,922 (NS)</b>			
2	93,10%		6,70%	<b>1,00 (S)</b>
3	58,62%		41,38%	< <b>0,904 (NS)</b>
Dans 30 min :				
Test	A		NA	p
1	89,66 %		10,34%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	76,92%	23,08%		
	<b>p : 0,99 (S)</b>			
2	100%		0%	<b>1,00 (S)</b>
3	62,07%		37,93%	< <b>0,904 (NS)</b>
Dans 60 min :				
Test	A		NA	p
1	93,10 %		6,90%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	81,48%	18,52%		
	<b>p : 1,00 (S)</b>			
2	96,55%		3,45%	<b>1,00 (S)</b>
3	58,62%		41,38%	< <b>0,904 (NS)</b>

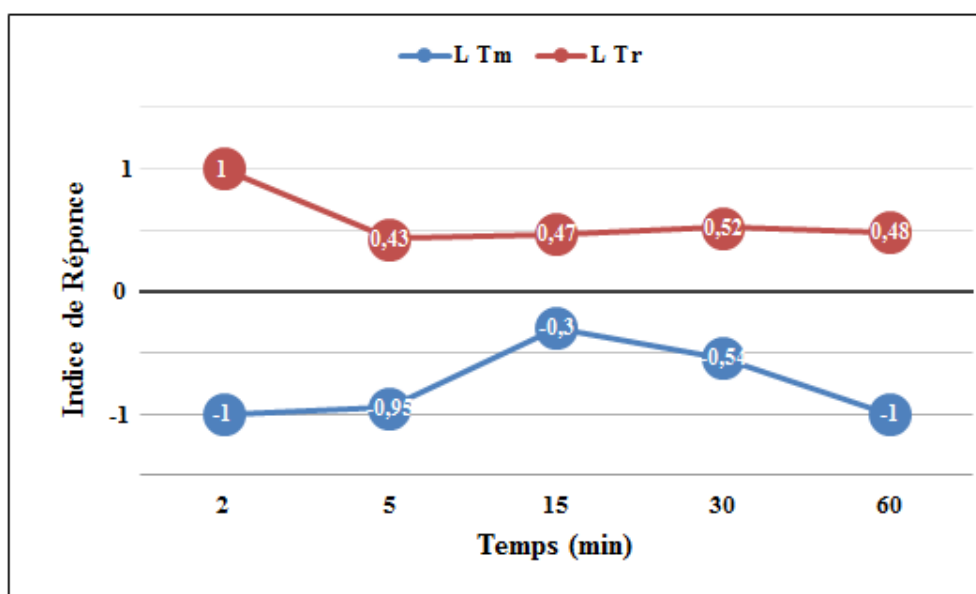
[1 : Milieu témoin vs milieu traité aux feuilles de *P. harmala* (300µg/ml), 2 : Milieu témoin vs milieu témoin, 3 : Milieu traité vs milieu traité, aux feuilles de *P. harmala* (300µg/ml), **Tm** : Milieu témoin, **Tr** : Milieu traité, **A** : Attiré, **NA** : Non attiré, **S** : Significatif, **NS** : Non significatif]

**Tableau 9 : Attractivité des larves traitées, à une concentration sublétale de feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml), vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)**

<b>Dans 2 min :</b>				
<b>Test</b>	<b>A</b>		<b>NA</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	10,34 %		89,66%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	0%	100%		
	<b>p : &lt; 0,885 (NS)</b>			
<b>2</b>	0%		100%	<b>1,00 (S)</b>
<b>3</b>	0%		100%	<b>1,00 (S)</b>
<b>Dans 5 min :</b>				
<b>Test</b>	<b>A</b>		<b>NA</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	48,28%		51,72%	<b>&lt; 0,904 (NS)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	28,57%	71,43%		
	<b>p : &lt; 0,915 (NS)</b>			
<b>2</b>	27,59%		72,41%	<b>1,00 (S)</b>
<b>3</b>	10,34%		89,66%	<b>0,98 (S)</b>
<b>Dans 15 min :</b>				
<b>Test</b>	<b>A</b>		<b>NA</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	65,52 %		34,48%	<b>0,904 (NS)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	26,32%	73,68%		
	<b>p : &lt; 0,975 (S)</b>			
<b>2</b>	65,52%		34,48%	<b>0,904 (NS)</b>
<b>3</b>	27,59%		72,41%	<b>0,98 (S)</b>
<b>Dans 30 min :</b>				
<b>Test</b>	<b>A</b>		<b>NA</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	72,41%		27,59%	<b>&lt; 0,980 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	23,08%	76,92%		
	<b>p : 0,988 (S)</b>			
<b>2</b>	65,52%		34,48%	<b>&lt; 0,904 (NS)</b>
<b>3</b>	62,07%		37,93%	<b>&lt; 0,904 (NS)</b>
<b>Dans 60 min :</b>				
<b>Test</b>	<b>A</b>		<b>NA</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	93,10 %		6,90%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	23,81%	76,19%		
	<b>p : &lt; 0,922 (NS)</b>			
<b>2</b>	62,07%		37,93%	<b>&lt; 0,904 (NS)</b>
<b>3</b>	58,62%		41,38 %	<b>&lt; 0,904 (NS)</b>

[1 : Milieu témoin vs milieu traité aux feuilles de *P. harmala* (300µg/ml), 2 : Milieu témoin vs milieu témoin, 3 : Milieu traité vs milieu traité, aux feuilles de *P. harmala* (300µg/ml), **Tm** : Milieu témoin, **Tr** : Milieu traité, **A** : Attiré, **NA** : Non attiré, **S** : Significatif, **NS** : Non significatif]

Les résultats concernant l'indice de réponse (IR) des larves de *D. melanogaster* témoins ou traitées sont représentés sur la figure 25. Au bout 2, 5, 15, 30 et 60 minutes, les valeurs de IR obtenues chez les larves témoins sont toujours négatives envers le milieu traité à l'extrait aqueux des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml), ce qui indique une aversion importante à ce produit en comparaison à celles traitées. Cette dernière montre à leur tour une attraction modérée au cours du temps (**Fig. 25**).



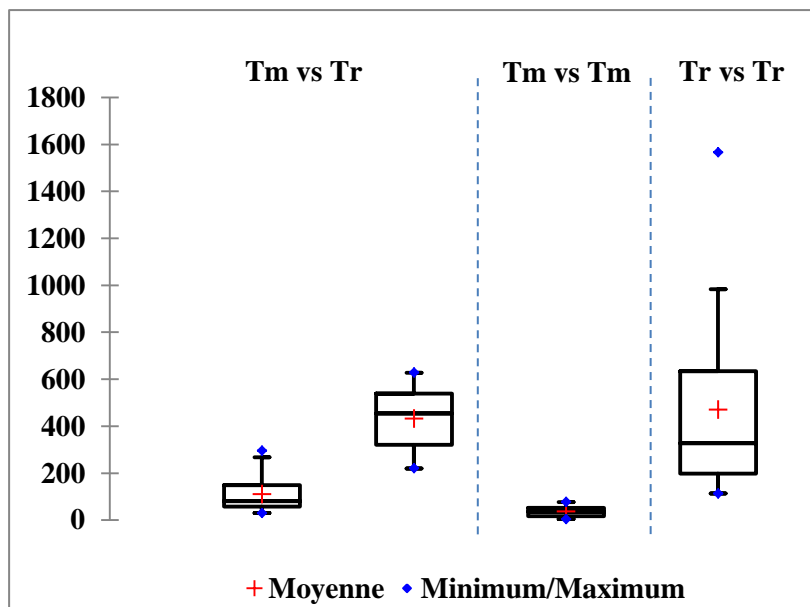
**Figure 25. Indice de réponse (IR) des larves de *D. melanogaster* (témoins et traitées) envers l'extrait aqueux des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) dans le test du choix**

[*LTm* : Larves témoins, *LTr* : Larves traitées aux feuilles de *P. harmala* (300µg/ml)]

Quel que soit le stimulus (test 1, 2 et 3), les temps moyens mesurés chez les larves témoins sont significativement différents ( $F_{\text{obs}} = 25,05$  ;  $p < 0,0001$ ) (**Fig. 26**).

À la présence de deux odeurs différentes (témoin vs traitée), ces dernières se déplacent plus rapidement vers le milieu témoin avec  $110,13 \pm 15,52$  secondes et beaucoup plus lentement vers le milieu traité à la décoction des feuilles de *P. harmala*, et ceci avec  $431,57 \pm 58,70$  secondes ( $F_{\text{obs}} = 7,92$  ;  $p = 0,009$ ) (**Fig. 26**).

Une fois les larves témoins sont en exposition aux mêmes sources odorantes (témoin vs témoin ou traitée vs traitée), l'attraction est toujours plus rapide pour leur milieu de développement initial où elles mettent seulement  $37,03 \pm 3,99$  secondes pour le localiser (**Fig. 26**). Cependant, elles mettent plus de  $470,35 \pm 83,77$  secondes pour détecter l'odeur provenant du milieu traité ( $F_{\text{obs}} = 46,45$  ;  $p < 0,0001$ ) (**Fig. 26**).



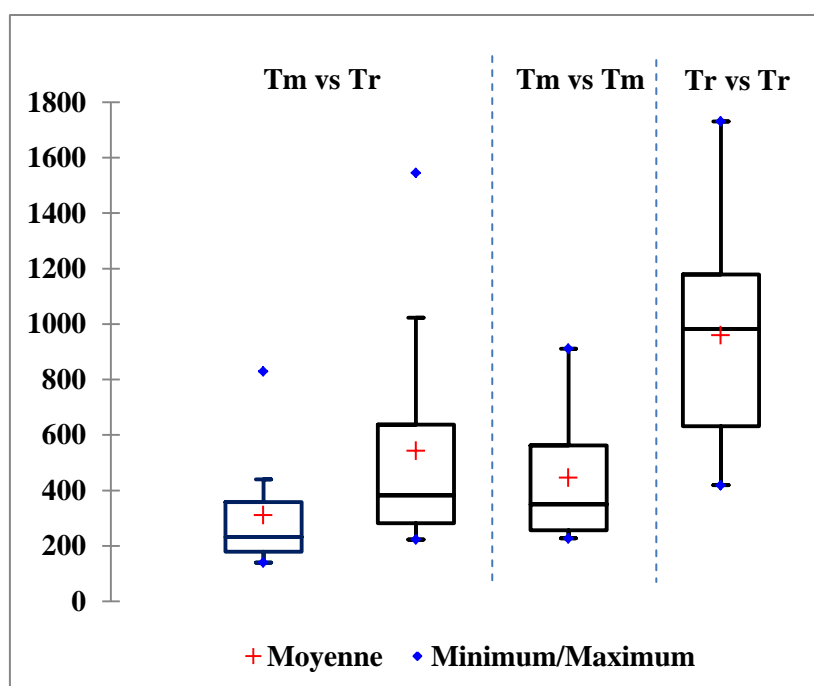
**Figure 26. Temps de détection (en secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs testées (n=30)**

[*Tm* : Milieu témoin, *Tr* : Milieu traité aux feuilles de *P. harmala* (300µg/ml)]

En ce qui concerne les larves traitées, les temps de détection enregistrés sont en moyenne  $310,9 \pm 65,35$  et  $543,33 \pm 94,24$  secondes pour localiser, respectivement, les papiers imbibés dans le milieu témoin et traité à l'extrait aqueux de feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) ( $F_{\text{obs}} = 2,20$  ;  $p = 0,15$  non significative) (**Fig. 27**).

En outre, elles mettent entre 227 à 911 secondes pour localiser l'odeur témoin et de 419 à 1731 secondes pour l'odeur traitée, lorsqu'on utilise deux milieux similaires dans l'acène du test (**Fig. 27**).

Au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , l'analyse statistique montre qu'il n'existe pas des différences significatives entre les temps de détection des milieux utilisés dans les trois tests ( $F_{\text{obs}} = 2,44$  ;  $p = 0,07$ ) (**Fig. 27**).



**Figure 27. Temps de détection (en secondes) des larves traitées, à une concentration sub létale des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml), en réponse aux différentes odeurs testées (n=30)**

[*Tm* : Milieu témoin, *Tr* : Milieu traité aux feuilles de *P. harmala* (300µg/ml)]

#### **Sur le comportement sexuel :**

L'efficacité des extraits foliaires de *P. harmala* a été testée sur le comportement sexuel chez les adultes de *D. melanogaster*, après une administration par ingestion d'une concentration sub létale (300 µg/ml) à l'égard des larves de 2<sup>ème</sup> stade.

Sauf les attouchements (contacts), où tous les mâles ont pu s'orienter vers leurs femelles et les tapoter (100%) (**Tab. 10**), nos résultats montrent que le traitement agit différemment sur les autres séquences comportementales de la parade sexuelle, selon le type de croisement effectué.

Seuls 40 à 46,67% des mâles traités ont paradé (vibrations ailières), alors que 100% des témoins ont réalisé cet acte (**Tab. 10**). De plus, seuls 23,33 à 50% de ces derniers ont léché les sécrétions femelles chez les couples où, au moins un, des individus est traité (**Tab. 10**). En ce qui concerne les tentatives d'accouplement, 26 mâles dans les couples témoins ont tenté de s'accoupler menant à un taux d'accouplement réussi de 83,33% (25 couples). Par contre, seulement 4 à 5 couples sont arrivés à tenter lorsque l'un des deux sexes, ou les deux

partenaires sont traités. Le taux d'accouplement avorté chez les couples traités est équivalent à 90% (**Tab. 10**).

**Tableau 10 : Effet d'une concentration sublétales des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez *D. melanogaster*, (n=30)**

	Contacts	Vibrations	Léchages	Tentatives	Accouplement réussi
♂ <b>Tm</b> x ♀ <b>Tm</b>	100	100	86,67	86,67	83,33
♂ <b>Tm</b> x ♀ <b>Tr</b>	100	63,33	50	46,67	40
♂ <b>Tr</b> x ♀ <b>Tm</b>	100	40	23,33	16,67	13,33
♂ <b>Tr</b> x ♀ <b>Tr</b>	100	46,67	23,33	13,33	10

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; **Tm**, Témoin ; **Tr**, Traité]

Nous avons enregistré des séquences comportementales différentes de celles observées habituellement chez les individus non traités (**Tab. 11**).

Dès qu'un des individus est traité, le temps nécessaire pour que le mâle reconnaisse sa femelle et effectue le premier contact augmente fortement (32,8 à 81,33 secondes), ainsi le nombre moyen d'attouchements, avec plus de  $12,47 \pm 1,39$  contacts sont enregistrés chez les mâles traités (couples traités). En effet, l'analyse des variances montre qu'il existe des différences hautement significatives, respectivement sont :  $F_{\text{obs}} = 16,64$  ;  $p < 0,0001$  et  $F_{\text{obs}} = 5,18$  ;  $p = 0,002$  (**Tab. 11**).

De plus, le temps moyen du premier chant, du premier léchage et celui de tentative d'accouplement demeurent aussi très élevés en comparaison avec ceux des adultes témoins. Cependant, ses vibrations ailières se répètent 20,64 fois plus importants ( $F_{\text{obs}} = 17,73$  ;  $p < 0,0001$ ) (**Tab. 11**). Le nombre moyen de léchages et celui de tentatives d'accouplement, lorsque au moins un des deux adultes est traité, peuvent atteindre jusqu'à 12 et 6 fois, respectivement. Au seuil de signification  $\alpha=0,05$ , l'analyse des variances montre qu'il existe des différences hautement significatives en comparant aux couples témoins (**Tab. 11**).

En effet, la latence d'accouplement est assez élevée et atteindre jusqu'à 427,17 à 1199,67 secondes ( $F_{\text{obs}} = 7,25$  et  $p = 0,0005$ ) (**Tab. 11**). La durée moyenne que prennent les adultes, pour aboutir à un accouplement réussi, diffère selon le sujet traité. Des différences hautement significatives sont révélées par l'analyse des variances  $F_{\text{obs}} = 6,38$  et  $p = 0,0005$  (**Tab. 11**).

**Tableau 11 : Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>a</b>	9,33 ± 1,44	53,63 ± 7,89	81,33 ± 8,79	32,8 ± 5,16	<b>16,64</b>	<b>0,0001***</b>
<b>b</b>	4,17 ± 0,49	6,7 ± 0,94	6,5 ± 0,88	12,47 ± 1,39	<b>5,18</b>	<b>0,002**</b>
<b>c</b>	67,37 ± 11,06	298,95 ± 56,32	305,08 ± 45,76	159,14 ± 29,89	<b>7,26</b>	<b>0,0002***</b>
<b>d</b>	8,3 ± 0,90	8,32 ± 1,43	11,08 ± 2,56	20,64 ± 6,89	<b>17,73</b>	<b>0,0001***</b>
<b>e</b>	98,69 ± 17,35	283 ± 56,07	445,14 ± 76,90	206,43 ± 73,57	<b>2,45</b>	<b>0,07</b>
<b>f</b>	4,65 ± 0,76	6,53 ± 1,28	8 ± 1,38	12 ± 2,66	<b>2,50</b>	<b>0,07</b>
<b>g</b>	192,85 ± 36,61	362,14 ± 72,46	480,8 ± 123,01	717,75 ± 302,61	<b>8,05</b>	<b>0,0002***</b>
<b>h</b>	2,64 ± 0,47	2,54 ± 0,78	3,2 ± 0,58	6 ± 2,48	<b>2,70</b>	<b>0,06</b>
<b>i</b>	286,8 ± 44,51	427,17 ± 51,62	445,25 ± 126,31	1199,67 ± 349,95	<b>7,25</b>	<b>0,0005***</b>
<b>j</b>	720,9	491,73	176,30	1039,33	<b>6,38</b>	<b>0,0005***</b>

[**a**, Temps de 1<sup>er</sup> contact ; **b**, Nombre de contacts ; **c**, Temps de 1<sup>ère</sup> vibration ; **d**, Nombre de vibrations ; **e**, Temps de 1<sup>er</sup> léchage ; **f**, Nombre de léchages ; **g**, Temps de 1<sup>ère</sup> tentative ; **h**, Nombre de tentatives ; **i**, Latence d'accouplement ; **j**, Durée d'accouplement ; ♂, Mâle ; ♀, Femelle ; **Tm**, Témoin ; **Tr**, Traité ; **Moy**, Moyenne ; **SEM**, Ecart type de la moyenne ; \*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

#### **Sur le comportement d'oviposition :**

Nous avons testé l'effet différé d'extrait, la décoction des feuilles de *P. harmala* à une concentration sublétale (300 µg/ml), sur le comportement d'oviposition, l'attractivité et la préférence olfactive du site de ponte chez *D. melanogaster*.

Les résultats consignés dans le tableau 12 montrent que sur 25 couples témoins testés, toutes les femelles préfèrent significativement pondre leurs œufs dans le milieu témoins ( $p = 1$ ) (**Tab. 12**). Quand les femelles sont traitées, elles présentent une très faible réaction positive (2 de 11), voir nulle (0 de 3) vis-à-vis ce milieu (**Tab. 12**).

En analysant leur comportement envers le milieu traité au *P. harmala* (300 µg/ml), les femelles traitées se montrent attirées par l'odeur de ce milieu (9 femelles avec  $p = 0,968$  et 3 femelles avec  $p < 0,885$ ), alors que les témoins ne le sont pas (**Tab. 12**).

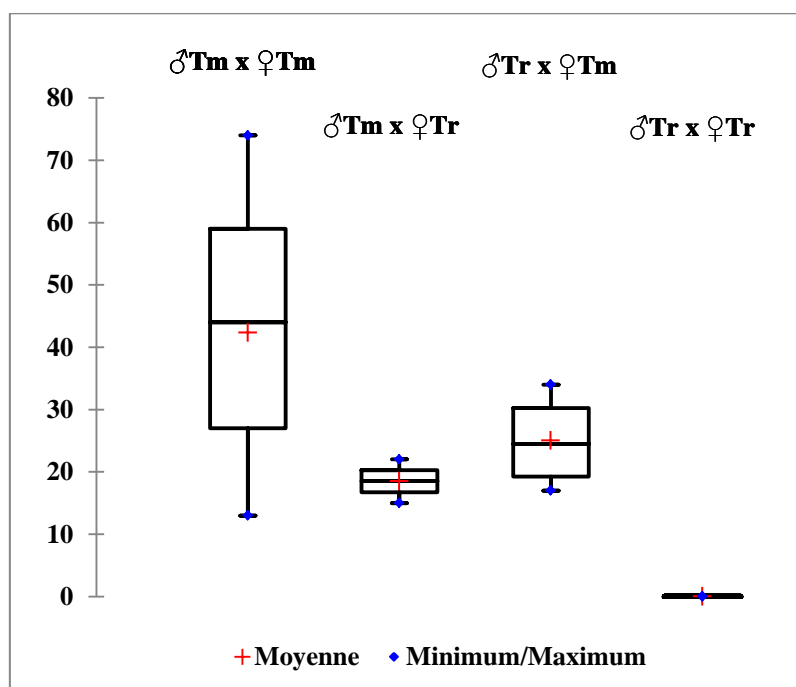


**Tableau 12 : Effet d'une concentration sublétale des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) sur le choix du site de ponte chez *D. melanogaster***

	N	Milieu Témoin			Milieu Traité		
		A	NA	<i>p</i>	A	NA	<i>p</i>
♂Tm x ♀Tm	25	100	0	<b>1,000 (S)</b>	28	72	<b>0,988 (S)</b>
♂Tm x ♀Tr	11	18,18	81,82	<b>0,968 (S)</b>	81,82	18,18	<b>0,968 (S)</b>
♂Tr x ♀Tm	4	100	0	<b>&lt; 0,923 (NS)</b>	25	75	<b>&lt; 0,923 (NS)</b>
♂Tr x ♀Tr	3	0	100	<b>&lt; 0,885 (NS)</b>	100	0	<b>&lt; 0,885 (NS)</b>

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; r, Traité ; A, attiré ; N, Non attiré ; S, Signification ; NS, Non signification]

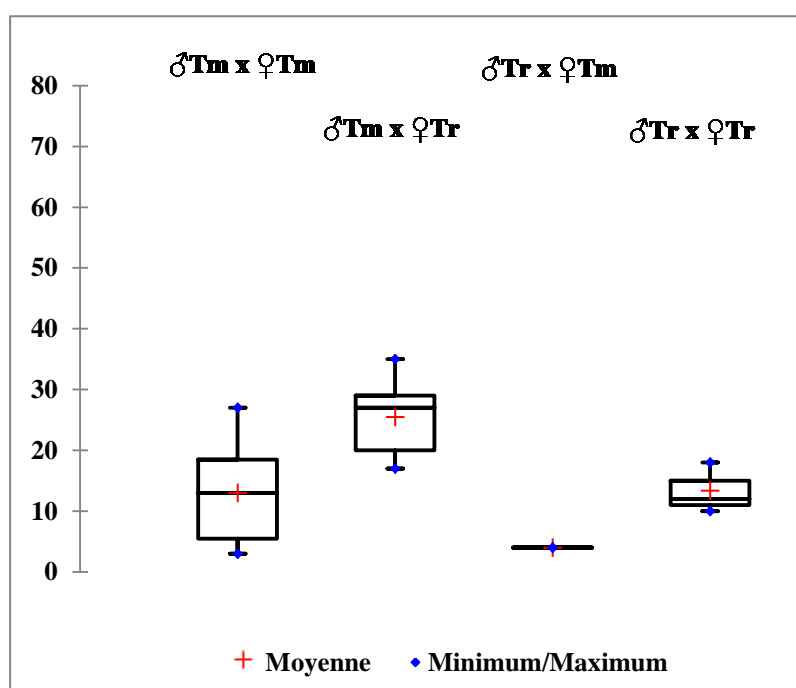
Le nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin diffère selon le couple testé (**Fig. 28**). Ce sont toujours les femelles témoins qui pondent de plus sur ce dernier avec  $42,36 \pm 3,47$  à  $25 \pm 3,93$  œufs en moyen. Cependant, ce nombre est complètement nulle quand il s'agit des femelles traitées (couple traité). L'analyse des variance montre qu'il existe des différences hautement significative, au seuil  $\alpha = 0,05$  ( $F_{obs} = 41,86$  ;  $p < 0,0001$ ) (**Fig. 28**).



**Figure 28. Nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin**

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

De manière générale, le nombre moyen d'œufs pondus chez les femelles, ayant été préalablement exposées à la décoction de feuilles de *P. harmala*, augmente d'environ 13,33 à 25,44 œufs sur le milieu traité en comparaison au milieu non traité (**Fig. 29**). De plus, les femelles témoins montrent une aversion plus importante à cette molécule et pondent moins d'œufs, seulement 4 à 13 œufs en moyen (les valeurs de IPO obtenus sont toujours négative : -0,53 et -0,72) (**Tab. 13**). Cependant, l'analyse statistique des données ne relève pas des différences significatives entre les insectes testés ( $F_{obs} = 41,86 ; p < 0,0001$ ) (**Fig. 29**).



**Figure 29. Nombre d'œufs pondus dans le milieu traité aux feuilles de *P. harmala* (300µg/ml)**

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

**Tableau 13 : Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* en présence d'extrait des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml)**

Couple :	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr
IPO	-0,53	+0,85	-0,72	+1

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Le traitement affecte la fécondité des femelles en réduisant de manière hautement significative le nombre d'œufs pondus et ce comparativement aux témoins ( $F_{obs} = 7,41 ; p = 0,0003$ ) (**Tab. 14**). Il est seulement de  $13,33 \pm 2,40$  œufs chez les couples traités, dont le maximum est de 18 œufs, tandis que celui déposé par les femelles témoins (couples témoins)

est de  $35,94 \pm 3,54$  avec un minimum de 3 et un maximum de 74 œufs (**Tab. 14**). La réduction a été enregistrée dans l'ordre : ♂Tr x ♀Tr > ♂Tr x ♀Tm > ♂Tm x ♀Tr > ♂Tm x ♀Tm (**Tab. 14**).

**Tableau 14 : Effet des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) sur le nombre total d'œufs pondus selon le type de croisement effectué**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>N</b>	25	11	4	3	<b>7,41</b>	<b>0,0003***</b>
<b>Moy ± SEM</b>	35,94 ± 3,54	24,18 ± 1,90	20,80 ± 5,19	13,33 ± 2,40		
<b>Min – Max</b>	(3 - 74)	(15 - 35)	(4 - 34)	(10 - 18)		
<b>Total</b>	1150	266	104	40		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; Moy, Moyenne ; SEM, Ecart type de la moyenne ; Min, Minimum ; Max, Maximum ; \*\*\*, Très hautement significatif]

### 3.1.2. Effets des extraits aqueux des fleurs de *P. harmala* sur la drosophile :

#### 3.1.2.1. Essai insecticide à l'égard des larves du 2<sup>ème</sup> stade :

L'exposition à l'extrait aqueux des fleurs de *P. harmala* montre que le produit n'agit que sur 5% des larves traitées avec les faibles concentrations (250 µg/ml et 500 µg/ml). Un taux de 12,5% seulement a été enregistré avec la forte concentration (840 µg/ml) au bout de 15 jours (F<sub>obs</sub> = 4,19 ; p < 0,0001) (**Tab. 15**).

La comparaison des variances montre qu'il existe des différences significatives entre les taux de mortalité due aux quatre concentrations, 2 et 5 jours après le traitement (F= 5,81 ; p = 0,01), (F= 2,90 et p = 0,08) (**Tab. 15**).

**Tableau 15 : Mortalité corrigée chez les larves de *D. melanogaster* traitées par l'extrait aqueux de fleurs de *P. harmala***

	2j	5j	10j	15j	F <sub>obs</sub>	p
<b>250µg/ml</b>	0%	2,50%	5%	5%	<b>3,43</b>	<b>0,05*</b>
<b>500µg/ml</b>	2,5%	3,75%	3,75%	5%	<b>0,60</b>	<b>0,63</b>
<b>750µg/ml</b>	6,25%	5,00%	5%	8,75%	<b>1,43</b>	<b>0,28</b>
<b>840µg/ml</b>	7,5%	7,50%	7,5%	12,5%	<b>4,19</b>	<b>0,0001***</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>5,81</b>	<b>2,90</b>	<b>1,51</b>	<b>1</b>		
<b>P</b>	<b>0,01*</b>	<b>0,08</b>	<b>0,26</b>	<b>0,43</b>		

[\* : Significatif, \*\*\* : Très hautement significatif]

Les différents paramètres toxicologiques de fleurs de *P. harmala* sont présentés dans le tableau 16. Ces derniers montrent qu'il y a une corrélation plus ou moins forte entre le taux de

mortalité et le temps d'exposition des mouches à différentes concentrations de l'insecticide ( $R^2$  varie entre 0,44 et 0,96) (**Tab. 16**).

Au bout de 10 jours, nos résultats relèvent que la mortalité chez *D. melanogaster* ne présente pas un effet concentration/réponse ; on enregistre une faible corrélation positive ( $R^2=0,18$ ) (**Tab. 16**). Cependant, il est observée au 15<sup>ème</sup> jour ( $R^2=0,68$ ) où le calcul des concentrations létales de 50% et 90% de la population nécessite l'utilisation de  $2,82 \cdot 10^4$   $\mu\text{g/ml}$  à  $1,00 \cdot 10^6$   $\mu\text{g/ml}$  de fleurs de *P. harmala* (**Tab. 16**).

**Tableau 16 : Paramètres toxicologiques des fleurs de *P. harmala***

**A** : en fonction du temps d'exposition des larves / **B** : en fonction de la concentration utilisée

"A"	Concentrations léthales :		
	Droite de regression	CL <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	CL <sub>90</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
2j	Y = -16,07 + 6,82 X $R^2= 0,92$	$1,23 \cdot 10^3$	$1,9 \cdot 10^3$
5j	Y = 0,92 + 0,87 X $R^2= 0,88$	$4,90 \cdot 10^4$	$1,45 \cdot 10^6$
10j	Y = 2,67 + 0,26 X $R^2= 0,18$	$9,12 \cdot 10^8$	$6,30 \cdot 10^{13}$
15j	Y = 1,30 + 0,83 X $R^2= 0,68$	$2,88 \cdot 10^4$	$1,00 \cdot 10^6$
"B"	Temps léthaux :		
	Droite de regression	TL <sub>50</sub> (jours)	TL <sub>90</sub> (jours)
250 $\mu\text{g/ml}$	Y = -0,60 + 3,83 X $R^2= 0,81$	28,84	60,26
500 $\mu\text{g/ml}$	Y = 3,14 + 0,13 X $R^2= 0,45$	$2,04 \cdot 10^{14}$	$1,41 \cdot 10^{24}$
750 $\mu\text{g/ml}$	Y = 3,89 + 1,30 X $R^2= 0,96$	$1,35 \cdot 10^{10}$	$1,35 \cdot 10^{18}$
840 $\mu\text{g/ml}$	Y = 3,43 + 0,25 X $R^2= 0,44$	$1,91 \cdot 10^{12}$	$2,51 \cdot 10^{11}$

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des concentrations et/ou des temps]

### 3.1.2.2. Impact sur la croissance et la durée de développement :

Le tableau 17 présente les pourcentages de développement observés chez les larves de 2<sup>ème</sup> stade après traitement avec l'extrait floral de *P. harmala* aux différentes concentrations (250, 500, 750 et 840  $\mu\text{g/ml}$ ).

Le pourcentage d'inhibition augmente de manière proportionnelle aux doses administrées. À 2 jours, le taux de larves traitées varie entre 75% et 100% et ce, comparativement au lot témoin, qui est seulement 40%. À la concentration la plus forte (840  $\mu\text{g/ml}$ ), ce dernier peut atteindre jusqu'à 74,32% au bout 5 jour. De plus, le taux de pupes issues des larves traitées ne dépasse pas les 25,68%, tandis que celui issu du témoin est de 100% (**Tab. 17**). Les fleurs de *P. harmala* réduit également le pourcentage d'émergence des adultes de *D. melanogaster* par rapport aux témoins et ce avec un effet concentration-réponse (**Tab. 17**).

**Tableau 17 : Taux d'individus, par stade, issus des traitements aux fleurs de *P. harmala***

		2j		5j		10j		15j				
<b>Tm</b>	N=20	<b>L</b>	40%	N=20	<b>L</b>	0	N=20	<b>L</b>	0	N=20	<b>L</b>	0
		<b>P</b>	60%		<b>P</b>	100%		<b>P</b>	0		<b>P</b>	0
		<b>A</b>	0		<b>A</b>	0		<b>A</b>	100%		<b>A</b>	100%
<b>1</b>	N=20	<b>L</b>	75%	N=19,5	<b>L</b>	19,23%	N=19	<b>L</b>	0	N=19	<b>L</b>	0
		<b>P</b>	25%		<b>P</b>	80,77%		<b>P</b>	25%		<b>P</b>	0
		<b>A</b>	0		<b>A</b>	0		<b>A</b>	75%		<b>A</b>	100%
<b>2</b>	N=19,25	<b>L</b>	100%	N=19,25	<b>L</b>	12,99%	N=19,25	<b>L</b>	0	N=19	<b>L</b>	0
		<b>P</b>	0		<b>P</b>	87,01%		<b>P</b>	59,74%		<b>P</b>	0
		<b>A</b>	0		<b>A</b>	0		<b>A</b>	40,26%		<b>A</b>	100%
<b>3</b>	N=19	<b>L</b>	85,53%	N=19	<b>L</b>	50%	N=19	<b>L</b>	0	N=17	<b>L</b>	0
		<b>P</b>	14,47%		<b>P</b>	50%		<b>P</b>	51,32%		<b>P</b>	0
		<b>A</b>	0		<b>A</b>	0		<b>A</b>	48,68%		<b>A</b>	100%
<b>4</b>	N=18,5	<b>L</b>	100%	N=18,5	<b>L</b>	74,32%	N=18,5	<b>L</b>	9,46%	N=17,5	<b>L</b>	1,43%
		<b>P</b>	0		<b>P</b>	25,68%		<b>P</b>	59,46%		<b>P</b>	4,29%
		<b>A</b>	0		<b>A</b>	0		<b>A</b>	31,08%		<b>A</b>	94,28%

[**Tm** : Témoins ; **1** : 250µg/ml ; **2** : 500µg/ml ; **3** : 750µg/ml ; **4** : 840µg/ml ; **N** : Nombre moyen d'individus issus des différents traitements ; **L** : Larve ; **P** : Puce ; **A** : Adulte]

Des malformations morphologiques ont été enregistrées au niveau des ailes et des pattes chez les adultes après un traitement avec les différentes concentrations d'extrait aqueux de fleurs de *P. harmala* (**Fig. 30**).



**Figure 30. Effet d'extrait aqueux de fleurs *P. harmala* sur *D. melanogaster* (x 4,5) (Photos Originales)**

### 3.1.2.3. Effets du traitement par une concentration sublétales (840 µg/ml) sur le comportement de *D. melanogaster* :

#### *Sur le comportement alimentaire des larves du 3<sup>ème</sup> stade :*

Nous avons testé les réponses préférentielles des larves témoins et traitées à une concentration sublétales des fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml) envers de différentes odeurs. Ce suivi individuel permet de déterminer plus précisément le comportement de chaque larve.

#### *Chez les larves témoins :*

Quelque soit le test (1, 2 ou 3), le taux d'attractivité chez les larves témoins augmente graduellement en fonction du temps. À la présence de deux milieux (témoin vs traité), elles montrent des réponses plus nettes envers celui témoin et non pour le traité ; le taux d'attractivité peut atteindre 79,31% au bout de 60 minutes. En effet, l'analyse de Monté Carlo montre des différences significatives, avec une  $p = 1$  (**Tab. 18**).

Les insectes se comportent de la même façon vis-à-vis le milieu témoin quand il s'agit de deux milieux similaires. En revanche, l'extrait floral de *P. harmala* (840 µg/ml) ne provoque aucune attraction significative (cas de milieu traité vs traité). Deux minutes du test, le taux est de l'ordre de 55,17% et il diminue jusqu'à 6,90% après 60 minutes (**Tab. 18**).

#### *Chez les larves traitées :*

Nos résultats (**Tab. 19**) montrent que les larves traitées, quel que soit les milieux testés, ne sont significativement attirées ni par l'odeur témoin, ni par celle traité au bout 2 minutes (seulement 6,9 à 20,69% les sont).

Ce n'est qu'après 5 minutes qu'on a enregistré une augmentation dans les taux d'attraction : 58,62, 24,14 et 55,17%, respectivement pour test 1, 2 et 3 dont l'extrait de fleurs de *P. harmala* le plus attractif. Ces derniers se stabilisent au cour de temps, mais reste toujours non significatives (**Tab. 19**).

Tableau 18 : Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)

Dans 2 min :				
Test	A		NA	p
1	58,62%		41,38%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	58,82%	41,18%		
	<b>p : &lt; 0,922 (NS)</b>			
2	100%		0%	<b>1,00 (S)</b>
3	55,17%		44,83%	< 0,904 (NS)
Dans 5 min :				
Test	A		NA	p
1	86,21%		13,79%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	48%	52%		
	<b>p : &lt; 0,828 (NS)</b>			
2	96,55%		3,45%	<b>1,00 (S)</b>
3	44,83%		55,17%	< 0,904 (NS)
Dans 15 min :				
Test	A		NA	p
1	82,76%		17,24%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	50%	50%		
	<b>p : &lt; 0,908 (NS)</b>			
2	93,10%		6,70%	<b>1,00 (S)</b>
3	13,79%		86,21%	<b>1,00 (S)</b>
Dans 30 min :				
Test	A		NA	p
1	93,10%		6,90%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	62,96%	37,04%		
	<b>p : &lt; 0,924 (NS)</b>			
2	100%		0%	<b>1,00 (S)</b>
3	13,79%		86,21%	<b>1,00 (S)</b>
Dans 60 min :				
Test	A		NA	p
1	100%		0%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	79,31%	20,69%		
	<b>p : 1,00 (S)</b>			
2	96,55%		3,45%	<b>1,00 (S)</b>
3	6,90%		93,10%	<b>1,00 (S)</b>

[1 : Milieu témoin vs milieu traité aux fleurs de *P. harmala* (840µg/ml), 2 : Milieu témoin vs milieu témoin, 3 : Milieu traité vs milieu traité, aux fleurs de *P. harmala* (840µg/ml), **Tm** : Milieu témoin, **Tr** : Milieu traité, **A** : Attiré, **NA** : Non attiré, **S** : Significatif, **NS** : Non significatif]

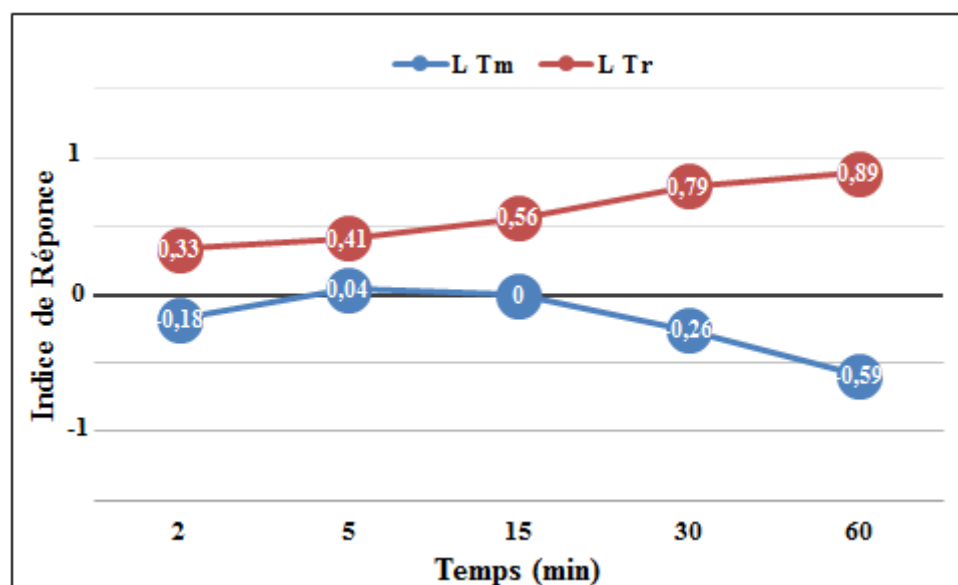
**Tableau 19 : Attractivité des larves traitées, à une concentration sublétales de fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml), vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)**

Dans 2 min :				
Test	A		NA	p
1	20,69%		79,31%	1,00 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	33,33%	66,67%		
	<b>p : &lt; 0,867 (NS)</b>			
2	6,9%		93,10%	1,00 (S)
3	13,79%		86,21%	1,00 (S)
Dans 5 min :				
Test	A		NA	p
1	58,62%		41,38%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	29,41%	70,59%		
	<b>p : &lt; 0,922 (NS)</b>			
2	24,14%		75,86%	< 0,992 (NS)
3	55,17%		44,83 %	< 0,904 (NS)
Dans 15 min :				
Test	A		NA	p
1	62,07%		37,93%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	26,32%	73,68%		
	<b>p : 0,982 (S)</b>			
2	48,28%		51,72%	< 0,904 (NS)
3	65,52%		34,48%	< 0,904 (NS)
Dans 30 min :				
Test	A		NA	p
1	65,52%		34,48%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	10,53%	89,47%		
	<b>p : 1,00 (S)</b>			
2	58,62%		41,38%	< 0,904 (NS)
3	65,52%		34,48%	< 0,904 (NS)
Dans 60 min :				
Test	A		NA	p
1	65,52%		34,48	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	5,26%	94,74%		
	<b>p : 1,00 (S)</b>			
2	51,72%		48,28%	< 0,904 (NS)
3	65,52%		34,48%	< 0,904 (NS)

[1 : Milieu témoin vs milieu traité aux fleurs de *P. harmala* (840µg/ml), 2 : Milieu témoin vs milieu témoin, 3 : Milieu traité vs milieu traité, aux fleurs de *P. harmala* (840µg/ml), **Tm** : Milieu témoin, **Tr** : Milieu traité, **A** : Attiré, **NA** : Non attiré, **S** : Significatif, **NS** : Non significatif]



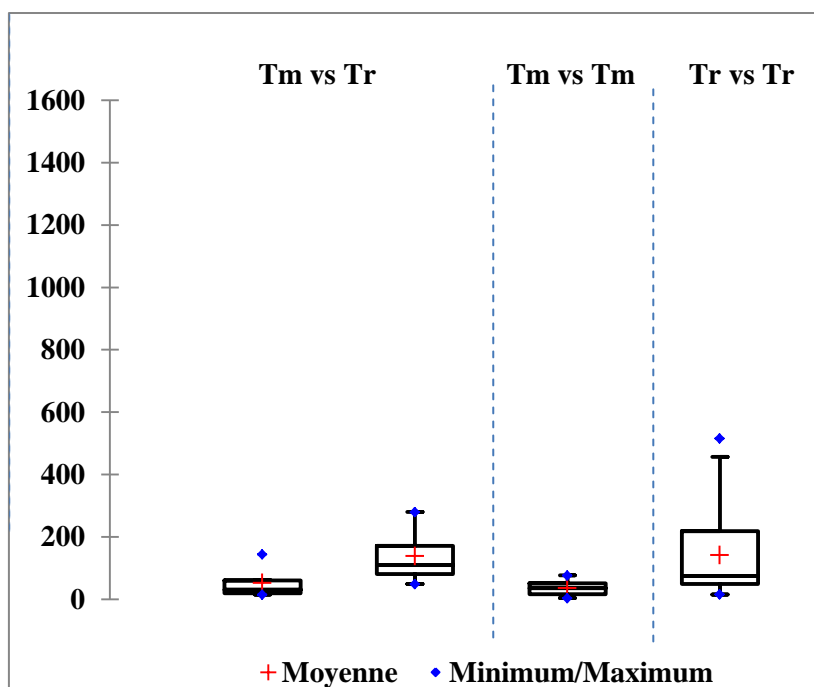
Le calcul de l'indice de réponse (**Fig. 31**) confirme les résultats obtenus dans les tableaux précédents. Les larves traitées présentent des valeurs positives qui augmentent au cours du temps (de 0,33 à 0,89), ce qui indique leur affinité au produit (**Fig. 31**). Dans l'autre côté, les larves témoins n'agissent pas de la même manière et présentent une aversion plus ou moins modérée envers ce dernier (**Fig. 31**).



**Figure 31. Indice de réponse (IR) des larves de *D. melanogaster* (témoins et traitées) envers l'extrait aqueux des fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml) dans le test du choix**

[*LTm* : Larves témoins, *LTr* : Larves traitées aux fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml)]

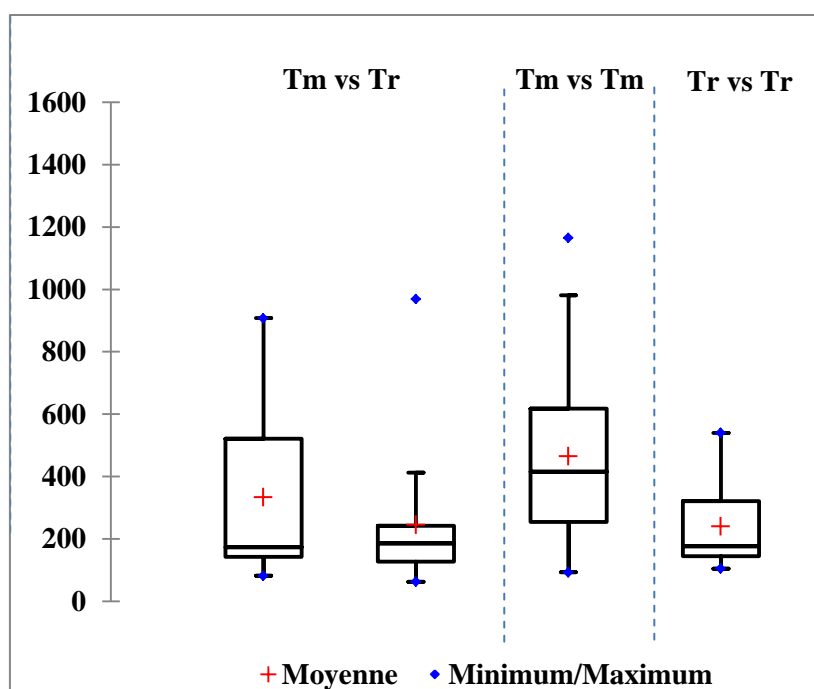
En ce qui concerne le temps de détection des odeurs testées, les larves témoins qui se dirigent vers le milieu témoin mettent seulement  $52,86 \pm 12,40$  secondes, tandis que celles qui se dirigent vers le milieu traité à la détection de fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml) mettent plus de  $139,53 \pm 19,35$  secondes. La comparaison des variances montrent qu'il y a des différences entre les temps moyens enregistrés ( $F_{\text{obs}} = 0,38$  et  $p = 0,09$ ) (**Fig. 32**). Les mêmes résultats sont observés quand on compare les milieux témoin vs témoin et traité vs traité ( $F_{\text{obs}} = 0,02$  et  $p < 0,0001$ ) (**Fig. 32**).



**Figure 32. Temps de détection (en secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs testées (n=30)**

[*Tm* : Milieu témoin, *Tr* : Milieu traité aux fleurs de *P. harmala* (840 $\mu$ g/ml)]

Nous avons également enregistré que les larves traitées mettent en moyenne  $334,53 \pm 105$  secondes pour le milieu témoin et  $246 \pm 55$  secondes pour le milieu traité à la décoction des fleurs de *P. harmala* (840  $\mu$ g/ml). La comparaison des variances montrent qu'il y a des différences entre les temps moyens enregistrés ( $F_{\text{obs}} = 1,81$  et  $p = 0,32$ ) (**Fig. 33**). Les mêmes résultats sont observés quand on compare les milieux témoin vs témoins et traité vs traité, cependant des différences significatives sont marquées ( $F_{\text{obs}} = 4,85$  et  $p = 0,001$ ) (**Fig. 33**).



**Figure 33. Temps de détection (en secondes) des larves traitées, à une concentration sublétales des fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml), en réponse aux différentes odeurs testées (n=30)**

[*Tm* : Milieu témoin, *Tr* : Milieu traité aux fleurs de *P. harmala* (840µg/ml)]

#### *Sur le comportement sexuel :*

Les résultats obtenus sur le comportement sexuel des mouches traitées au *P. harmala* à la concentration sublétales de 840 µg/ml indiquent un changement de comportement de la part des femelles, des mâles ou les deux à la fois selon le type de croisement effectué (**Tab. 20**).

Toutes ces drosophiles affectées par le produit induisent dans presque tous les tests réalisés des séquences comportementales inachevées résultant des accouplements avortés. (**Tab. 20**). Sauf le taux de réussis des contacts (100%), on enregistre que ceux des vibrations, des léchages et des tentatives d'accouplement demeurent très inférieures en comparant avec ceux chez les témoins (**Tab. 20**).

Le croisement de deux individus traités (Mâle Traité x Femelle Traitée) démontre l'existence d'un seul test réussi sur les 30 effectués (3,3%) (**Tab. 20**).

**Tableau 20 : Effet d'une concentration sublétale des fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez *D. melanogaster*, (n=30)**

	Contacts	Vibrations	Léchages	Tentatives	Accouplement réussi
♂Tm x ♀Tm	100	100	86,67	86,67	86,67
♂Tm x ♀Tr	100	93,33	46,67	33,33	23,33
♂Tr x ♀Tm	100	43,33	20	10	10
♂Tr x ♀Tr	100	16,67	6,67	6,67	3,33

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Les résultats affichés dans le tableau 21, représentent des variations de moyenne des différentes étapes du comportement sexuel de *D. melanogaster* traitée aux fleurs de *P. harmala* selon 4 types de tests comportementaux. Le temps moyen affiché par les mâles qu'ils soient sains ou traités pour aboutir au premier contact des femelles saines ou traitées est très lent allant de  $38,73 \pm 4,57$  jusqu'à  $84,67 \pm 15,84$  secondes comparé à seulement  $5,43 \pm 0,87$  secondes lorsqu'on croise des individus sains entre eux (**Tab. 21**).

De plus, dans les tests effectués entre individus traités, on note le temps moyen de parade de  $299,4 \pm 69,10$  secondes ce qui est minime pour réaliser des parades nuptiales aboutissant à des accouplements réussis. Quant au temps moyen de parade  $206,89 \pm 35,98$  secondes enregistré par les mâles sains croisés à des femelles traitées est aussi insuffisant comparé à celui affiché par le croisement des mouches saines entre elles ( $36,57 \pm 2,60$  secondes) (**Tab. 21**).

Comme le montre le tableau 21, le nombre moyen d'attouchements diffère selon le sujet testé. En effet, celui enregistré dans les couples sains ( $10,03 \pm 1,08$ ) est très infime pour qu'un accouplement se réalise. Alors qu'il est plus de  $17,4 \pm 2,45$  à  $20,33 \pm 1,72$  quand il s'agit du mâle traité x femelle saine et mâle traité x femelle traitée.

On note aussi dans le cas où les mâles sont traités aux fleurs de *P. harmala*, le nombre de chant moyen est de  $1,8 \pm 0,37$  à  $2,15 \pm 0,30$  ce qui est réduit en comparant à celui émis par les mâles sains vis-à-vis des femelles saines, en effet ces dernières sont plus réceptives. C'est le même cas en ce qui concerne de nombre des léchages et des tentatives d'accouplement (**Tab. 21**).

En effet, la latence d'accouplement est assez élevée et atteindre jusqu'à 646,43 à 1268 secondes ( $F_{obs} = 2,84$  et  $p = 0,07$ ) (**Tab. 21**). La durée moyenne que prennent les adultes, pour aboutir à un accouplement réussi, diffère selon le sujet traité (**Tab. 21**).

**Tableau 21 : Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	$F_{obs}$	$p$
<b>a</b>	5,43 ± 0,87	52,13 ± 11,46	84,67 ± 15,84	38,73 ± 4,57	<b>16,22</b>	<b>0,0001***</b>
<b>b</b>	10,03 ± 1,08	17,4 ± 2,45	12,9 ± 1,44	20,33 ± 1,72	<b>10,94</b>	<b>0,0001***</b>
<b>c</b>	36,57 ± 2,60	206,89 ± 35,98	137,08 ± 12,74	299,4 ± 69,10	<b>15,71</b>	<b>0,0001***</b>
<b>d</b>	11,03 ± 0,83	6,46 ± 1,02	2,15 ± 0,30	1,8 ± 0,37	<b>5,45</b>	<b>0,002**</b>
<b>e</b>	64,42 ± 11,35	359,43 ± 76,23	328 ± 128,43	307,5 ± 113,5	<b>13,39</b>	<b>0,0001***</b>
<b>f</b>	3,81 ± 0,48	7,69 ± 1,55	9,17 ± 1,56	6,5 ± 1,5	<b>2,50</b>	<b>0,07</b>
<b>g</b>	64,42 ± 11,35	359,43 ± 76,24	328 ± 128,43	307,5 ± 113,5	<b>1,25</b>	<b>0,31</b>
<b>h</b>	4,12 ± 0,45	5,1 ± 0,50	6,33 ± 0,33	1 ± 0	<b>6,39</b>	<b>0,001**</b>
<b>i</b>	653,58 ± 69,114	646,43 ± 87,88	908,33 ± 193,87	1268 ± -	<b>2,84</b>	<b>0,07</b>
<b>j</b>	1144,5 ± 69,90	1153 ± 125,2	779,33 ± 140,98	1064 ± -	<b>0,64</b>	<b>0,53</b>

[**a**, Temps de 1<sup>er</sup> contact ; **b**, Nombre de contacts ; **c**, Temps de 1<sup>ère</sup> vibration ; **d**, Nombre de vibrations ; **e**, Temps de 1<sup>er</sup> léchage ; **f**, Nombre de léchages ; **g**, Temps de 1<sup>ère</sup> tentative ; **h**, Nombre de tentatives ; **i**, Latence d'accouplement ; **j**, Durée d'accouplement ; ♂, Mâle ; ♀, Femelle ; **Tm**, Témoin ; **Tr**, Traité ; **Moy**, Moyenne ; **SEM**, Ecart type de la moyenne ; \*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

### Sur le comportement d'oviposition :

Les tests de choix du site de ponte montrent que sur 30 couples témoins testés, seul 50% des femelles sont attirées par le milieu nutritif traité aux fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml) ; alors que toutes ces dernières préfèrent de pondre ses œufs dans le milieu témoin ( $p = 1,000$ ) (**Tab. 22**).

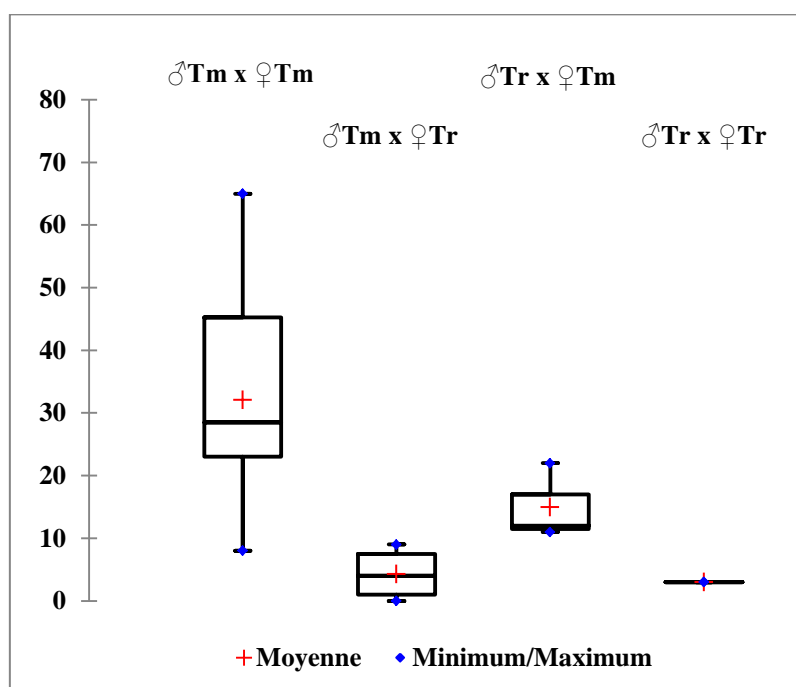
Dans les croisements où les femelles sont traitées, elles sont aussi attirées par les deux milieux (témoin et traité). Cependant l'analyse statistique par la simulation de Monté Carlo ne montre aucune différence significative entre les choix établis (**Tab. 22**).

**Tableau 22 : Effet d'une concentration sublétale des fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml) sur le choix du site de ponte chez *D. melanogaster***

	N	Milieu Témoin			Milieu Traité		
		A	NA	<i>p</i>	A	NA	<i>p</i>
♂Tm x ♀Tm	26	100	0	<b>1,000 (S)</b>	50	50	<b>&lt; 0,922 (NS)</b>
♂Tm x ♀Tr	7	85,71	14,29	<b>&lt; 0,929 (NS)</b>	100	0	<b>0,992 (S)</b>
♂Tr x ♀Tm	3	100	0	<b>&lt; 0,885 (NS)</b>	100	0	<b>&lt; 0,885 (NS)</b>
♂Tr x ♀Tr	1	100	0	<b>(NS)</b>	100	0	<b>(NS)</b>

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; A, Attiré ; N, Non attiré ; S, Signification ; NS, Non signification]

En ce qui concerne le milieu témoin, le nombre d'œufs pondus par les femelles saines (couples témoins) demeure très élevé ( $32,08 \pm 2,91$  œufs), avec un maximum égal à 65 (**Fig. 34**). Tandis que celui enregistré chez les couples, où au moins un des deux individus est traité ou tout les deux sont traités, est de 3 à 15 œufs seulement. Au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , l'analyse des variances montre qu'il existe des différences hautement significatives entre les nombre d'œufs pondus sur ce milieu ( $F_{\text{obs}} = 4,49 ; p = 0,009$ ) (**Fig. 34**).

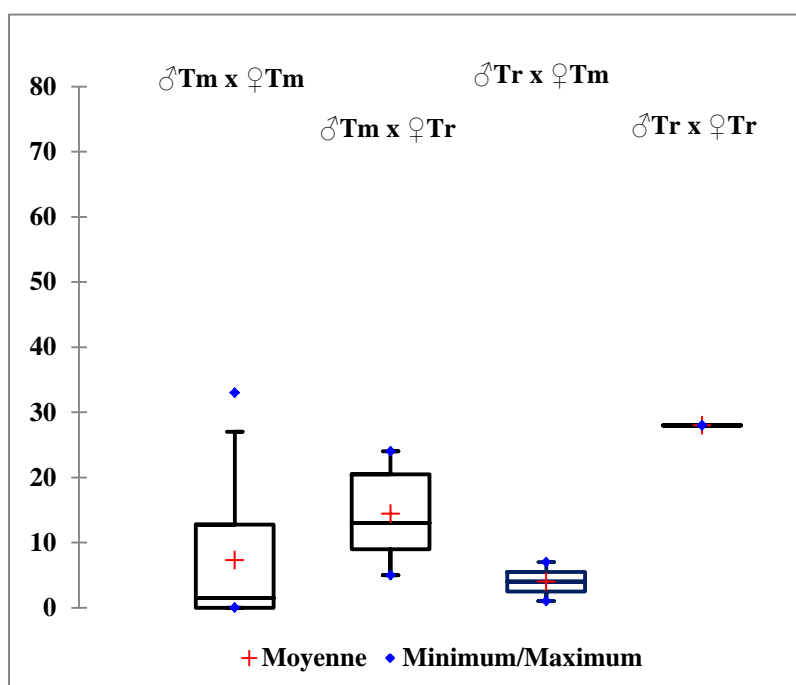


**Figure 34. Nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin**

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Contrairement au milieu témoin, les femelles traitées montrent une affinité remarquable au milieu traité où elles pondent plus de 14,43 à 28 œufs alors que les femelles témoins présentent une très faible réaction positive envers ce dernier (4 à 7,27 œufs seulement).

Cependant, l'analyse des variances montre qu'il n'existe pas des différences significatives entre les insectes testés ( $F_{obs} = 2 ; p = 0,13$ ) (**Fig. 35**). Les valeurs de l'IPO obtenus confirment ces observations ; elles varient entre +0,54 et +0,81 pour les femelles traitées et de -0,58 et -0,63 pour celle témoins (**Tab. 23**).



**Figure 35. Nombre d'œufs pondus dans le milieu traité aux fleurs de *P. harmala* (840µg/ml)**

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

**Tableau 23 : Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* en présence d'extrait des fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml)**

Couple :	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr
IPO	-0,63	+0,54	-0,58	+0,81

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Une diminution significative a été enregistrée entre les quatre croisements testés, après l'administration de la décoction des fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml) ( $F_{obs} = 4,17 ; p = 0,02$ ) (**Tab. 24**).

Le nombre total chez les couples témoins est égal à 1023 œufs avec un maximum de 12 et un minimum de 65. Quand il est un des deux adultes ou les deux sont traités, il varie entre 31 à 131 œufs, seulement. La comparaison suivante exprime la distribution des œufs pondus selon les insectes testés : ♂Tr x ♀Tr < ♂Tr x ♀Tm < ♂Tm x ♀Tr < ♂Tm x ♀Tm (**Tab. 24**).

**Tableau 24 : Effet des fleurs de *P. harmala* (840 µg/ml) sur le nombre total d'œufs pondus selon le type de croisement effectué**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>N</b>	26	7	3	1	<b>4,17</b>	<b>0,02*</b>
<b>Moy ± SEM</b>	39,35 ± 2,79	18,71 ± 2,47	19 ± 5,13	31 ± -		
<b>Min – Max</b>	(12 - 65)	(8 - 28)	(12 - 29)	-		
<b>Total</b>	1023	131	57	31		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; Moy, Moyenne ; SEM, Ecart type de la moyenne ; Min, minimum ; Max, maximum ; \*, Significatif]

### 3.1.3. Effets d'extrait aqueux des graines de *P. harmala* sur la drosophile :

#### 3.1.3.1. Essai insecticide à l'égard des larves du 2<sup>ème</sup> stade :

Les larves du deuxième stade de *D. melanogaster* sont peu sensibles au *P. harmala* au bout de 2 jours du traitement ; on enregistre des taux de mortalité qui ne dépassent pas le 15,07% et cela avec la concentration la plus élevée (300 µg/ml) (Tab. 25). Cependant, elles ont succombé au traitement dès le cinquième jour ; les résultats relèvent des taux plus ou moins élevés variables entre 3,75 et 63,8% lorsqu'on expose les insectes à 50, 200 et 300 µg/ml de l'insecticide.

Un taux de 100% atteint le 15<sup>ème</sup> jour avec les fortes concentrations (200 et 300 µg/ml), alors qu'il est seulement 26,3% avec 50 µg/ml. L'analyse des variances montre qu'il existe des différences hautement significatives entre les taux de mortalité due aux concentrations utilisées (F<sub>obs</sub>= 12,88 ; p = 0,002) (Tab. 25).

De plus, chaque concentration présente des différences hautement significatives au bout de 2, 5, 10 et 15 jours du traitement ; 50 µg/ml (F<sub>obs</sub>= 31,11 ; p < 0,0001), 200 µg/ml (F<sub>obs</sub>= 6,09 ; p = 0,009) et 300 µg/ml (F<sub>obs</sub>= 2,64 ; p = 0,09) (Tab. 25).

**Tableau 25 : Mortalité corrigée chez les larves de *D. melanogaster* traitées par l'extrait aqueux de graines de *P. harmala***

	2j	5j	10j	15j	F <sub>obs</sub>	p
<b>50µg/ml</b>	0%	2,5%	16,3%	26,3%	<b>4,96</b>	<b>0,02*</b>
<b>200µg/ml</b>	15,05%	63,8%	93,8%	100%	<b>44,45</b>	<b>0,0001***</b>
<b>300µg/ml</b>	15,07%	31,3%	66,3%	100%	<b>2,70</b>	<b>0,09</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>3,52</b>	<b>6,32</b>	<b>2,20</b>	<b>12,88</b>		
<b>p</b>	<b>0,08</b>	<b>0,02*</b>	<b>0,17</b>	<b>0,002**</b>		

[\*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]



Les résultats consignés dans le tableau 26 résument les différents paramètres toxicologiques des graines de *P. harmala*. Ces derniers montrent qu'il y a une forte corrélation entre le taux de mortalité et le temps d'exposition des mouches à différentes concentrations de produit.

En ce qui concerne la concentration de 200 µg/ml, les calculs montrent qu'il y a une forte corrélation positive entre la mortalité de *D. melanogaster* et le temps d'exposition puisque le coefficient de corrélation est de  $R^2= 0,92$  dont la droite de régression est donnée par la formule  $Y= 2,14 + 5,04 X$  (Tab. 26). Les temps létaux calculés sont de 3,72 et 6,61 jours pour lutter contre 50%, et 90% des mouches, respectivement (Tab. 26).

Lorsqu'on applique 300 µg/ml de *P. harmala*, la droite de régression est de la forme :  $Y= 1,93 + 4,69 X$ ,  $R^2= 0,71$  ; ce qui montre qu'il existe une forte corrélation positive entre la mortalité et le temps d'exposition. Pour lutter contre 50% et 90% de notre population, il faut 4,47 et 8,51 jours respectivement (Tab. 26).

En fonction du temps d'exposition des larves, la droite de régression après une exposition de 2 jours des asticots au traitement est de la forme :  $Y= -9,10 + 5,45 X$  et  $R^2= 0,96$ . Pour assurer une mortalité de 50% des insectes, la concentration de *P. harmala* doit être égale à 386,50 µg/ml, par contre 636,77µg/ml assurent la mortalité de 90% des drosophiles (Tab. 26).

Quinze jours après le traitement, la droite de régression est donnée par la formule :  $Y= -5,71 + 6 X$  dont le  $R^2= 0,95$ . Pour tuer 50% de la population étudiée, on applique 61,66 µg/ml de produit. Cependant, une concentration de 100 µg/ml est nécessaire pour tuer 90% de cette dernière (Tab. 26).

**Tableau 26 : Paramètres toxicologiques des graines de *P. harmala***

**A** : en fonction du temps d'exposition des larves / **B** : en fonction de la concentration utilisée

"A"	Concentrations léthales :			
	Droite de regression		CL <sub>50</sub> (µg/ml)	CL <sub>90</sub> (µg/ml)
<b>2j</b>	$Y= -9,10 + 5,45X$	$R^2= 0,96$	386,50	636,77
<b>5j</b>	$Y= -0,85 + 2,39 X$	$R^2= 0,70$	281,84	954,99
<b>10j</b>	$Y= 0,12 + 2,42 X$	$R^2= 0,62$	104,71	354,81
<b>15j</b>	$Y= -5,71 + 6X$	$R^2= 0,95$	61,66	100
"B"	Temps léthaux :			
	Droite de regression		TL <sub>50</sub> (jours)	TL <sub>90</sub> (jours)
<b>50µg/ml</b>	$Y= -1,12 + 5 X$	$R^2= 0,93$	16,60	30,20
<b>200µg/ml</b>	$Y= 2,14 + 5,04 X$	$R^2= 0,92$	3,72	6,61
<b>300µg/ml</b>	$Y= 1,93 + 4,69 X$	$R^2= 0,71$	4,47	8,51

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des concentrations et/ou des temps]

### 3.1.3.2. Impact sur la croissance et la durée de développement :

Nos résultats montrent que le traitement par les différentes concentrations de graines de la plante utilisée affecte le nombre et la durée du développement des différents stades de vie de la mouche (**Tab. 27**).

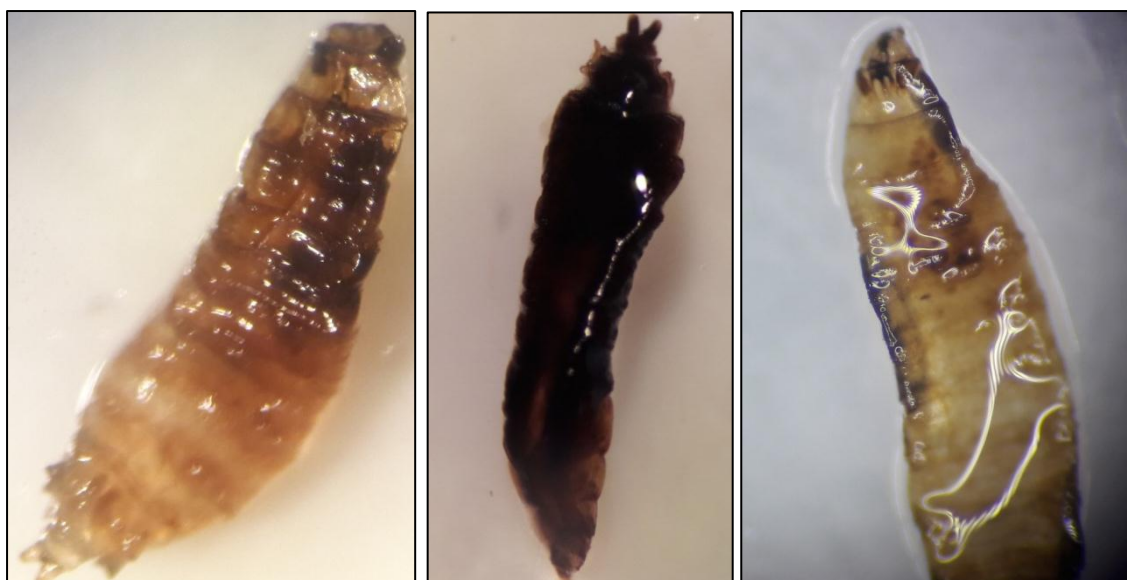
Au bout de 2 jours, les larves témoins présentent un taux de 40%, alors que celle traitées aux 200 µg/ml présentent plus de 77,02% et le taux de pupes ne dépasse pas les 45%. De plus, ce dernier est complètement nul quand on applique 300 µg/ml du produit. Après 5 jours de traitement, toutes les larves deviennent des pupes (100%) (**Tab. 27**). Cependant, plus de 61,81% des traitées au 300 µg/ml n'arrivent pas. Dans le même sens, le taux d'adultes issus des pupes traitées est seulement 59,25% ; plus de 40,74% d'elles n'arrivent pas à subir l'émergence finale même après 15 jours de traitement (**Tab. 27**).

**Tableau 27 : Taux d'individus, par stade, issus des traitements aux graines de *P. harmala***

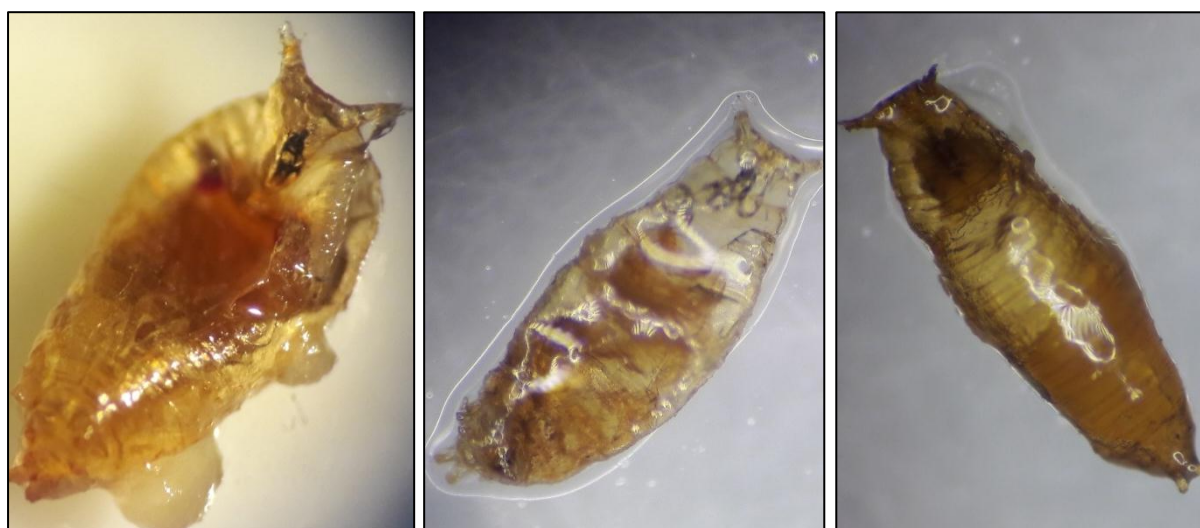
	2j			5j			10j			15j		
	N	L	P	N	L	P	N	L	P	N	L	P
<b>Tm</b>	N=20	L 40%	P 60%	N=20	L 0	P 100%	N=20	L 0	P 0	N=20	L 0	P 0
		A 0			A 0			A 100%			A 100%	
<b>1</b>	N=20	L 32,5%	P 67,5%	N=19,50	L 0	P 86,21%	N=16,75	L 0	P 0	N=14,75	L 0	P 0
		A 0			A 13,79%			A 100%			A 100%	
<b>2</b>	N=18,50	L 77,03%	P 22,97%	N=7,25	L 0	P 100%	N=1,25	L 0	P 0	N=0,00	L -	P -
		A 0			A 0			A 100%			A -	
<b>3</b>	N=19,00	L 100%	P 0	N=13,75	L 61,82%	P 38,18%	N=6,75	L 0	P 40,74%	N=0,00	L -	P -
		A 0			A 0			A 59,26%			A -	

[**Tm** : Témoins ; **1** : 50µg/ml ; **2** : 200µg/ml ; **3** : 300µg/ml ; **N** : Nombre moyen d'individus issus des différents traitements ; **L** : Larve ; **P** : Pupe ; **A** : Adulte]

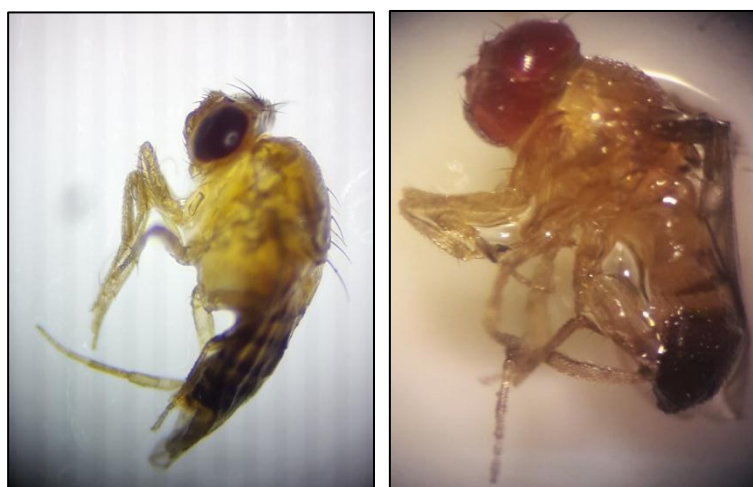
Lors du traitement avec les différentes concentrations d'extrait aqueux de fleurs de *P. harmala*, nous avons enregistré l'apparition des changements de la pigmentation chez les larves, les pupes, ainsi des malformations au niveau des ailes et des pattes des adultes (**Fig. 36**).



(A) Sur les larves du 3<sup>ème</sup> stade



(B) Sur les pupes



(C) Sur les adultes

**Figure 36.** Effet d'extrait aqueux de graines de *P. harmala* sur *D. melanogaster* (x 4,5)  
(Photos originales)

### 3.1.3.3. Effets du traitement par une concentration sublétale (50 µg/ml) sur le comportement de *D. melanogaster* :

#### *Sur le comportement alimentaire des larves du 3<sup>ème</sup> stade :*

L'attractivité alimentaire (olfactive) des larves témoins et traitées, à la décoction des graines de *P. harmala* (50 µg/ml), a été testée envers différentes odeurs utilisées.

#### *Chez les larves témoins :*

En ce qui concerne les larves témoins, les résultats relèvent que seulement 44,83% effectuent son choix au bout de 5 minutes ; où 30,37% ont choisi le milieu témoin et plus de 69,23% le milieu traité au *P. harmala* (**Tab. 28**). Le taux d'attraction augmente après 30 minutes (65,52%), et atteint sa valeur maximale après 60 minutes (79,31%) dont plus de 60,86% préfèrent par l'odeur de produit (**Tab. 28**).

Dans le cas où nous avons testé deux milieux similaires traités, plus de 48,28% des larves sont non attirées au début de test, alors que ce taux diminue progressivement au cours du temps, 13,79% après 60 minutes ( $p = 1$ ). Dans le cas de deux milieux témoins, toutes les larves sont attirées par cette odeur (100%). L'analyse de Monté Carlo montre qu'il existe des différences significatives entre les choix établis dans 2, 5, 15, 30 et 60 minutes (**Tab. 28**).

#### *Chez les larves traitées :*

Les résultats consignés dans le tableau 29 montrent que les graines de *P. harmala* agissent sur l'attraction des larves traitées, puisque seul de 13,79% à 20,68% et de 25,59 à 37,93% détectent l'odeur des papiers imprégnés dans les différents milieux de cultures testés, au bout de 2 et 5 minutes respectivement.

L'analyse de Monté Carlo montre que le choix des larves traitées est aléatoire et ne dépend d'aucun facteur ; il n'existe aucune différence significative entre les choix établis (50% pour chaque milieu), dans 30 et 60 minutes du test (**Tab. 29**).

Tableau 28 : Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)

Dans 2 min :				
Test	A		NA	p
1	17,24%		82,76%	1,00 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	40%	60%		
	<i>p</i> : < 0,781 (NS)			
2	100%		0%	1,00 (S)
3	0%		100%	1,00 (S)
Dans 5 min :				
Test	A		NA	p
1	44,83%		55,17%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	30,37%	69,23%		
	<i>p</i> : < 0,790 (NS)			
2	96,55%		3,45%	1,00 (S)
3	51,72%		48,28%	< 0,904 (NS)
Dans 15 min :				
Test	A		NA	p
1	62,07%		37,93%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	38,89%	61,11%		
	<i>p</i> : < 0,820 (NS)			
2	93,10%		6,70%	1,00 (S)
3	79,31%		20,69%	1,00 (S)
Dans 30 min :				
Test	A		NA	p
1	65,52%		34,48%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	42,11%	57,89%		
	<i>p</i> : < 0,882 (NS)			
2	100%		0%	1,00 (S)
3	86,21%		13,79%	1,00 (S)
Dans 60 min :				
Test	A		NA	p
1	79,31%		20,69%	1,00 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	39,13%	60,87%		
	<i>p</i> : < 0,922 (NS)			
2	96,55%		3,45%	1,00 (S)
3	86,21%		13,79%	1,00 (S)

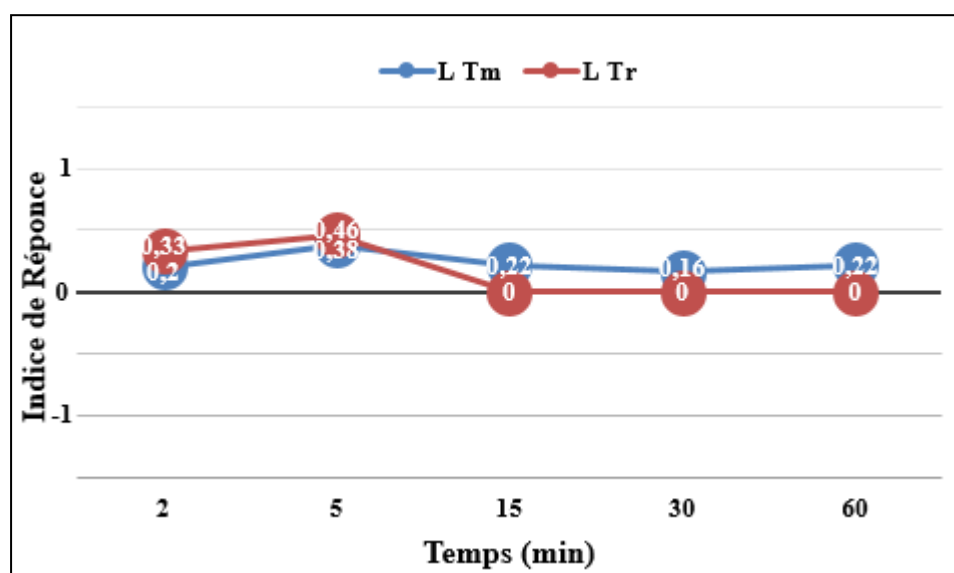
[1 : Milieu témoin vs milieu traité aux graines de *P. harmala* (50µg/ml), 2 : Milieu témoin vs milieu témoin, 3 : Milieu traité vs milieu traité, aux graines de *P. harmala* (50µg/ml), **Tm** : Milieu témoin, **Tr** : Milieu traité, **A** : Attiré, **NA** : Non attiré, **S** : Significatif, **NS** : Non significatif]

**Tableau 29 : Attractivité des larves traitées, à une concentration sublétale des graines de *P. harmala* (50 µg/ml), vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)**

Dans 2 min :				
Test	A		NA	p
1	20,68%		79,31%	1,00 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	33,33%	66,67%		
	<b>p : &lt; 0,867 (NS)</b>			
2	0%		100%	1,00 (S)
3	13,79%		86,2%	1,00 (S)
Dans 5 min :				
Test	A		NA	p
1	37,93%		62,07%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	27,27%	72,73%		
	<b>p : &lt; 0,854 (NS)</b>			
2	25,59%		72,41%	< 0,904 (NS)
3	31,03%		68,97%	1,00 (S)
Dans 15 min :				
Test	A		NA	p
1	62,07%		37,93%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	50%	50%		
	<b>p : &lt; 0,820 (NS)</b>			
2	65,52%		34,48%	< 0,904 (NS)
3	37,93%		62,06%	< 0,904 (NS)
Dans 30 min :				
Test	A		NA	p
1	62,07%		37,93%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	50%	50%		
	<b>p : &lt; 0,820 (NS)</b>			
2	100%		0%	0,964 (S)
3	48,28%		51,72%	< 0,904 (NS)
Dans 60 min :				
Test	A		NA	p
1	62,07%		37,93%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	50%	50%		
	<b>p : &lt; 0,820 (NS)</b>			
2	65,52%		34,48%	0,964 (S)
3	48,28%		51,72%	< 0,904 (NS)

[1 : Milieu témoin vs milieu traité aux graines de *P. harmala* (50µg/ml), 2 : Milieu témoin vs milieu témoin, 3 : Milieu traité vs milieu traité, aux graines de *P. harmala* (50µg/ml), **Tm** : Milieu témoin, **Tr** : Milieu traité, **A** : Attiré, **NA** : Non attiré, **S** : Significatif, **NS** : Non significatif]

La figure 37 présente le calcul de l'indice de réponse des larves lors du test de choix entre deux odeurs différentes (témoin vs traitée). Quelque soient les larves, témoins ou traitées, elle montrent une attraction positive plus ou moins modérée envers l'extrait aqueux des graines de *P. harmala* au cours du temps (Fig. 37). Cependant, la réponse diminue et devient complètement nulle à partir de 15<sup>ème</sup> minute chez celles traitées (Fig. 37).

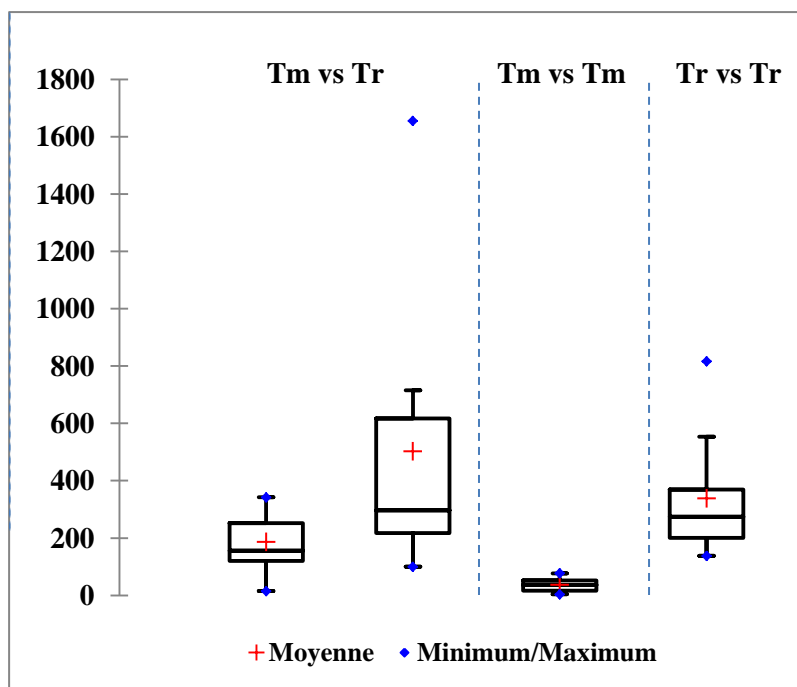


**Figure 37. Indice de réponse (IR) des larves de *D. melanogaster* (témoins et traitées) envers l'extrait aqueux des graines de *P. harmala* (50 µg/ml) dans le test du choix**

[LTm : Larves témoins, LTr : Larves traitées aux graines de *P. harmala* (50µg/ml)]

En exposition de deux milieux similaires, les asticots témoins mettent  $338,45 \pm 42,25$  secondes pour détecter l'odeur du milieu traité avec l'extrait de graines de *P. harmala* (50 µg/ml) et seulement  $37,03 \pm 3,99$  secondes pour le milieu témoin ( $F_{\text{obs}} = 29,31$  ;  $p < 0,0001$ ) (Fig. 38).

Elles mettent sensiblement plus de temps pour effectuer un choix lorsqu'il s'agit de deux milieux différents ;  $186,92 \pm 28,61$  secondes pour le témoin et  $503,13 \pm 180,88$  secondes pour le traité. Il ressort qu'il existe de différences très hautement significatives entre les variances au seuil de signification  $\alpha = 0,05$  ( $F_{\text{obs}} = 24,59$  ;  $p < 0,0001$ ) (Tab. 38).

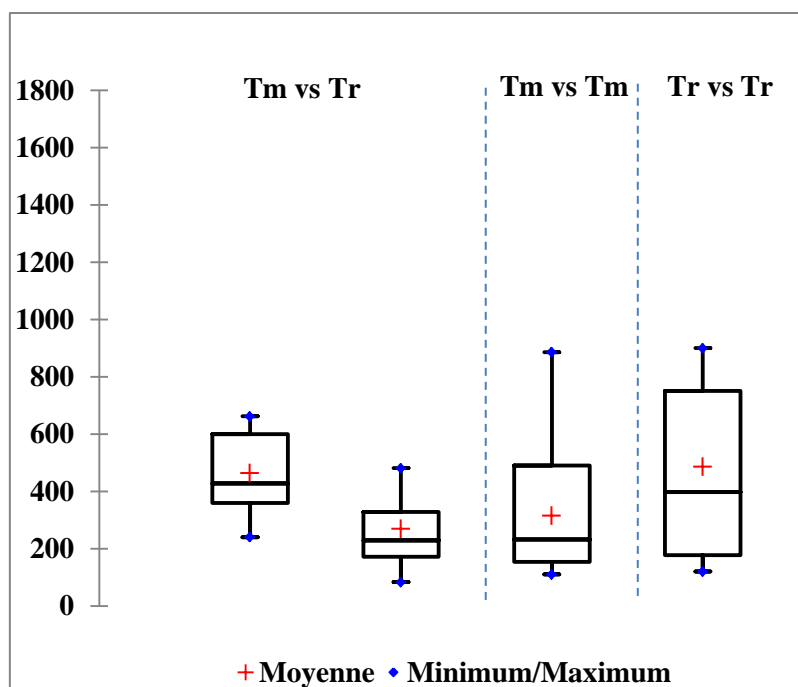


**Figure 38. Temps de détection (en secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs testées (n=30)**

[*Tm* : Milieu témoin, *Tr* : Milieu traité aux graines de *P. harmala* (50µg/ml)]

Il semble que les larves traitées mettent plus de temps pour détecter les différentes odeurs testées. Elles prennent en moyenne de  $269,56 \pm 43,02$  à  $485,77 \pm 86,77$  secondes pour localiser les papiers imbibés dans les milieux traités avec l'extrait de *P. harmala* (50 µg/ml), et de  $314,95 \pm 46,91$  à  $464,29 \pm 59,63$  secondes pour les milieux témoins (**Fig. 39**). L'analyse des variances montrent qu'il existe des différences très hautement significatives au seuil de signification  $\alpha = 0,05$  ( $F_{\text{obs}} = 8,10$  ;  $p = 0,0002$ ) (**Fig. 39**).





**Figure 39.** Temps de détection (en secondes) des larves traitées, à une concentration sublétales des graines de *P. harmala* (50 µg/ml), en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [*Tm* : Milieu témoin, *Tr* : Milieu traité aux graines de *P. harmala* (50µg/ml)]

#### *Sur le comportement sexuel :*

Nos résultats indiquent que les graines de *P. harmala* agissent sur l'ensemble des séquences stéréotypiques de l'accouplement chez la drosophile.

Sauf le contact ; où tous les mâles ont pu localiser leurs femelles (100%), les vibrations alliaires varient entre 66,66 et 73% dans les croisements où le mâle est traité (**Tab. 30**). De plus, 63,33 à 70% de ces derniers lèchent les plaques génitales des femelles, alors que tous les témoins réalisent cet acte (100%). Plus de 50% des mâles traités, où les deux partenaires sont traités, n'ont pas pu tenter à s'accrocher la femelle et à s'accoupler menant à un taux d'avortement égal à 86,67% (**Tab. 30**).

**Tableau 30 : Effet d'une concentration sublétales des graines de *P. harmala* (50 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez *D. melanogaster*, (n=30)**

	Contacts	Vibrations	Léchages	Tentatives	Accouplement réussi
♂Tm x ♀Tm	100	100	100	96,66	90
♂Tm x ♀Tr	100	96,66	96,66	66,66	13,33
♂Tr x ♀Tm	100	66,66	63,33	60	23,33
♂Tr x ♀Tr	100	73	70	50	13,33

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

À l'issu des tests effectués sur le comportement sexuel des drosophiles exposées à la décoction des graines de *P. harmala* (50 µg/ml), on note des séquences pré-copulatoires différentes de celles observées habituellement selon le croisement effectué (**Tab. 31**).

Lorsque un des deux individus ou tous les deux sont traités, le temps maximal pour qu'un mâle reconnaisse une femelle et effectue le premier contact est de 111,13 à 132,46 secondes, ce qui est estimé très élevé comparé au croisement d'individus sains (32,7 secondes seulement). Le nombre d'attouchement diffère aussi selon les insectes testés ( $F_{\text{obs}} = 5,93$  ;  $p = 0,001$ ) (**Tab. 31**).

De plus, les temps moyens de parades, de léchages et de tentatives d'accouplement enregistrés semblent trop lents et le nombre de chaque acte est insuffisant pour que les accouplements se réalisent. Malgré les essais établis par les mâles, les femelles ne démontrent aucune réceptivité envers eux (**Tab. 31**).

Par conséquent, la latence d'accouplement augmente chez les couples, où au moins un des deux individus ou tous les deux sont traités, allant de  $482,5 \pm 131,26$  secondes jusqu'à  $1042 \pm 172,02$  secondes comparativement aux  $515,93 \pm 51,03$  secondes chez les témoins. En outre, ces derniers présentent une durée d'accouplement très restreinte par rapport au témoin (**Tab. 31**).

**Tableau 31 : Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>a</b>	32,7 ± 5,49	132,46±16,76	112,16 ± 15,21	111,13 ± 18,72	<b>5,93</b>	<b>0,001**</b>
<b>b</b>	9,33 ± 0,90	8,03 ± 0,72	3,56 ± 0,23	7,9 ± 0,60	<b>14,50</b>	<b>0,0001***</b>
<b>c</b>	318,07 ± 58,34	375 ± 37,09	264,4 ± 58,34	410,13 ± 83,49	<b>1,61</b>	<b>0,19</b>
<b>d</b>	19,42 ± 2,85	6,48 ± 0,88	12,15 ± 1,89	10,35 ± 1,97	<b>11,89</b>	<b>0,0001***</b>
<b>e</b>	307,87 ± 54,48	520,82±62,35	275,65 ± 60,29	438,95 ± 63,86	<b>0,60</b>	<b>0,61</b>
<b>f</b>	11,60 ± 1,22	7,68 ± 0,95	11,7 ± 1,68	8,35 ± 1,34	<b>0,95</b>	<b>0,42</b>
<b>g</b>	535 ± 70,43	724,9±107,78	481,47 ± 88,76	671,53 ± 93,07	<b>0,05</b>	<b>0,98</b>
<b>h</b>	6,59 ± 0,93	5,80 ± 0,45	5,77 ± 1,22	7,47 ± 1,39	<b>3,73</b>	<b>0,02*</b>
<b>i</b>	515,93 ± 51,03	482,5±131,26	826,71±132,12	1042 ± 172,02	<b>0,58</b>	<b>0,63</b>
<b>j</b>	1207,92± 63,07	1288±197,55	985,57±99,37	744 ± 215,44	<b>0,77</b>	<b>0,51</b>

[**a**, Temps de 1<sup>er</sup> contact ; **b**, Nombre de contacts ; **c**, Temps de 1<sup>ère</sup> vibration ; **d**, Nombre de vibrations ; **e**, Temps de 1<sup>er</sup> léchage ; **f**, Nombre de léchages ; **g**, Temps de 1<sup>ère</sup> tentative ; **h**, Nombre de tentatives ; **i**, Latence d'accouplement ; **j**, Durée d'accouplement ; ♂, Mâle ; ♀, Femelle ; **Tm**, Témoin ; **Tr**, Traité ; **Moy**, Moyenne ; **SEM**, Ecart type de la moyenne ; \*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

#### **Sur le comportement d'oviposition :**

Le tableau 32 présente l'attractivité des femelles fécondées (qui ont subi un accouplement réussi) dans le choix du site de ponte. Il semble que les femelles témoins (n= 27) déposent leurs œufs dans les deux milieux testés ; 85,19% sont attirées par le milieu témoins ( $p = 1$ ) et 77,78% par le milieu traité au harmel ( $p = 0,995$ ) (**Tab. 32**).

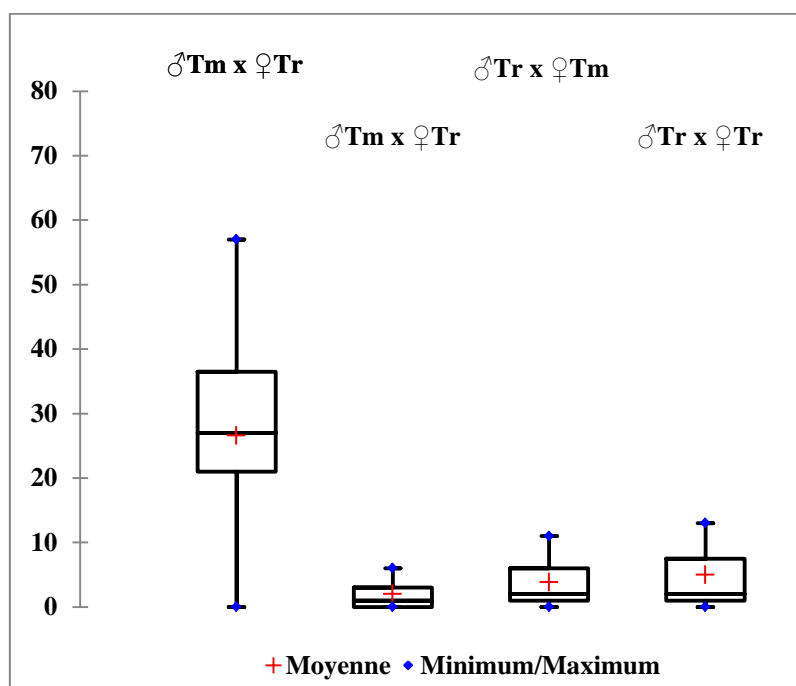
Les sept femelles témoins (couplées avec les mâles traités) sont aussi attirées par les deux milieux (85,71% par milieu témoin) et (100% par le milieu traité). Dans les croisements où les femelles sont traitées, il n'existe pas des différences significatives entre les choix établis (**Tab. 32**).

**Tableau 32 : Effet d'une concentration sublétales des graines de *P. harmala* (50µg/ml) sur le choix du site de ponte chez *D. melanogaster***

	N	Milieu Témoin			Milieu Traité		
		A	NA	<i>p</i>	A	NA	<i>p</i>
♂Tm x ♀Tm	27	85,19%	14,81%	<b>1,000 (S)</b>	77,78%	22,22%	<b>0,995 (S)</b>
♂Tm x ♀Tr	3	66,67%	33,33%	< <b>0,885 (NS)</b>	100%	0%	< <b>0,885 (NS)</b>
♂Tr x ♀Tm	7	85,71%	14,29%	< <b>0,929 (NS)</b>	100%	0%	<b>0,992 (S)</b>
♂Tr x ♀Tr	3	66,67%	33,33%	< <b>0,885 (NS)</b>	100%	0%	< <b>0,885 (NS)</b>

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; A, attiré ; N, Non attiré ; S, Signification ; NS, Non signification]

Sur le milieu non traité, nous avons enregistré une préférence nette chez les femelles témoins,  $26,55 \pm 2,91$  œufs, avec un maximum de 57. En revanche, le nombre d'œufs pondus par les femelles traitées varie entre  $2 \pm 1,41$  à  $5 \pm 4,04$  œufs seulement. Au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , l'analyse des variances montrent qu'il existe des différences très hautement significatives ( $F_{obs} = 2,79$  ;  $p = 0,05$ ) (**Fig. 40**).

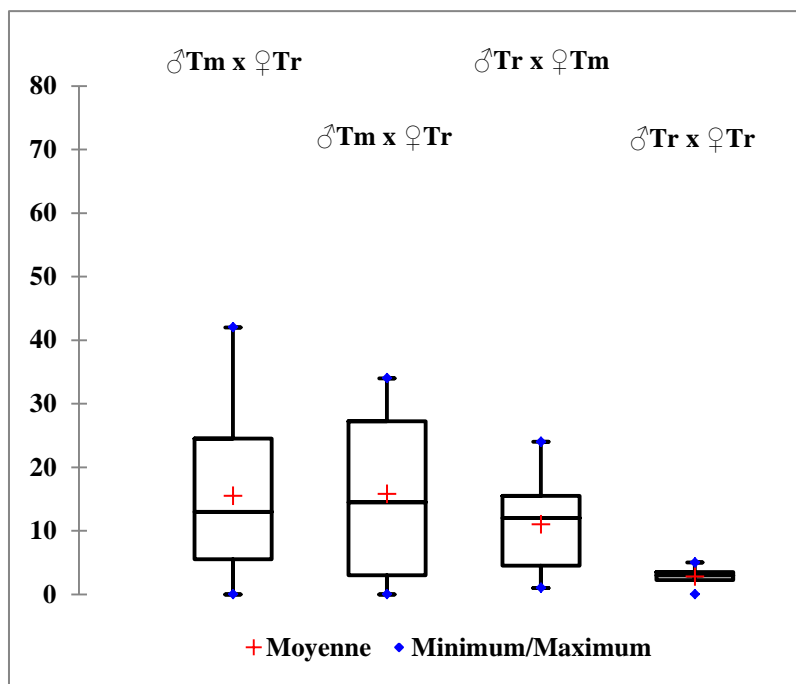


**Figure 40. Nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin**

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Un faible IPO négative a été enregistré chez les couples témoins (-0,26) et les traités (-0,29) (**tab. 33**). Cependant les résultats montrent une attraction appréciable sur le milieu traité et ce pour tous les insectes testés (quatre croisements) ; le nombre d'œufs pondus varie

entre  $2,75 \pm 1,03$  et  $15,75 \pm 8,19$  œufs. L'analyse des variances montrent qu'il existe des différences très hautement significatives ( $F_{\text{obs}} = 3,80 ; p = 0,02$ ) (**Fig. 41**).



**Figure 41.** Nombre d'œufs pondus dans le milieu traité aux graines de *P. harmala* ( $50\mu\text{g/ml}$ ) [♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

**Tableau 33 :** Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* en présence d'extrait des graines de *P. harmala* ( $50\mu\text{g/ml}$ )

Couple :	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr
IPO	-0,26	+0,77	+0,48	-0,29

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Les 27 femelles témoins pondent  $42,04 \pm 2,51$  œufs en moyenne, avec un minimum de 20 et un maximum de 69, tandis que ceux déposés par les traitées est de  $8,67 \pm 3,67$  œufs dont le maximum est de 16 œufs (**Tab. 34**). Dans les croisements, où un des deux partenaires ou tous les deux sont traités, le nombre total d'œufs pondus varie entre 26 et 104 œufs seulement, alors qu'il dépasse 1135 œufs chez les couples témoins. L'analyse de variance montre qu'il n'existe pas de différences significatives, au seuil  $\alpha = 0,05$  ( $F_{\text{obs}} = 6,58 ; p = 0,05$ ) (**Tab. 34**).

**Tableau 34 : Effet des graines de *P. harmala* (50 µg/ml) sur le nombre total d'œufs pondus selon le type de croisement effectué**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>N</b>	27	3	7	3	<b>1,51</b>	<b>0,22</b>
<b>Moy ± SEM</b>	42,04 ± 2,51	20,67 ± 2,85	14,86 ± 4,53	8,67 ± 3,67		
<b>Min – Max</b>	(20 - 69)	(15 - 24)	(2 - 35)	(5 - 16)		
<b>Total</b>	1135	62	104	26		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; Moy, Moyenne ; SEM, Ecart type de la moyenne ; Min, Minimum ; Max, Maximum]

### 3.1.4. Effets d'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum* sur la drosophile :

#### 3.1.4.1. Essai insecticide à l'égard des larves du 2<sup>ème</sup> stade :

Les larves de *D. melanogaster* sont aussi sensibles à l'extrait foliaire de *D. gniduum*. L'exposition aux 100 et 300 µg/ml de produit, pendant 15 jours, induit des taux de mortalité qui ne dépassent pas les 3,33% et 11,25%, respectivement (**Tab. 35**). Cependant, la concentration de 1000 µg/ml présente une toxicité appréciable sur les larves. Elles ont succombé au traitement dès le 2<sup>ème</sup> jour ; le taux de mortalité minimum observé est de 6,25% et le taux maximum est d'environ 31,25%. Au seuil de significativité  $\alpha = 0,05$ , l'analyse des variances montre qu'il n'existe pas des différences significatives entre la mortalité enregistrée pour les trois concentrations au bout de 15 jours ( $F_{obs} = 2,74$  ;  $p = 0,12$ ) (**Tab. 35**).

**Tableau 35 : Mortalité corrigée chez les larves de *D. melanogaster* traitées par l'extrait aqueux de feuilles de *D. gniduum***

	2j	5j	10j	15j	F <sub>obs</sub>	p
<b>100µg/ml</b>	0%	0%	3,75%	5%	<b>9</b>	<b>0,002**</b>
<b>300µg/ml</b>	2,50%	6,25%	8,75%	11,25%	<b>0,87</b>	<b>0,48</b>
<b>1000µg/ml</b>	6,25%	7,50%	15%	31,25%	<b>1,18</b>	<b>0,36</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>6,72</b>	<b>3,26</b>	<b>1,23</b>	<b>2,74</b>		
<b>p</b>	<b>0,02*</b>	<b>0,07</b>	<b>0,34</b>	<b>0,12</b>		

[\*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif]

Les résultats consignés dans le tableau 36 résument les différents paramètres toxicologiques d'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum*. Ces derniers montrent qu'il y a une forte corrélation entre le taux de mortalité et le temps d'exposition des mouches à différentes concentrations de produit (le coefficient de corrélation « R<sup>2</sup> » est de 0,82 à 0,98) (**Tab. 36**).

Les concentrations létales obtenues, 2, 5, 10 et 15 jours après traitement, sont respectivement, de  $2,04 \cdot 10^3$ ,  $1,78 \cdot 10^3$ ,  $2,24 \cdot 10^4$  et  $2,95 \cdot 10^3$   $\mu\text{g/ml}$  pour la CL50 et  $4,90 \cdot 10^3$ ,  $4,07 \cdot 10^3$ ,  $1,12 \cdot 10^6$  et  $3,80 \cdot 10^4$   $\mu\text{g/ml}$  pour la CL90 (**Tab. 36**). Les temps létaux, pour les différentes concentrations testées, sont respectivement présentés par les droites de régressions suivantes :  $Y = -1,86 + 4,42 X$  ;  $Y = 2,82 + 0,83 X$  et  $Y = 2,98 + 1,12 X$  ( $R^2 = 0,80$  à  $0,98$ ) (**Tab. 36**).

**Tableau 36 : Paramètres toxicologiques des feuilles de *D. gniduum***

**A** : en fonction du temps d'exposition des larves / **B** : en fonction de la concentration utilisée

"A"	Concentrations léthales :			
	Droite de regression		CL <sub>50</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )	CL <sub>90</sub> ( $\mu\text{g/ml}$ )
<b>2j</b>	$Y = -6,37 + 3,43 X$	$R^2 = 0,82$	$2,04 \cdot 10^3$	$4,90 \cdot 10^3$
<b>5j</b>	$Y = -6,40 + 3,51 X$	$R^2 = 0,75$	$1,78 \cdot 10^3$	$4,07 \cdot 10^3$
<b>10j</b>	$Y = 1,74 + 0,75 X$	$R^2 = 0,99$	$2,24 \cdot 10^4$	$1,12 \cdot 10^6$
<b>15j</b>	$Y = 1,01 + 1,15 X$	$R^2 = 0,98$	$2,95 \cdot 10^3$	$3,80 \cdot 10^4$
"B"	Temps léthaux :			
	Droite de regression		TL <sub>50</sub> (jours)	TL <sub>90</sub> (jours)
<b>100<math>\mu\text{g/ml}</math></b>	$Y = -1,86 + 4,42 X$	$R^2 = 0,80$	35,48	69,18
<b>300<math>\mu\text{g/ml}</math></b>	$Y = 2,82 + 0,83 X$	$R^2 = 0,98$	426,58	14791,08
<b>1000<math>\mu\text{g/ml}</math></b>	$Y = 2,98 + 1,12 X$	$R^2 = 0,81$	79,43	2238,72

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des concentrations et/ou des temps]

### 3.1.4.2. Impact sur la croissance et la durée de développement :

Nos observations montrent que l'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum* provoque un retard de développement important chez les sujets traités (**Tab. 37**).

Après 2 jours, le pourcentage de pupes issues du traitement ne dépasse pas 32,05% dans les meilleurs des cas, en comparant avec 60% des témoins. Seuls 56,16 % à 63,64 % d'elles se développent en adultes au bout 10 jours (**Tab. 37**). Un blocage complet de mue a été enregistré chez les larves (3,77 à 4,23%) et les pupes (14,08 à 22,64%) pour les fortes concentrations ; ces taux se sont stabilisés à la fin de l'essai (**Tab. 37**).

**Tableau 37 : Taux d'individus, par stade, du issus des traitements aux feuilles de *D. gniduum***

Tm	2j			5j			10j			15j		
	N	L	P	N	L	P	N	L	P	N	L	P
	N=30	40%	60%	N=30	0	100%	N=30	0	100%	N=30	0	100%
		A	0		A	0		A	100%		A	100%
1	N=30	70	30	N=30	1,10	78,90	N=29,33	0	0	N=29	0	0
		A	0		A	20		A	100%		A	100%
2	N=19,50	67,95	32,05	N=19	11,84	88,16	N=18,25	6,85	36,99	N=17,75	4,23	14,08
		A	0		A	0		A	56,16		A	81,69
3	N=18,75	97,33	2,67	N=18,50	9,46	90,54	N=16,50	6,06	30,3	N=13,25	3,77	22,64
		A	0		A	0		A	63,64		A	73,59

[Tm : Témoins ; 1 : 100µg/ml ; 2 : 300µg/ml ; 3 : 1000µg/ml ; N : Nombre moyen d'individus issus des différents traitements ; L : Larve ; P : Puce ; A : Adulte]

Nous avons également enregistré des malformations dans les différents stades de la mouche suivant au traitement avec l'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum* (Fig. 42).



**Figure 42. Effet d'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum* sur *D. melanogaster* (x 4,5)**  
(Photos originales)



### 3.1.4.3. Effets du traitement par une concentration sublétale (300 µg/ml) sur le comportement de *D. melanogaster* :

#### *Sur le comportement alimentaire des larves du 3<sup>ème</sup> stade :*

Le comportement alimentaire des larves témoins et traitées, par une concentration sublétale d'extrait foliaire de *D. gniduum* (300 µg/ml), vis-à-vis des différentes odeurs a été étudié sur un échantillon de 30 individus.

#### *Chez les larves témoins :*

À l'exposition de deux milieux témoins, toutes les larves sont attirées seulement dans 2 minutes ( $p = 1$ ). En revanche, les deux milieux traités sont significativement répulsifs pour les dernières ; leur taux d'attractivité ne dépasse pas les 3,45% (seulement 34,48% après 60 minutes) (**Tab. 38**).

Dans le test de choix (témoin vs traité), peu de larves montrent des réponses marquées au bout de 2 minutes (41,38 %), d'où l'absence de significativité. Cependant, on peut remarquer qu'elles continuent à distinguer clairement les 2 types d'odeurs. Les larves sont donc significativement attirées par l'odeur de milieu témoin et repoussées par l'odeur de milieu traité à la concentration sublétale de feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml) (**Tab. 38**).

#### *Chez les larves traitées :*

Il ressorts des résultats présentés dans le tableau 39, que les feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml), agit sur le taux d'attraction des larves traitées (ayant exposées à la même concentration sublétale, 300 µg/ml) (**Tab. 39**).

À 2 et 5 minutes, plus de 89,66 à 100% et de 62,07 à 89,66% des larves ne sont pas attirées à n'importe quel milieu (test 1, 2 et 3) (**Tab. 39**).

Lorsqu'elles sont en présence de deux milieux différents (témoin vs traité), elles présentent une activité un peu plus élevée à 15 minutes, qui devient également stable par la suite à la fin de test. Cependant, ces dernières ne montrent pas toujours un choix préférentiel. Enfin, les milieux traités n'induisent aucune réponse significative quelque soit le test ; étant significativement les moins attractifs (**Tab. 39**).

Tableau 38 : Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)

Dans 2 min :				
Test	A		NA	p
1	41,38 %		58,62%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	100%	0%		
<i>p</i> : 1,00 (S)				
2	100%		0%	1,00 (S)
3	3,45%		96,55%	1,00 (S)
Dans 5 min :				
Test	A		NA	p
1	75,86%		24,14%	0,992 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	63,64%	36,36%		
<i>p</i> : < 0,900 (NS)				
2	96,55%		3,45%	1,00 (S)
3	17,24%		82,76%	1,00 (S)
Dans 15 min :				
Test	A		NA	p
1	89,66%		10,34%	1,00 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	57,69%	42,31%		
<i>p</i> : < 0,922 (NS)				
2	93,10%		6,70%	1,00 (S)
3	37,93%		62,07%	< 0,904 (NS)
Dans 30 min :				
Test	A		NA	p
1	89,66 %		10,34%	1,00 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	53,85%	46,15%		
<i>p</i> : < 0,922 (NS)				
2	100%		0%	1,00 (S)
3	41,38%		58,62%	< 0,904 (NS)
Dans 60 min :				
Test	A		NA	p
1	89,66 %		10,34%	1,00 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	53,85%	46,15%		
<i>p</i> : < 0,922 (NS)				
2	96,55%		3,45%	1,00 (S)
3	34,48%		65,52%	< 0,904 (NS)

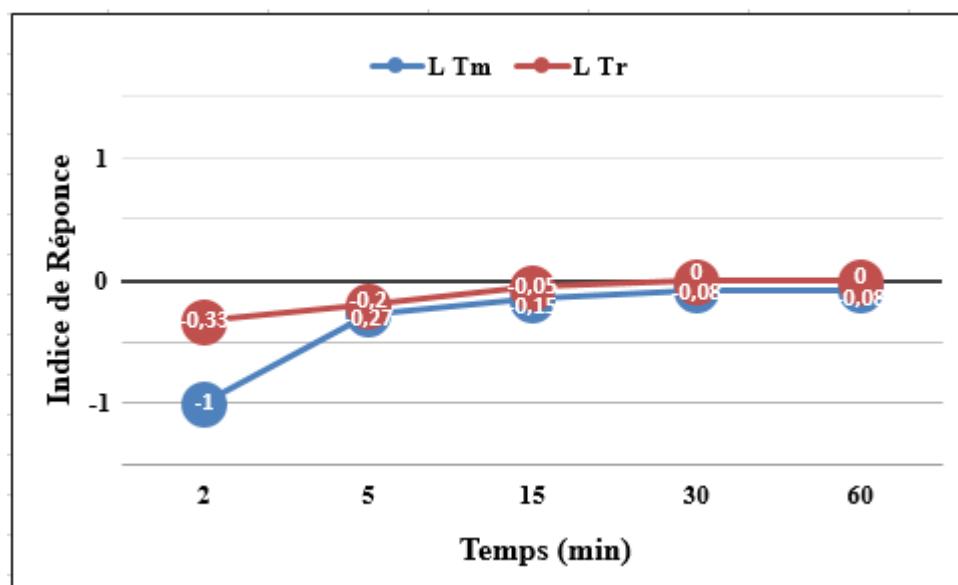
[1 : Milieu témoin vs milieu traité aux feuilles de *D. gniduum* (300µg/ml), 2 : Milieu témoin vs milieu témoin, 3 : Milieu traité au *D. gniduum* vs milieu traité aux feuilles de *D. gniduum* (300µg/ml), **Tm** : Milieu témoin, **Tr** : Milieu traité, **A** : Attré, **NA** : Non attré, **S** : Significatif, **NS** : Non significatif]

**Tableau 39 : Attractivité des larves traitées, à une concentration sublétale des feuilles de *D. gniduim* (300 µg/ml), vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)**

Dans 2 min :				
Test	A		NA	p
1	10,34 %		89,66%	1,00 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	66,67%	33,33%		
	<i>p</i> : < 0,885 (NS)			
2	3,45%		96,5%	1,00 (S)
3	0%		100%	1,00 (S)
Dans 5 min :				
Test	A		NA	p
1	34,48%		65,52%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	60%	40%		
	<i>p</i> : < 0,752 (NS)			
2	37,93%		62,07%	< 0,904 (NS)
3	10,34%		89,66%	1,00 (S)
Dans 15 min :				
Test	A		NA	p
1	65,52 %		34,48%	< 0,904 (NS)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	52,63%	47,37%		
	<i>p</i> : < 0,882 (NS)			
2	65,52%		34,48%	1,00 (S)
3	2,69%		97,31%	< 0,904 (NS)
Dans 30 min :				
Test	A		NA	p
1	68,97%		31,03%	0,964 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	50%	50%		
	<i>p</i> : < 0,930 (NS)			
2	79,31%		20,69%	1,00 (S)
3	17,24%		82,76%	1,00 (S)
Dans 60 min :				
Test	A		NA	p
1	68,97%		31,03%	0,964 (S)
	<b>Tm</b>	<b>Tm</b>		
	50%	50%		
	<i>p</i> : < 0,930 (NS)			
2	82,76%		17,24%	1,00 (S)
3	17,24%		82,76%	1,00 (S)

[1 : Milieu témoin vs milieu traité aux feuilles de *D. gniduim* (300µg/ml), 2 : Milieu témoin vs milieu témoin, 3 : Milieu traité au *D. gniduim* vs milieu traité aux feuilles de *D. gniduim* (300µg/ml), **Tm** : Milieu témoin, **Tr** : Milieu traité, **A** : Attiré, **NA** : Non attiré, **S** : Significatif, **NS** : Non significatif]

D'après l'indice de réponse (IR), une aversion importante a été enregistrée chez les larves témoins envers l'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml) au bout de 2 minutes (IR= 1) (**Fig. 43**). De plus, les larves traitées présentent une faible réaction négative envers la même odeur. Ces réactions (des témoins ou traitées) diminuent progressivement jusqu'elles deviennent nulles à la fin de test (**Fig. 43**).

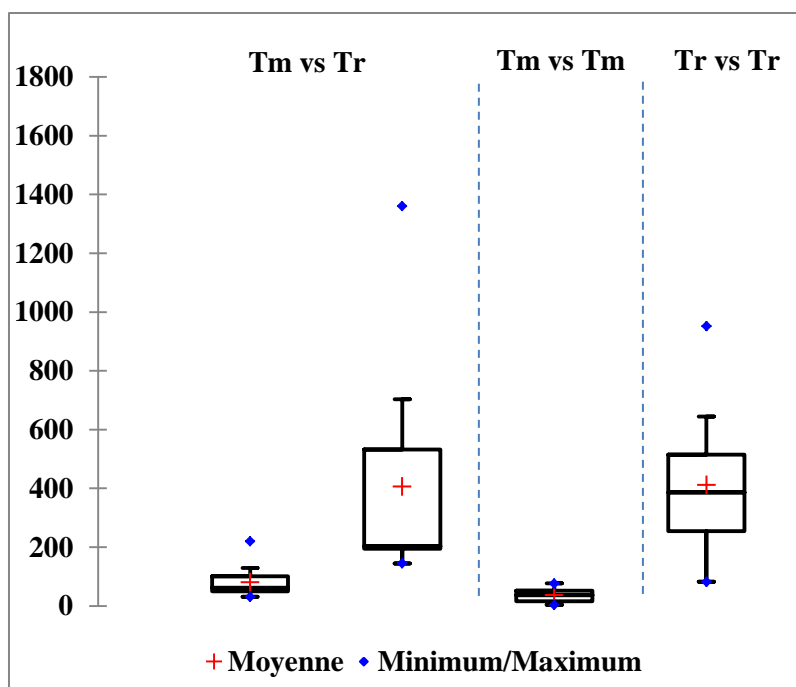


**Figure 43. Indice de réponse (IR) des larves de *D. melanogaster* (témoins et traitées) envers l'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml) dans le test du choix**

[*LTm* : Larves témoins, *LTr* : Larves traitées aux feuilles de *D. gniduum* (300µg/ml)]

Quand les larves sont confrontées à deux milieux différents (témoin vs traité), elles passent plus de temps pour localiser le papier imprégné dans le milieu de culture témoin que celui imprégné dans le milieu traité aux feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml), avec  $80,80 \pm 12,74$  et  $406,09 \pm 111,27$  secondes respectivement ( $F_{\text{obs}} = 15,52$  ;  $p = 0,0006$ ) (**Fig. 44**).

Quand il s'agit de deux milieux similaires témoins, elles mettent donc moins de temps pour localiser la source odorante, de  $37,03 \pm 59,57$  secondes, avec un minimum de 4 et un maximum de 77 et ce par rapport au temps passé en présence de deux milieux traité  $411,92 \pm 59,57$  secondes (**Fig. 44**). L'analyse des variances montrent qu'il existe des différences très hautement significative, au seuil de signification  $\alpha = 0,05$  ( $F_{\text{obs}} = 34,94$  ;  $p < 0,0001$ ) (**Fig. 44**).

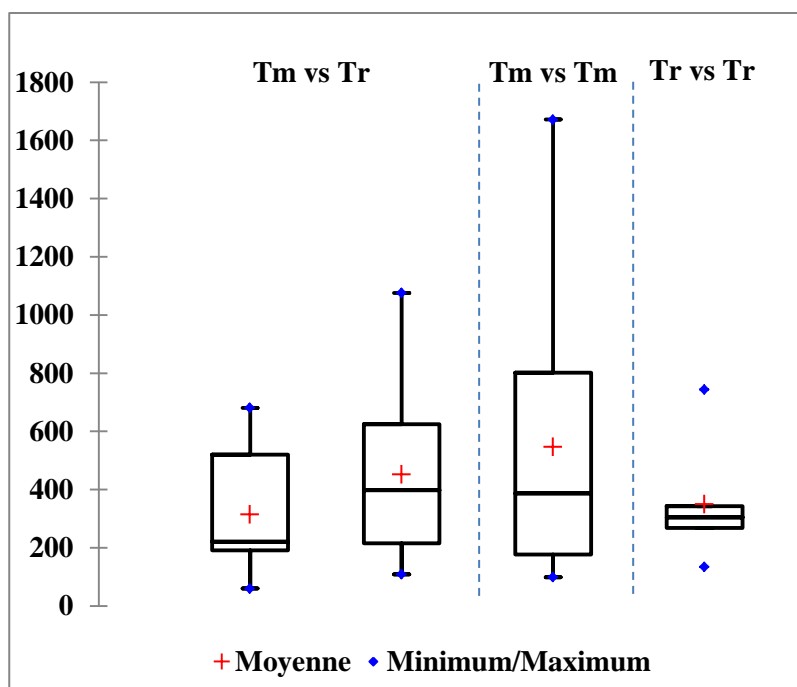


**Figure 44. Temps de détection (en secondes) des larves témoins en réponse aux différentes odeurs testées (n=30)**

[*Tm* : Milieu témoin, *Tr* : Milieu traité aux feuilles de *D. gniduum* (300µg/ml)]

En ce qui concerne les larves traitées, les temps de détection enregistrés sont de  $314,89 \pm 75,94$  secondes et de  $452,72 \pm 90,82$  secondes pour le milieu témoin et celui traité aux feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml). L'analyse des variances montrent qu'il n'existe pas des différences significatives, au seuil de signification  $\alpha = 0,05$  ( $F_{\text{obs}} = 0,92$  ;  $p = 0,35$ ) (**Fig. 45**).

Les insectes arrivent plus lent au contact du papier dans le cas des deux milieux témoin vs témoin par rapport aux traité vs traité, respectivement sont :  $546,64 \pm 98,93$  et  $349,83 \pm 84,66$  secondes avec une  $F_{\text{obs}} = 4,27$  et  $p = 0,05$  (**Fig. 45**).



**Figure 45. Temps de détection (en secondes) des larves traitées, à une concentration sublétales des feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml), en réponse aux différentes odeurs testées (n=30)**

[*Tm* : Milieu témoin, *Tr* : Milieu traité aux feuilles de *D. gniduum* (300µg/ml)]

#### ***Sur le comportement sexuel :***

Les séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez les adultes de *D. melanogaster* sont altérées sous l'effet d'une concentration sublétales des feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml) (**Tab. 40**).

Les mâles sains reconnaissent, s'orientent, paradent et procèdent à des tentatives d'accouplement avec les femelles saines dans les 30 couples testés et plus de 86,67% aboutissent à des accouplements réussis (**Tab. 40**). En revanche, les croisements où un des deux individus ou tous les deux sont traités présentent une diminution relative au pourcentage de chaque acte. En effet, le taux d'avortement peut atteindre de 63,33 jusqu'à 86,67% (**Tab. 40**).

**Tableau 40 : Effet d'une concentration sublétale des feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez *D. melanogaster*, (n=30)**

	Contacts	Vibrations	Léchages	Tentatives	Accouplement réussi
♂Tm x ♀Tm	100	100	86,67	86,67	86,67
♂Tm x ♀Tr	100	73,33	43,33	43,33	20
♂Tr x ♀Tm	100	73,33	56,67	40	36,67
♂Tr x ♀Tr	100	50	16,67	13,33	13,33

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Les résultats affichés dans le tableau 41, représentent des variations de moyenne des différentes étapes du comportement sexuel de *D. melanogaster* traitée aux feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml) selon 4 types de croisements.

Le temps moyen enregistré par les mâles qu'ils soient sains ou traités pour aboutir au premier contact des femelles saines ou traitées est très lent allant jusqu'à  $122,3 \pm 16,87$  secondes comparé à seulement  $5,4 \pm 0,86$  secondes lorsqu'on croise des individus sains entre eux ( $F_{\text{obs}} = 6,21$  ;  $p = 0,001$ ) (**Tab. 41**). Le nombre moyen d'attouchements diffère selon le sujet traité, en effet  $4,67 \pm 0,63$  à  $5,3 \pm 3,66$  de contact enregistré est très infime pour qu'un accouplement se réalise (**Tab. 41**).

De plus, le temps moyen du premier chant, premier léchage et celui de tentative d'accouplement, demeurent aussi très élevés en comparaison avec ceux des adultes témoins. Cependant, ses vibrations ailières se répètent seulement 4,73 à 6,64 fois ( $F_{\text{obs}} = 17,73$  ;  $p < 0,0001$ ) (**Tab. 41**). De même, Le nombre moyen de léchages et celui de tentatives d'accouplement sont moins importants comparativement aux couples témoins. Au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , l'analyse des variances montre qu'il existe toujours des différences très hautement significatives (**Tab. 41**).

En effet, la latence d'accouplement est assez élevée et atteindre jusqu'à  $900,67 \pm 231,27$  secondes ( $F_{\text{obs}} = 4,98$  et  $p = 0,005$ ) (**Tab. 41**). Cependant, il n'existe pas des différences significatives entre les durées moyennes que prennent les adultes pour aboutir à des accouplements réussis (**Tab. 41**).

**Tableau 41 : Effet du traitement sur le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>a</b>	5,4 ± 0,86	117,27 ± 28,18	88,33 ± 10,94	122,3 ± 16,87	<b>6,21</b>	<b>0,001**</b>
<b>b</b>	10,03 ± 1,08	4,67 ± 0,63	5,3 ± 3,66	5,13 ± 0,64	<b>10,59</b>	<b>0,0001***</b>
<b>c</b>	36,53 ± 2,59	344,45 ± 50,24	313,95 ± 58,50	502 ± 136,34	<b>24,43</b>	<b>0,0001***</b>
<b>d</b>	11,07 ± 0,82	6,64 ± 0,92	5,82 ± 0,98	4,73 ± 0,84	<b>0,56</b>	<b>0,64</b>
<b>e</b>	64,54 ± 11,34	342,08 ± 81,47	361,65 ± 67,24	208,4 ± 23,06	<b>7,91</b>	<b>0,0001***</b>
<b>f</b>	3,88 ± 0,48	4,54 ± 0,90	2,82 ± 0,58	2,4 ± 0,4	<b>3,22</b>	<b>0,03*</b>
<b>g</b>	192,69 ± 34,70	528,46 ± 97,41	395,58 ± 73,83	625,75 ± 174,39	<b>1,23</b>	<b>0,31</b>
<b>h</b>	4,08 ± 0,44	4,07 ± 0,96	2 ± 0,35	1,5 ± 0,5	<b>8,24</b>	<b>0,0001***</b>
<b>i</b>	653,58 ± 69,11	900,67 ± 231,27	423,45 ± 53,59	643 ± 174,98	<b>4,98</b>	<b>0,005**</b>
<b>j</b>	1143,04 ± 88,08	1321 ± 105,51	1180,55 ± 57,86	1163 ± 84,78	<b>1,98</b>	<b>0,13</b>

[**a**, Temps de 1<sup>er</sup> contact ; **b**, Nombre de contacts ; **c**, Temps de 1<sup>ère</sup> vibration ; **d**, Nombre de vibrations ; **e**, Temps de 1<sup>er</sup> léchage ; **f**, Nombre de léchages ; **g**, Temps de 1<sup>ère</sup> tentative ; **h**, Nombre de tentatives ; **i**, Latence d'accouplement ; **j**, Durée d'accouplement ; ♂, Mâle ; ♀, Femelle ; **Tm**, Témoin ; **Tr**, Traité ; **Moy**, Moyenne ; **SEM**, Ecart type de la moyenne ; \*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

#### **Sur le comportement d'oviposition :**

L'extrait foliaire de *D. gniduum* (300 µg/ml), administré par ingestion chez les larves du 2<sup>ème</sup> stade, affecte la capacité olfactive des femelles dans le choix du site de ponte (**Tab. 42**).

Chez les 26 femelles témoins, les résultats obtenus montrent une préférence claire d'oviposition sur un milieu témoin (86,62%) que sur un milieu traité (30,77%). L'analyse statistique par la simulation de Monté Carlo montre des différences significatives entre les choix établis avec une *p* égale à 1 (**Tab. 42**).

En outre, les femelles traitées montrent une attraction aux deux milieux testés à la fois ; ces dernières pondent ses œufs aléatoirement (**Tab. 42**).

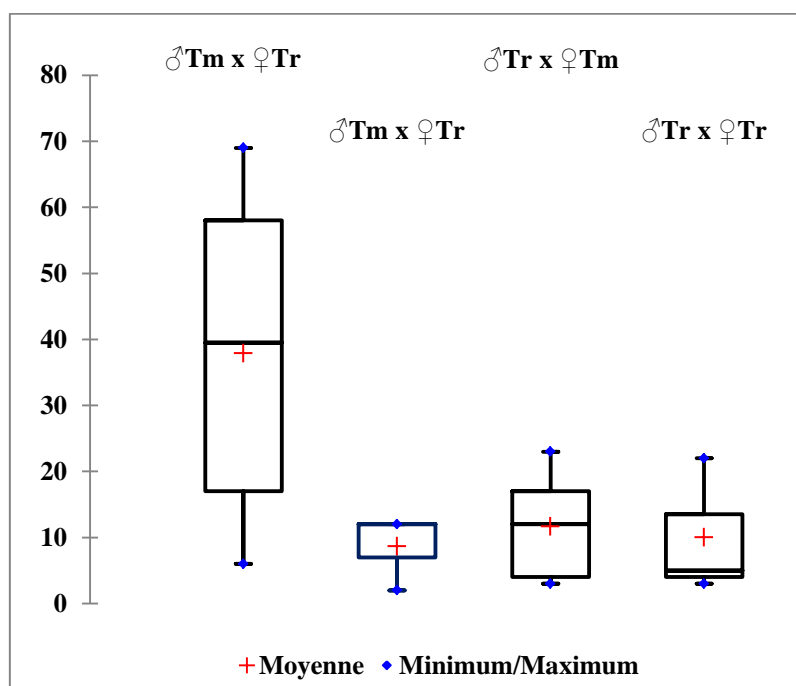


**Tableau 42 : Effet d'une concentration sublétale des feuilles de *D. gniduum* (300µg/ml) sur le choix du site de ponte chez *D. melanogaster***

	N	Milieu Témoin			Milieu Traité		
		A	NA	<i>p</i>	A	NA	<i>p</i>
♂Tm x ♀Tm	26	86,62	15,38	<b>1,000 (S)</b>	30,77	69,23	<b>&lt; 0,828 (NS)</b>
♂Tm x ♀Tr	6	50	50	<b>&lt; 0,867 (NS)</b>	100	0	<b>0,9 (S)</b>
♂Tr x ♀Tm	11	81,82	18,18	<b>0,968 (S)</b>	63,64	36,36	<b>&lt; 0,920 (NS)</b>
♂Tr x ♀Tr	4	75	25	<b>&lt; 0,923 (NS)</b>	100	0	<b>&lt; 0,923 (NS)</b>

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; A, attiré ; N, Non attiré ; S, Signification ; NS : Non signification]

En ce qui concerne le milieu témoin, les femelles saines (couples sains) pondent plus de  $37,88 \pm 4,22$  œufs avec un minimum de 4 et un maximum de 67. Cependant, ce nombre diminue chez les femelles traitées avec seulement  $8,67 \pm 3,33$  à  $10 \pm 6,03$  œufs enregistrés en moyenne (**Fig. 46**). Au seuil de signification  $\alpha = 0,05$ , l'analyse des variances montrent qu'il existe des différences significatives entre les insectes testés ( $F_{obs} = 6,84$  ;  $p = 0,0009$ ) (**Fig. 46**).

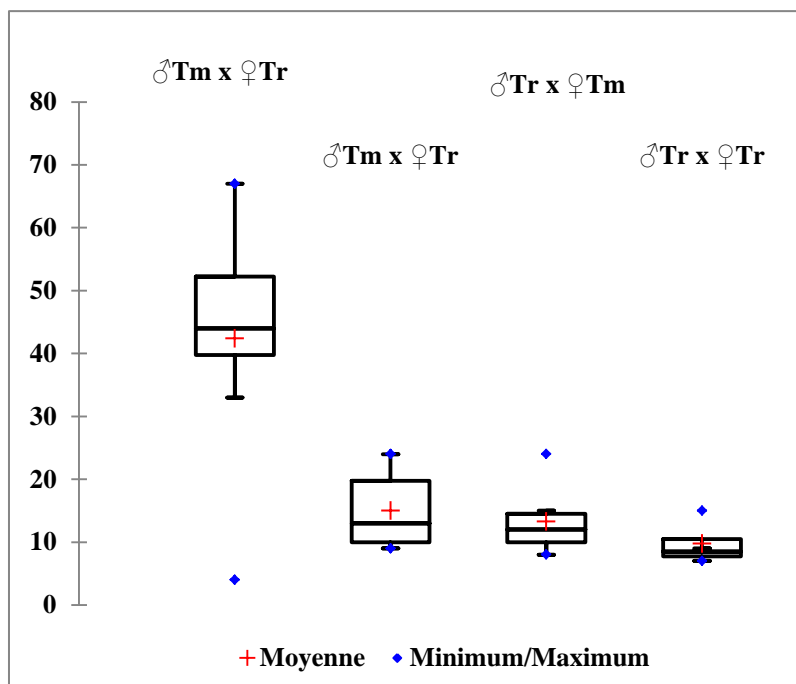


**Figure 46. Nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin**

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Sur le milieu traité, le nombre moyen d'œufs pondus par les femelles dans les couples 1, 2, 3 et 4 sont respectivement :  $42,38 \pm 6,53$  ;  $15 \pm 2,65$  ;  $13,29 \pm 2,02$  et  $9,75 \pm 1,80$  œufs. Toute fois, l'analyse des variances ne montrent pas des différences significatives entre les

insectes testés ( $F_{\text{obs}} = 1,96$  ;  $p = 0,15$ ) (**Fig. 47**). En effet, l'IPO calculé se représente par des valeurs faibles voir nuls qui varient entre -0,01 à +0,27 (**Tab. 43**).



**Figure 47.** Nombre d’œufs pondus dans le milieu traité aux feuilles de *D. gniduium* (300µg/ml)

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

**Tableau 43 :** Indice de préférence d’oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* en présence d’extrait des feuilles de *D. gniduium* (300 µg/ml)

Couple :	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr
IPO	+0,05	+0,27	+0,06	-0,01

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Le traitement affecte aussi la fécondité des femelles en réduisant d’une manière non significative le nombre d’œufs pondus et ce comparativement aux témoins ( $F_{\text{obs}} = 2,34$  ;  $p = 0,09$ ) (**Tab. 44**). Chez les 26 couples témoins, ce dernier est égal à 1324 œufs avec un maximum de 21 et un minimum de 77. Quand il est un des deux adultes ou les deux sont traités, il varie entre 69 à 116 œufs seulement (**Tab. 44**).

**Tableau 44 : Effet des feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml) sur le nombre total d’œufs pondus selon le type de croisement effectué**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>N</b>	26	6	11	4	<b>2,34</b>	<b>0,09</b>
<b>Moy ± SEM</b>	50,92 ± 2,75	19,33 ± 4,02	18 ± 2,24	17,25 ± 4,33		
<b>Min – Max</b>	(21 - 77)	(9 - 34)	(8 - 32)	(9 - 29)		
<b>Total</b>	1324	116	198	69		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; Moy, Moyenne ; SEM, Ecart type de la moyenne ; Min, Minimum ; Max, Maximum ; \*, Significatif]

### 3.1.5. Effets d’extrait aqueux des baies de *D. gniduum* sur la drosophile :

#### 3.1.5.1. Essai insecticide à l’égard des larves du 2<sup>ème</sup> stade :

À l’issu des essais de toxicité effectués, nous avons testé l’efficacité d’extrait aqueux des baies de *D. gniduum* sur les larves du 2<sup>ème</sup> stade de la drosophile.

Nos résultats montrent que les taux de mortalité chez les larves sont très variables, non seulement en fonction du temps de traitement, mais également en fonction de sa concentration (**Tab. 45**). À 2 jours, une très faible mortalité a été observée en utilisant les trois concentrations de produit ; il n’agit que sur 2,5 à 25% d’insectes. À 50 et 200 µg/ml, environ 48,8% à 57,5% de ces derniers meurent au bout de 15 jours (**Tab. 45**). À la concentration la plus élevée (300 µg/ml), *D. gniduum* provoque environ 32,5% de mortalité en moyen chez les larves après 5 jours et 48,8% après 10 jours, cette dernière atteint jusqu’à 68,8% à la fin du 15<sup>ème</sup> jour d'exposition. Cependant, l’analyse des variances montre qu’il n’existe pas des différences significatives (F<sub>obs</sub>= 0,15 ; p = 0,93) (**Tab. 45**).

**Tableau 45 : Mortalité corrigée chez les larves de *D. melanogaster* traitées par l’extrait aqueux de baies de *D. gniduum***

	2j	5j	10j	15j	F <sub>obs</sub>	p
<b>50µg/ml</b>	2,5%	16,3%	28,8%	48,8%	<b>1,25</b>	<b>0,34</b>
<b>200µg/ml</b>	7,5%	10%	48,8%	57,5%	<b>1,64</b>	<b>0,23</b>
<b>300µg/ml</b>	25%	32,5%	48,8%	68,8%	<b>0,15</b>	<b>0,93</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>0,60</b>	<b>1,58</b>	<b>2,38</b>	<b>2,35</b>		
<b>p</b>	<b>0,57</b>	<b>0,26</b>	<b>0,15</b>	<b>0,15</b>		

Les différents paramètres toxicologiques des baies de *D. gniduum* sont affichés dans le tableau 46. Ces derniers montrent qu’il ya une forte corrélation entre le taux de mortalité et le

temps d'exposition des mouches à différentes concentrations de produit (le coefficient de corrélation « R<sup>2</sup> » est de 0,87 à 0,99) (Tab. 46).

Les concentrations létales obtenues, 2, 5, 10 et 15 jours après traitement, sont respectivement de 1,26\*10<sup>3</sup>, 3,39\*10<sup>4</sup>, 2,82\*10<sup>2</sup> et 6,31\*10<sup>1</sup> µg/ml pour la CL<sub>50</sub> et 9,77\*10<sup>3</sup>, 7,76\*10<sup>7</sup>, 1,62\*10<sup>4</sup> et 9,33\*10<sup>3</sup> µg/ml pour la CL<sub>90</sub> (Tab. 46). Les temps létaux, pour les différentes concentrations testées, sont respectivement de 16,22, 12,88 et 8,32 jours la TL<sub>50</sub> et de 64,57, 54,95 et 87,10 jours la TL<sub>90</sub> (Tab. 46).

**Tableau 46: Paramètres toxicologiques des baies de *D. gniduum***

**A** : en fonction du temps d'exposition des larves / **B** : en fonction de la concentration utilisée

"A"	Concentrations létales :			
	Droite de regression		CL <sub>50</sub> (µg/ml)	CL <sub>90</sub> (µg/ml)
2j	Y= 0,50 + 1,45 X	R <sup>2</sup> = 0,84	1,26*10 <sup>3</sup>	9,77*10 <sup>3</sup>
5j	Y= 3,28 + 0,38 X	R <sup>2</sup> = 0,13	3,39*10 <sup>4</sup>	7,76*10 <sup>7</sup>
10j	Y= 3,21 + 0,73 X	R <sup>2</sup> = 0,95	2,82*10 <sup>2</sup>	1,62*10 <sup>4</sup>
15j	Y= 3,94 + 0,59 X	R <sup>2</sup> = 0,86	6,31*10 <sup>1</sup>	9,33*10 <sup>3</sup>
"B"	Temps létaux :			
	Droite de regression		TL <sub>50</sub> (jours)	TL <sub>90</sub> (jours)
50µg/ml	Y= 2,44 + 2,12 X	R <sup>2</sup> = 0,99	16,22	64,57
200µg/ml	Y= 2,74 + 2,04 X	R <sup>2</sup> = 0,87	12,88	54,95
300µg/ml	Y= 3,84 + 1,26 X	R <sup>2</sup> = 0,89	8,32	87,10

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des concentrations et/ou des temps]

### 3.1.5.2. Impact sur la croissance et la durée de développement :

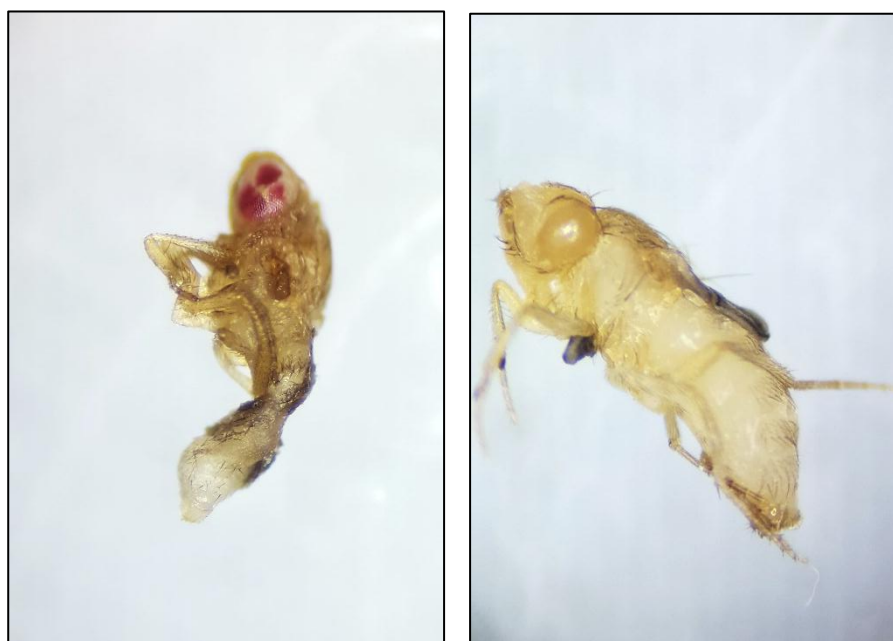
Le traitement des larves du 2<sup>ème</sup> stade, par les différentes concentrations des baies de *D. gniduum*, agit essentiellement sur le nombre des pupes et des adultes obtenus. Il influe ainsi sur la durée du développement de la mouche (Tab. 47). Environ 56,15 à 77 % des larves n'ont parvenu au stade pupal au bout de 2 jours et ce, selon les trois concentrations utilisées par rapport aux témoins (où 60% sont des pupes). De plus, 20,04% des larves ont subi un blocage complet du développement avec 300 µg/ml après 15 jours du traitement (Tab. 47). Un taux maximal d'adultes émergents de pupes témoins (100%) a été enregistré au 10<sup>ème</sup> jour d'observation. Toute fois, ce taux diminue chez les traités et varie entre 39,98% à 85,35% selon la concentration utilisée (Tab. 47).

**Tableau 47 : Dénombrement, par stade, du taux d'individus issus des traitements aux baies de *D. gniduum***

		2j		5j		10j		15j				
<b>Tm</b>	N=20	<b>L</b>	40%	N=20	<b>L</b>	0	N=20	<b>L</b>	0	N=20	<b>L</b>	0
		<b>P</b>	60%		<b>P</b>	100%		<b>P</b>	0		<b>P</b>	0
		<b>A</b>	0		<b>A</b>	0		<b>A</b>	100%		<b>A</b>	100%
<b>1</b>	N=19,5	<b>L</b>	96,15%	N=16,75	<b>L</b>	71,64%	N=14,25	<b>L</b>	54,24%	N=10,25	<b>L</b>	46,34%
		<b>P</b>	3,85%		<b>P</b>	28,36%		<b>P</b>	14,04%		<b>P</b>	12,2%
		<b>A</b>	0		<b>A</b>	0		<b>A</b>	29,82%		<b>A</b>	41,46%
<b>2</b>	N=18,5	<b>L</b>	98,65%	N=15,5	<b>L</b>	38,71%	N=10,25	<b>L</b>	12,2%	N=11,33	<b>L</b>	2,91%
		<b>P</b>	1,35%		<b>P</b>	61,29%		<b>P</b>	17,07%		<b>P</b>	11,74%
		<b>A</b>	0		<b>A</b>	0		<b>A</b>	70,73%		<b>A</b>	85,35%
<b>3</b>	N=15	<b>L</b>	100%	N=13,5	<b>L</b>	35,19%	N=10,5	<b>L</b>	21,43%	N=8,33	<b>L</b>	20,04%
		<b>P</b>	0		<b>P</b>	64,81%		<b>P</b>	40,48%		<b>P</b>	39,98%
		<b>A</b>	0		<b>A</b>	0		<b>A</b>	38,09%		<b>A</b>	39,98%

[**Tm** : Témoins ; **1** : 50µg/ml ; **2** : 200µg/ml ; **3** : 300µg/ml ; **N** : Nombre moyen d'individus issus des différents traitements ; **L** : Larve ; **P** : Pupe ; **A** : Adulte]

Des malformations sont observées suite à la mue imaginale au niveau des lots traités avec les différentes concentrations d'extrait aqueux de baies de *D. gniduum* (**Fig. 48**).



**Figure 48.** Effet d'extrait aqueux de baies de *D. gniduum* sur les adultes de *D. melanogaster* (x 4,5) (Photos originales)

### 3.1.5.3. Effets du traitement par une concentration sublétales (50 µg/ml) sur le comportement de *D. melanogaster* :

#### *Sur le comportement alimentaire des larves du 3<sup>ème</sup> stade :*

L'effet différé d'une concentration sublétales des baies de *D. gniduum* à la décoction (50 µg/ml) a été testé sur l'attractivité alimentaire des larves du 3<sup>ème</sup> stade envers différentes odeurs.

#### *Chez les larves témoins :*

Le tableau 48 illustre les réponses préférentielles chez les larves témoins. À 2 minutes, toutes ces dernières sont attirées en présence de deux milieux témoins (100%,  $p = 1$ ) ; elles ne choisissent pas un côté aussi bien que l'autre, il n'y a pas de différence (**Tab. 48**). Cependant, seulement 51,72% sont attirées en cas de deux milieux différents (témoins vs traité). À 5 minutes 96,55% d'elles effectuent un choix elles se dirigent d'abord préférentiellement sur ce spot traité 71,43% plutôt que sur le témoin 28,57% ( $p = 0,980$ ), puis y retournent aussi de manière préférentielle pour leur seconde visite. Leur attractivité augmente avec le temps jusqu'à la fin du test (**Tab. 48**).

Les larves en situation traité vs traité présentent une faible attractivité au début de test avec seulement 17,24% pour croître de nouveau vers la fin du test (72,41%, avec  $p = 0,980$ ) (**Tab. 48**).

#### *Chez les larves traitées :*

Chez les larves traitées, quelque soit le stimulus, le taux d'attractivité est complètement nul au bout de 2 minutes ; ce dernier ne dépasse pas le 6,90% dans le meilleur cas ( $p = 1$ ). Cependant, ce n'est qu'après 15 minutes qu'elles les deviennent (58,62 à 75,86%). Ces taux se stabilisent jusqu'à la fin de test (**Tab. 49**).

L'analyse de Monté Carlo ne montre pas des différences significatives entre les choix établis quand il s'agit de deux milieux différents ; malgré qu'elles montrent une affinité à celui traité (**Tab. 49**).

**Tableau 48 : Attractivité des larves témoins vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)**

<b>Dans 2 min :</b>				
<b>Test</b>	<b>A</b>		<b>NA</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	51,72%		48,28%	<b>&lt;0,904 (NS)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	6,67%	93,33%		
<b>p : 1,00 (S)</b>				
<b>2</b>	100%		0%	<b>1,00 (S)</b>
<b>3</b>	17,24%		82,76%	<b>1,00 (S)</b>
<b>Dans 5 min :</b>				
<b>Test</b>	<b>A</b>		<b>NA</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	96,55%		3,45%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	28,57%	71,43%		
<b>p : 0,980 (S)</b>				
<b>2</b>	96,55%		3,45%	<b>1,00 (S)</b>
<b>3</b>	55,17%		44,83%	<b>&lt;0,904 NS</b>
<b>Dans 15 min :</b>				
<b>Test</b>	<b>A</b>		<b>NA</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	100 %		0%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	27,59%	72,41%		
<b>p : 0,980 (S)</b>				
<b>2</b>	93,10%		6,70%	<b>1,00 (S)</b>
<b>3</b>	72,41%		27,59%	<b>0,980 (S)</b>
<b>Dans 30 min :</b>				
<b>Test</b>	<b>A</b>		<b>NA</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	96,55%		3,45%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tr</b>		
	32,14%	67,86%		
<b>p : 0,953 (S)</b>				
<b>2</b>	100%		0%	<b>1,00 (S)</b>
<b>3</b>	79,31%		20,69%	<b>1,00 (S)</b>
<b>Dans 60 min :</b>				
<b>Test</b>	<b>A</b>		<b>NA</b>	<b>p</b>
<b>1</b>	96,55%		3,45%	<b>1,00 (S)</b>
	<b>Tm</b>	<b>Tm</b>		
	32,14%	32,14%		
<b>p : 0,953 (S)</b>				
<b>2</b>	96,55%		3,45%	<b>1,00 (S)</b>
<b>3</b>	72,41%		27,59%	<b>0,980 (S)</b>

[1 : Milieu témoin vs milieu traité aux baies de *D. gniduum* (50µg/ml), 2 : Milieu témoin vs milieu témoin, 3 : Milieu traité au *D. gniduum* vs milieu traité aux baies de *D. gniduum* (50µg/ml), **Tm** : Milieu témoin, **Tr** : Milieu traité, **A** : Attiré, **NA** : Non attiré, **S** : Significatif, **NS** : Non significatif]

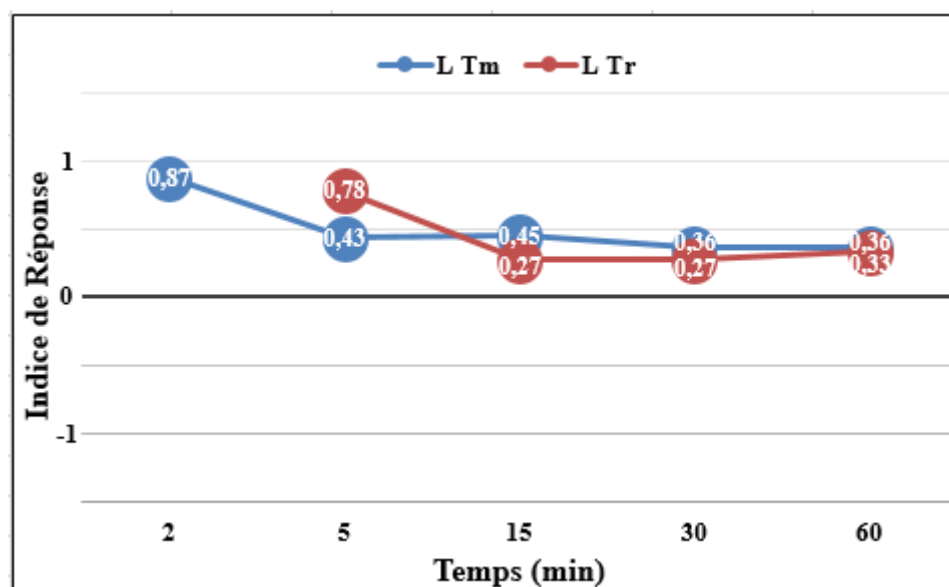
**Tableau 49 : Attractivité des larves traitées, à une concentration sublétale des baies de *D. gniduum* (50 µg/ml), vis-à-vis les différentes odeurs testées (n=30)**

Dans 2 min :				
Test	A		NA	p
1	0%		100%	1,00 (S)
	Tm	Tr		
	-	-		
	-			
2	0%		100%	1,00 (S)
3	6,90%		93,10%	1,00 (S)
Dans 5 min :				
Test	A		NA	p
1	31,03%		68,97%	0,964 (S)
	Tm	Tr		
	11,11%	88,89%		
	p : < 0,887 (NS)			
2	37,93%		62,07%	<0,904 (NS)
3	27,59%		72,41%	0,980 (S)
Dans 15 min :				
Test	A		NA	p
1	75,86%		27,59%	0,992 (S)
	Tm	Tr		
	36,36%	63,64%		
	p : < 0,900 (NS)			
2	58,62%		41,38%	<0,904 (NS)
3	62,07%		37,93%	<0,904 (NS)
Dans 30 min :				
Test	A		NA	p
1	75,86%		27,59%	0,992 (S)
	Tm	Tr		
	36,36%	63,36%		
	p : < 0,900 (NS)			
2	68,97%		31,03%	0,964 (S)
3	62,07%		37,93%	<0,904 (NS)
Dans 60 min :				
Test	A		NA	p
1	82,76%		17,24%	1,00 (S)
	Tm	Tr		
	33,33%	66,67%		
	p : < 0,908 (NS)			
2	68,97%		31,03%	0,964 (S)
3	62,07%		37,93%	<0,904 (NS)

[1 : Milieu témoin vs milieu traité aux baies de *D. gniduum* (50µg/ml), 2 : Milieu témoin vs milieu témoin, 3 : Milieu traité au *D. gniduum* vs milieu traité aux baies de *D. gniduum* (50µg/ml), Tm : Milieu témoin, Tr : Milieu traité, A : Attiré, NA : Non attiré, S : Significatif, NS : Non significatif]



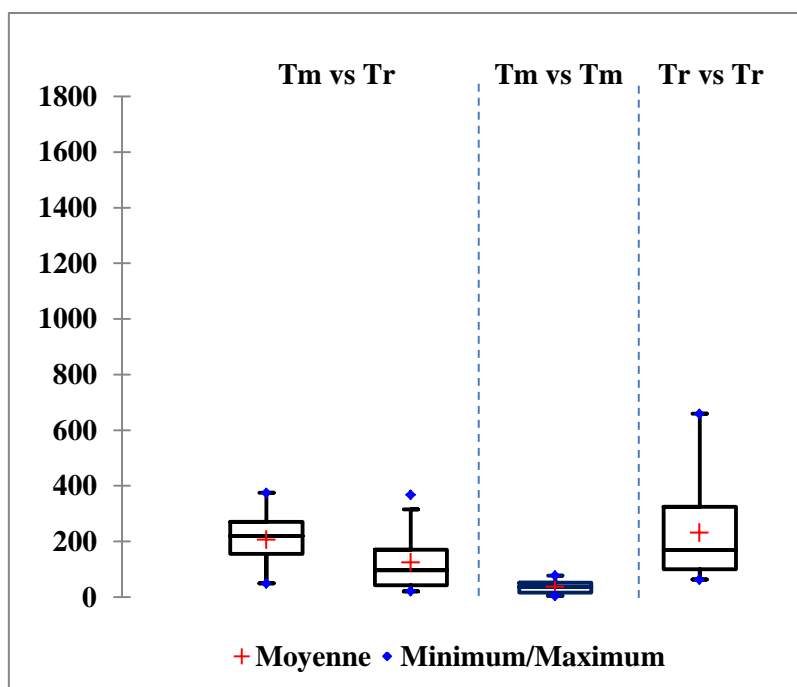
L'indice de réponse (IR) confirme les résultats dans le tableau précédant ; il montre des valeurs positives au cours de temps, quelque soient les larves testées (témoins ou traitées), ce qui explique leur grande attraction envers l'odeur du milieu traité au baie de *D. gniduum* (300 µg/ml) (Fig. 49).



**Figure 49. Indice de réponse (IR) des larves de *D. melanogaster* (témoins et traitées) envers l'extrait aqueux des baies de *D. gniduum* (50 µg/ml) dans le test du choix [LTm : Larves témoins, LTr : Larves traitées aux baies de *D. gniduum* (50µg/ml)]**

En présence des mêmes stimuli témoins, les larves témoins mettent seulement  $37,03 \pm 3,99$  secondes pour les détecter, alors qu'elles mettent plus de  $232,18 \pm 36,64$  secondes pour détecter ceux traités ( $F_{\text{obs}} = 45,90$  ;  $p < 0,0001$ ) (Fig. 50).

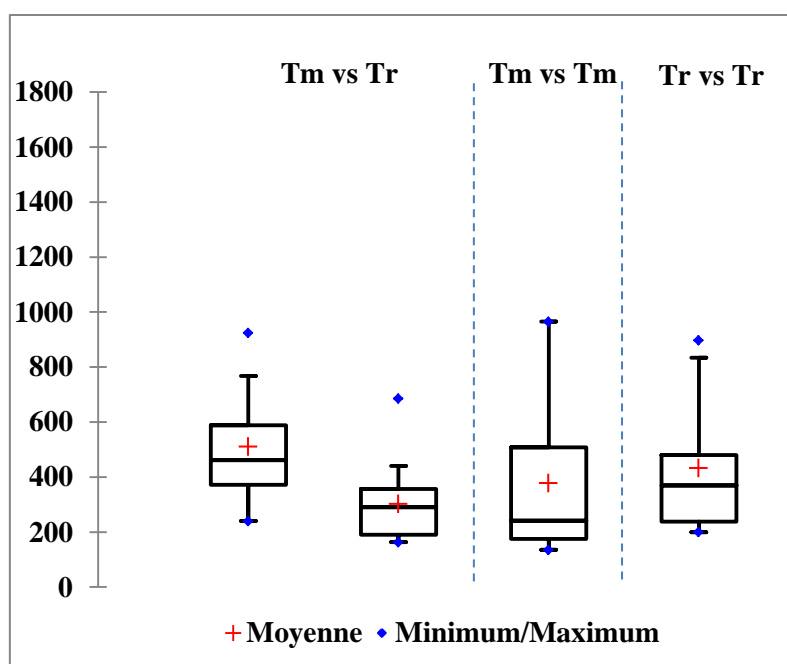
Le test de choix montre qu'elles mettent  $206 \pm 33,45$  secondes pour qu'elles arrivent au contact avec le papier témoin et de  $124,86 \pm 22,06$  secondes pour le milieu traité. Cependant, l'analyse des variances montrent qu'il n'existe pas des différences significatives entre les insectes testés ( $F_{\text{obs}} = 0$  ;  $p = 0,97$ ) (Fig. 50).



**Figure 50. Temps de détection (en secondes) des larves témoins, en réponse aux différentes odeurs testées (n=30)**

[*Tm* : Milieu témoin, *Tr* : Milieu traité aux baies de *D. gniduum* (50 $\mu$ g/ml)]

Les  $L_3$  traitées se comportent de la même façon vis-à-vis des différentes odeurs testées ; l'analyse statistique montre que les temps mesurés ne diffèrent pas significativement. Elles mettent  $511 \pm 72,48$  et  $302,80 \pm 36,65$  secondes pour détecter celle de milieu témoin et le milieu traité, respectivement avec  $F_{\text{obs}} = 1,73$  et  $p = 0,02$  (**Fig. 51**). De plus, elles prennent entre  $378,45 \pm 58,05$  et  $433,35 \pm 56,28$  secondes pour localiser les sources odorantes dans les tests témoin vs témoin et traité vs traité ( $F_{\text{obs}} = 0,27$  ;  $p = 0,61$ ) (**Fig. 51**).



**Figure 51. Temps de détection (en secondes) des larves traitées, à une concentration sublétales des baies de *D. gniduium* (50 µg/ml), en réponse aux différentes odeurs testées (n=30) [Tm : Milieu témoin, Tr : Milieu traité aux baies de *D. gniduium* (50µg/ml)]**

**Sur le comportement sexuel :**

Les résultats obtenus sur le comportement sexuel des mouches traitées aux baies de *D. gniduium* à la concentration sublétales de 50 µg/ml indiquent un changement du comportement de la part des femelles, des mâles ou des deux à la fois selon le type de croisement effectué (Tab. 50).

Toutes ces drosophiles affectées par l'extrait présentent dans presque tous les tests réalisés des séquences comportementales inachevées résultants des accouplements avortés. En effet, le taux d'accouplement réussi varie entre 10 à 26,67% seulement comparativement à celui enregistré chez les couples témoins (86,67%) (Tab. 50).

**Tableau 50 : Effet d'une concentration sublétales des baies de *D. gniduium* (50 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez *D. melanogaster*, (n=30)**

	Contacts	Vibrations	Léchages	Tentatives	Accouplement réussi
♂Tm x ♀Tm	100	100	86,67	86,67	86,67
♂Tm x ♀Tr	100	93,33	50	36,67	26,67
♂Tr x ♀Tm	100	43,33	20	10	10
♂Tr x ♀Tr	100	46,67	20	13,33	13,33

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

En ce qui concerne la première séquence de parade, les attouchements, les mouches mettent en moyenne  $58,87 \pm 11,46$  à  $108,6 \pm 6,99$  secondes pour effectuer cette étape par apport aux témoins ( $F_{\text{obs}} = 14,84$  ;  $p < 0,0001$ ) (**Tab. 51**). Une fois tous les deux individus sont traités, le nombre de contacts diminue avec seulement  $3,8 \pm 0,38$  en moyenne ( $F_{\text{obs}} = 50,98$  ;  $p < 0,0001$ ) (**Tab. 51**).

Ainsi, le temps moyen pour que les mâles effectuent ses vibrations ailières, pour qu'ils lèchent les plaques génitales de leurs femelles potentielles et tentent à les accrocher augmentent significativement. Cependant, le nombre de répétition de chaque acte diminue selon les couples testés comparativement aux témoins (**Tab. 51**).

La durée moyenne que prennent les mâles témoins, pour aboutir à un accouplement réussi, sont assez élevées (de 1104,85 à 1132,5 secondes) par apport aux croisements où les mâles sont traités (de 712,67 à 774,25 secondes) (**Tab. 51**).

**Tableau 51 : Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy  $\pm$  SEM)**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>a</b>	5,63 $\pm$ 0,85	58,87 $\pm$ 11,46	84,73 $\pm$ 15,83	108,6 $\pm$ 6,99	<b>14,84</b>	<b>0,0001***</b>
<b>b</b>	9,97 $\pm$ 1,05	16,73 $\pm$ 2,49	11,63 $\pm$ 0,94	3,8 $\pm$ 0,38	<b>50,98</b>	<b>0,0001***</b>
<b>c</b>	37,17 $\pm$ 2,53	201,46 $\pm$ 36,21	139,23 $\pm$ 11,83	351,43 $\pm$ 77,15	<b>13,54</b>	<b>0,0001***</b>
<b>d</b>	11,13 $\pm$ 0,82	6,25 $\pm$ 0,86	2,38 $\pm$ 0,33	5,43 $\pm$ 0,80	<b>4,16</b>	<b>0,009**</b>
<b>e</b>	65,88 $\pm$ 11,33	367,47 $\pm$ 69,11	441 $\pm$ 148,36	260,33 120,67	<b>17,16</b>	<b>0,0001***</b>
<b>f</b>	3,58 $\pm$ 0,41	6,71 $\pm$ 1,18	4,17 $\pm$ 1,05	2,67 $\pm$ 0,33	<b>2,91</b>	<b>0,04*</b>
<b>g</b>	196,92 $\pm$ 36,12	447,28 $\pm$ 73,60	563,67 $\pm$ 126,45	351 $\pm$ 176,56	<b>1,17</b>	<b>0,33</b>
<b>h</b>	3,69 $\pm$ 0,37	5,1 $\pm$ 0,62	6 $\pm$ 0,58	2,5 $\pm$ 0,29	<b>3,17</b>	<b>0,03*</b>
<b>i</b>	661,19 $\pm$ 61,88	626,25 $\pm$ 85,55	908,33 $\pm$ 193,87	639,75 $\pm$ 243,48	<b>1,47</b>	<b>0,24</b>
<b>j</b>	1104,85 $\pm$ 104,22	1132,5 $\pm$ 121,80	712,67 $\pm$ 98,02	774,25 $\pm$ 89,49	<b>1,53</b>	<b>0,22</b>

[**a**, Temps de 1<sup>er</sup> contact ; **b**, Nombre de contacts ; **c**, Temps de 1<sup>ère</sup> vibration ; **d**, Nombre de vibrations ; **e**, Temps de 1<sup>er</sup> léchage ; **f**, Nombre de léchages ; **g**, Temps de 1<sup>ère</sup> tentative ; **h**, Nombre de tentatives ; **i**, Latence d'accouplement ; **j**, Durée d'accouplement ; ♂, Mâle ; ♀, Femelle ; **Tm**, Témoin ; **Tr**, Traité ; **Moy**, Moyenne ; **SEM**, Ecart type de la moyenne ; \*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

**Sur le comportement d'oviposition :**

Le tableau 52 présente l'attractivité des femelles fécondées dans le choix du site de ponte. Il semble que seulement 34,62% des femelles témoins (n=26) sont attirées par le milieu

témoins ( $p = 0,965$ ), alors qu'elles préfèrent de plus le milieu traité aux baies de *D. gniduum* (50 µg/ml) avec une valeur de  $p$  égale à 1 (Tab. 52).

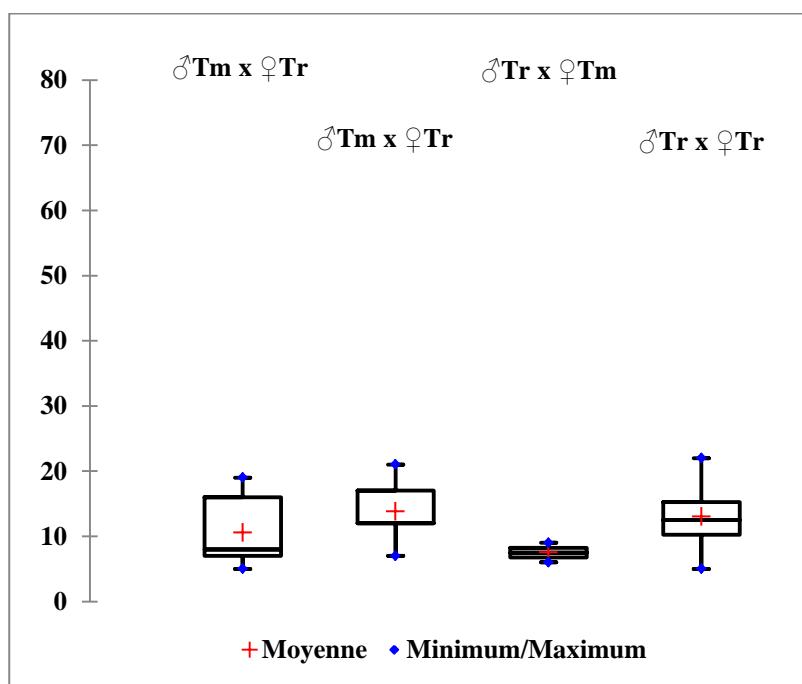
Dans les croisements où les femelles sont traitées, elles montrent une attractivité aux deux milieux testés. Cependant, il n'existe pas des différences entre les choix établis (Tab. 52).

**Tableau 52 : Effet d'une concentration sublétales des baies de *D. gniduum* (50 µg/ml) sur le choix du site de ponte chez *D. melanogaster***

	N	Milieu Témoin			Milieu Traité		
		A	NA	$p$	A	NA	$p$
♂Tm x ♀Tm	26	26,92	73,08	<b>0,965 (S)</b>	100	0	<b>1,000 (S)</b>
♂Tm x ♀Tr	8	62,5	37,5	<b>&lt; 0,829 (NS)</b>	100	0	<b>0,997 (S)</b>
♂Tr x ♀Tm	3	66,67	33,33	<b>&lt; 0,885 (NS)</b>	100	0	<b>&lt; 0,885 (NS)</b>
♂Tr x ♀Tr	4	100	0	<b>&lt; 0,923 (NS)</b>	100	0	<b>&lt; 0,923 (NS)</b>

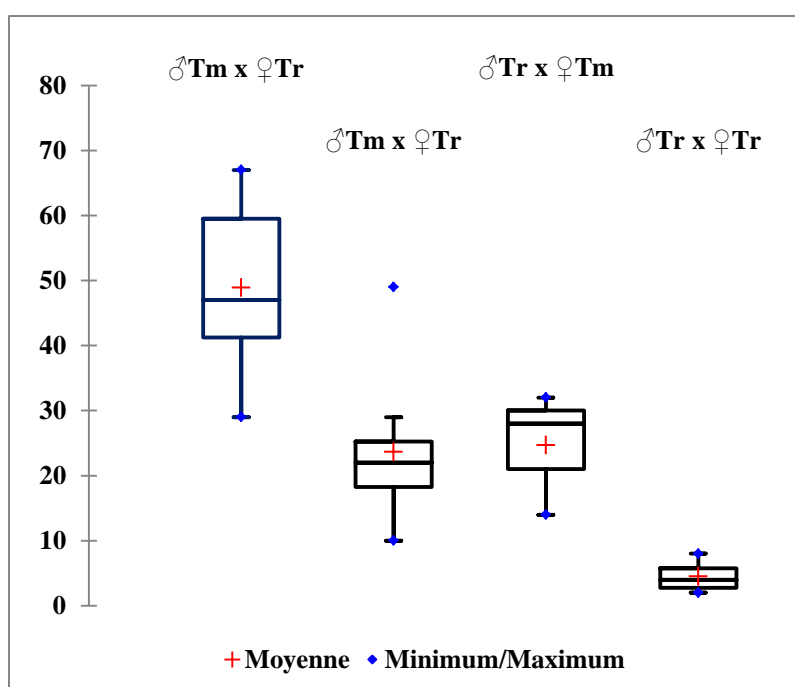
[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; A, attiré ; N, Non attiré ; S, Signification ; NS : Non signification]

Nos résultats (Fig. 52) montrent que les femelles, quel que soit le croisement, ne sont pas attirées par le milieu témoin ; bien que le nombre d'œufs pondus ne dépasse pas les 13,80 œufs dans le meilleur cas. En effet, L'analyse des variances montre qu'il n'existe pas des différences significatives entre les insectes testés ( $F_{obs} = 0,62$  ;  $p = 0,61$ ) (Fig. 52).



**Figure 52. Nombre d'œufs pondus dans le milieu témoin**  
[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Le milieu traité aux baies de *D. gniduum* (50 µg/ml) est significativement plus attractif pour les femelles que l'autre témoin. Les femelles témoins pondent plus de  $48,88 \pm 2,32$  œufs, alors que celles dans les croisements où un ou les deux adultes sont traités pondent entre  $4,50 \pm 1,32$  à  $24,67 \pm 5,46$  œufs (**Fig. 53**) ; les valeurs de l'IPO sont toujours positives et sont de 0,64, 0,26 et 0,53 respectivement (**Tab. 53**). L'analyse des variances montre qu'il existe des différences hautement significatives entre les insectes testés ( $F_{\text{obs}} = 2,32$  ;  $p = 0,09$ ) (**Fig. 53**).



**Figure 53. Nombre d'œufs pondus dans le milieu traité aux baies de *D. gniduum* (50µg/ml)**

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

**Tableau 53 : Indice de préférence d'oviposition (IPO) des femelles de *D. melanogaster* en présence d'extrait des baies de *D. gniduum* (50 µg/ml)**

Couple :	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr
<b>IPO</b>	+0,64	+0,26	+0,53	-0,49

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Le nombre moyen d'œufs pondus par les 26 femelles témoins est de  $46 \pm 4$  avec un maximum de 77 œufs, tandis que celui déposé par celles traitées est de  $18 \pm 3$ , dont le maximum est de 25 œufs (**Tab. 54**). Dans les croisements, où un des deux partenaires ou tous les deux sont traités, le nombre total d'œufs pondus varie entre seulement 70 et 258, alors

qu'il est plus de 1366 chez les couples témoins. L'analyse de variance montre qu'il n'existe pas des différences significatives, au seuil  $\alpha = 0,05$  ( $F_{\text{obs}} = 1,80$  ;  $p = 0,16$ ) (Tab. 54).

**Tableau 54 : Effet baies de *D. gniduum* (50 µg/ml) sur le nombre total d'œufs pondus selon le type de croisement effectué**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>N</b>	26	8	3	4	<b>1,80</b>	<b>0,16</b>
<b>Moy ± SEM</b>	46 ± 4	32 ± 5	30 ± 3	18 ± 3		
<b>Min – Max</b>	(0 - 77)	(13 - 56)	(23 - 34)	(13 - 25)		
<b>Total</b>	1366	258	89	70		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; Moy, Moyenne ; SEM, Ecart type de la moyenne ; Min, Minimum ; Max, Maximum]

### 3.1.6. Synthèse des résultats obtenus :

Le tableau 55 est une synthèse des résultats obtenus sur les activités biologiques de différents extraits végétaux utilisés contre *D. melanogaster*. Il indique que ces derniers présentent une bonne activité larvicide par ingestion et ce sont la décoction des graines de *P. harmala* et les baies de *D. gniduum* les plus appropriées, alors que les fleurs de *P. harmala* semblent être la solution la moins efficace. Il convient de remarquer qu'en moyenne l'effet négatif de chaque produit sur le cycle de développement de l'insecte suivant au retard occasionné aux différents stades. Le traitement perturbe ainsi le déroulement de la reproduction ayant un effet anti-fertilisant, en diminuant le nombre d'œufs pondus d'une manière proportionnelle. De plus, nos observations comportementales, effectuées sur les larves du 3<sup>ème</sup> stade (préférences alimentaires) ou les femelles (choix du site de ponte), ont permis de démontrer qu'elles étaient capables de distinguer les différentes odeurs testées. En particulier, nous avons observé que ces dernières sont attirées par la décoction des graines de *P. harmala* et des baies de *D. gniduum* et fortement repoussées et/ou stressés par celle des feuilles, fleurs de *P. harmala* et des feuilles de *D. gniduum*.

**Tableau 55 : Synthèse des résultats sur les effets directs et différés des différents extraits végétaux utilisés contre la mouche du vinaigre, *D. melanogaster***

Effet \ Produit	<i>P. harmala</i>			<i>D. gniduum</i>	
	Feuilles	Fleurs	Graines	Feuilles	Baies
<b>Toxicité</b>	++	+	+++	+	++
<b>Inhibition de la croissance</b>	+	+	+	+	+
<b>Activité attractive/insectifuge</b> (Comportement alimentaire des L <sub>3</sub> )	-	-	+	-	+
<b>Inhibition de la reproduction</b>	+	+	+	+	+
<b>Activité attractive/insectifuge</b> (Oviposition des femelles)	-	-	+	-	+
<b>Anti-ponte</b> (Nombre d'œufs pondus)	+	+	+	+	+

Toxicité par ingestion :

+ : Mortalité <50 % après 15 jours

++ : Mortalité comprise entre 50 % et 80 % après 15 jours

+++ : Mortalité >80 % après 15 jours

Inhibition de la croissance

+ : Présence ; - : Absence

Activité attractive/insectifuge (Comportement alimentaire des L<sub>2</sub>)

+ : Attraction ; - : Répulsion

Inhibition de la reproduction

+ : Présence ; - : Absence

Activité attractive/insectifuge (Oviposition des femelles)

+ : Attraction ; - : Répulsion

Anti-ponte (Nombre d'œufs pondus)

+ : Présence ; - : Absence



### 3.2. Effets toxiques des extraits végétaux sur la blatte germanique, *B. germanica* :

#### 3.2.1. Effets d'extrait aqueux des feuilles de *P. harmala* sur la blatte :

##### 3.2.1.1. Essai insecticide à l'égard des adultes :

Nous avons testé l'activité de différentes concentrations d'extrait aqueux de feuilles de *P. harmala* sur la mortalité des mâles et des femelles chez *B. germanica*.

À la concentration de 300 µg/ml, les feuilles de *P. harmala*, provoque environ 20% de mortalité chez les mâles après 7 jours, 23,3% après 15 jours et 26,7% à la fin du 30<sup>ème</sup> jour d'exposition (**Tab. 56**). Pour la concentration de 700 µg/ml, le taux moyen de mortalité des mâles est, respectivement, de 13,3% à 7 jours, de 26,7% à 15 jours et de 43,3% à 30 jours (**Tab. 56**). La mortalité des mâles augmente lorsqu'on utilise des concentrations de 1000 µg/ml ; 30% à 7 jours, 60% à 10 jours. À ces deux concentrations, plus de 90% les mâles meurent au bout de 30 jours (**Tab. 56**).

La comparaison des variances des différentes concentrations utilisées montre qu'au seuil de significativité  $\alpha = 0,05$ , il n'existe pas des différences significatives entre la mortalité enregistrée pour les quatre concentrations au bout de 7, 10 et 15 jours (**Tab. 56**).

**Tableau 56 : Taux de mortalité des mâles de *B. germanica* traités par les extraits aqueux des feuilles de *P. harmala***

	<b>7j</b>	<b>15j</b>	<b>30j</b>	<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>p</b>
<b>300µg/ml</b>	20%	23,3%	26,7%	<b>0,20</b>	<b>0,82</b>
<b>700µg/ml</b>	13,3%	26,7%	43,3%	<b>1,49</b>	<b>0,30</b>
<b>1000µg/ml</b>	30%	60%	90%	<b>0,91</b>	<b>0,45</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>2,59</b>	<b>0,70</b>	<b>0,76</b>		
<b>p</b>	<b>0,15</b>	<b>0,53</b>	<b>0,51</b>		

Le tableau 57 résume les différents taux de mortalité enregistrés pour les femelles. La concentration 300 µg/ml provoque 10% de mortalité après 7 jours et 13,3% après 15 et 30 jours (**Tab. 57**). Plus on augmente la concentration d'extrait foliaire de *P. harmala*, plus le taux de mortalité augmente. À 700 µg/ml, on observe 10% de mortalité après 7 jours, 13,3% après 15 jours et 33,3% après 30 jours. La plus forte concentration (1000 µg/ml) provoque 20% de mortalité après 7 jours d'exposition et 63,3% de mortalité à partir du 15<sup>ème</sup> jour d'exposition (**Tab. 57**).

**Tableau 57 : Taux de mortalité des femelles de *B. germanica* traitées par les extraits aqueux des feuilles de *P. harmala***

	7j	15j	30j	F <sub>obs</sub>	p
300µg/ml	10%	13,3%	13,3%	3,04	0,12
700µg/ml	10%	13,3%	33,3%	8,16	0,02*
1000µg/ml	20%	63,3%	63,3%	0,84	0,48
F <sub>obs</sub>	4,39	0,43	5,03		
p	0,07	0,67	0,05*		

[\*: Significatif, \*\*: Hautement significatif, \*\*\*: Très hautement significatif]

Les adultes de *B. germanica* exposés pendant 7, 15 et 30 jours aux fleurs de *P. harmala* présentent des moyennes corrélées aux concentrations utilisées (Tab. 58).

Nos résultats montrent que, à 10 jours, les femelles sont beaucoup plus résistantes au traitement que ne le sont les mâles. À 15 jours, ces résultats s'estompent et les CL50 et CL90 sont comparables chez les deux sexes, alors qu'à 30 jours les femelles sont 2 fois plus sensibles que les mâles (Tab. 58).

**Tableau 58 : Concentrations létales des extraits aqueux des feuilles de *P. harmala***

Temps d'exposition	Mâles		
	Droite de regression	CL50 (µg/ml)	CL90 (µg/ml)
7j	Y= 3,16 + 0,37 X R <sup>2</sup> = 0,11	9,33*10 <sup>4</sup>	2,69*10 <sup>8</sup>
15j	Y= 0,23 + 1,59 X R <sup>2</sup> = 0,63	1*10 <sup>3</sup>	6,46*10 <sup>3</sup>
30j	Y= -3,71 + 3,20 X R <sup>2</sup> = 0,75	5,24*10 <sup>2</sup>	1,31*10 <sup>3</sup>
Temps d'exposition	Femelles		
	Droite de regression	CL50 (µg/ml)	CL90 (µg/ml)
7j	Y= 1,96 + 0,69 X R <sup>2</sup> = 0,53	2,57*10 <sup>4</sup>	1,82*10 <sup>6</sup>
15j	Y= -2,63 + 2,61 X R <sup>2</sup> = 0,93	8,31*10 <sup>2</sup>	2,57*10 <sup>3</sup>
30j	Y= -1,92 + 2,27 X R <sup>2</sup> = 0,53	1,12*10 <sup>3</sup>	4,07*10 <sup>3</sup>

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des temps]

En ce qui concerne les temps létaux (Tab. 59), nos résultats révèlent qu'à des concentrations de 300 et 700 µg/ml, faut 2 à 3 fois plus de temps pour obtenir 50 à 90% de mortalité chez les femelles, comparativement aux mâles. À 1000 µg/ml, les résultats sont comparables chez les mâles et les femelles, bien que les temps létaux soient un peu plus élevés chez les femelles que chez les mâles (Tab. 59).

Tableau 59 : Temps létaux des extraits aqueux de feuilles de *P. harmala*

Concentration	Mâles		
	Droite de regression	TL50 (j)	TL90 (j)
300µg/ml	Y= 3,86 + 0,35 X R <sup>2</sup> = 1,00	1,82*10 <sup>3</sup>	1,13*10 <sup>6</sup>
700µg/ml	Y= 2,63 + 1,49 X R <sup>2</sup> = 1,00	38,90	2,81*10 <sup>2</sup>
1000µg/ml	Y= 2,03 + 2,84 X R <sup>2</sup> = 0,99	11,22	31,62
Concentration	Femelles		
	Droite de regression	TL50 (j)	TL90 (j)
300µg/ml	Y= 3,51 + 0,27 X R <sup>2</sup> = 0,77	3,31*10 <sup>5</sup>	1,82*10 <sup>10</sup>
700µg/ml	Y= 2,51 + 1,33 X R <sup>2</sup> = 0,88	74,13	6,76*10 <sup>2</sup>
1000µg/ml	Y= 2,46 + 1,85 X R <sup>2</sup> = 0,87	23,44	1,14*10 <sup>2</sup>

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des concentrations]

### 3.2.1.2. Effets du traitement par une concentration sublétales (300 µg/ml) sur le comportement de *B. germanica* :

#### Sur le comportement sexuel :

L'effet différé d'une concentration sublétales des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) a été évalué sur l'ensemble des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez les adultes de *B. germanica*.

Les résultats consignés dans les tableaux 60 résument les différents pourcentages enregistrés tout au long des tests d'accouplement (individus âgés de 8 jours).

Dans les couples où le mâle est témoin et la femelle est traitée (n=10), nous avons enregistré 2 accouplements réussis, 8 accouplements nul (aucune tentative d'accrochage de la femelle par le mâle, l'accouplement final n'a pas eu lieu). C'est le même cas quand il s'agit des couples où les mâles sont traités ; le taux d'accouplement réussi ne dépasse pas les 10% (Tab. 60).

Tableau 60 : Effet d'une concentration sublétales des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez *B. germanica*, (n=10)

	Contacts	Vibrations	Léchages	Tentatives	Accouplement réussi
♂Tm x ♀Tm	100	100	100	100	80
♂Tm x ♀Tr	100	90	40	20	20
♂Tr x ♀Tm	100	40	20	10	10
♂Tr x ♀Tr	100	30	0	0	0

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

À la concentration de 300 µg/ml, il semble que les feuilles de *P. harmala* n'aient que très peu d'effets sur les contacts antennaires (**Tab. 61**). Tous les couples testés arrivent à établir un premier contact antennaire. Cependant, nous pouvons remarquer que dès qu'un des individus est traité, le temps de premier contact augmente fortement (du simple au double avec  $F_{\text{obs}} = 6,08$  et  $p = 0,002$ ) (**Tab. 61**).

Les résultats obtenus (**Tab. 61**) relèvent que le nombre moyen de parades observé se répète 4 fois si les individus mâles et femelles ne sont pas traités (couple témoin). Cependant, il dépasse les 16,89 fois dans le cas où des mâles témoins et des femelles traitées ; cette dernière ne montrent aucune réceptivité envers eux. De plus, le traitement augmente fortement le temps mis par les mâles pour parader. Au seuil de significativité  $\alpha = 0,05$ , la comparaison des variances montre qu'il existe des différences hautement significatives entre le temps et le nombre des parades enregistrés chez les quatre types de couples étudiées, sont  $F_{\text{obs}} = 3,78$  ;  $p = 0,0004$  et  $F_{\text{obs}} = 4,45$  ;  $p = 0,01$  respectivement (**Tab. 61**).

Toute fois, le temps que mettent les femelles pour qu'elles lèchent les sécrétions des mâles, ainsi celui que prennent les mâles pour les accrocher et tentent à s'accoupler, augmentent fortement chez les couples, où l'un des deux individus est traité. Cependant, le nombre de chaque séquence comportementale diminue par rapport aux témoins (**Tab. 61**).

La latence d'accouplement diffère selon les insectes étudiés ( $F_{\text{obs}} = 32,34$  ;  $p = 0,0003$ ). La durée d'accouplement, temps nécessaire pour que la femelle soit fécondée, diminue fortement lorsque le mâle est traité (829 secondes) comparativement aux témoins, qu'ils prennent entre 3138,63 à 4325 secondes ( $F_{\text{obs}} = 14,50$  ;  $p = 0,004$ ) (**Tab. 61**).

**Tableau 61 : Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=10), (Moy ± SEM)**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>a</b>	22,1 ± 5,49	33,4 ± 10,06	22,3 ± 2,31	40 ± 10,76	<b>6,08</b>	<b>0,002**</b>
<b>b</b>	103,7 ± 16,59	219,56 ± 64,81	85 ± 33,79	314,67 ± 105,49	<b>3,78</b>	<b>0,0004***</b>
<b>c</b>	4 ± 0,60	16,89 ± 1,49	7,75 ± 2,21	1,33 ± 0,33	<b>4,45</b>	<b>0,01*</b>
<b>d</b>	193,2 ± 24,88	226,75 ± 68,49	264,5 ± 24,5	-	<b>1,29</b>	<b>0,31</b>
<b>e</b>	7,1 ± 0,50	7 ± 1,68	2,5 ± 0,5	-	<b>2,43</b>	<b>0,13</b>
<b>f</b>	285,8 ± 38,34	390 ± 70	378 ± -	-	<b>1,33</b>	<b>0,31</b>
<b>g</b>	3,9 ± 0,71	3,5 ± 0,5	2 ± -	-	<b>5,46</b>	<b>0,09*</b>
<b>h</b>	413 ± 42,58	603,50 ± 308,50	303 ± -	-	<b>32,34</b>	<b>0,0003***</b>
<b>i</b>	3138,63 ± 218,69	4325 ± 943	829 ± -	-	<b>14,50</b>	<b>0,004**</b>

[**a**, Temps de 1<sup>ère</sup> contact ; **b**, Temps de 1<sup>ère</sup> parade ; **c**, Nombre de parades ; **d**, Temps de 1<sup>ère</sup> léchage ; **e**, Nombre de léchages ; **f**, Temps de 1<sup>ère</sup> tentative ; **g**, Nombre de tentatives ; **h**, Latence d'accouplement ; **i**, Durée d'accouplement ; ♂, Mâle ; ♀, Femelle ; **Tm**, Témoin ; **Tr**, Traité ; **Moy**, Moyenne ; **SEM**, Ecart type de la moyenne ; \*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

La série des tests des accouplements lors du traitement avec l'extrait aqueux des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml), nous a permis de récupérer 3 oothèques quand l'un des deux sexes est traité et 10 oothèques quand il s'agit des couples témoins (**Tab. 62**).

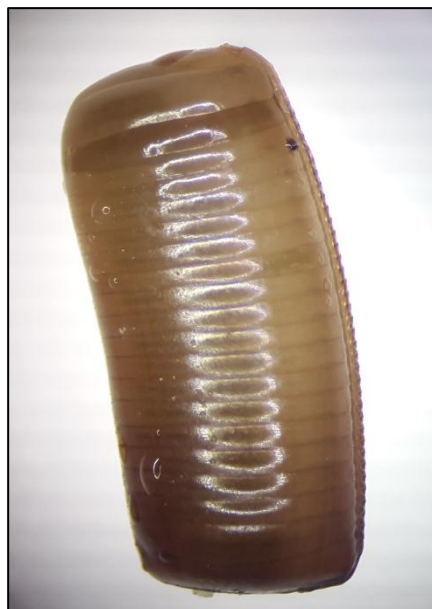
Chez les couples traités, les femelles mettent entre 33 à 37,5 jours pour déposer leur oothèque qui arrive à l'éclosion après 1 ou 2 jours pour libérer entre 11 à 21,5 larves de premier stade en moyenne (**Tab. 62**). Les femelles témoins mettent 25,9 ± 2,32 jours pour libérer l'oothèque qui contient en moyenne 24,40 ± 2,73 larves de *B. germanica* (**Tab. 62**).

**Tableau 62 : Effet de l'extrait aqueux des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) sur la fertilité des oothèques**

	N	Durée d'incubation (jours)	Eclosion (jours)	Nombre des Larves
♂Tm x ♀Tm	8	25,9 ± 2,32	1	29,7 ± 2,16
♂Tm x ♀Tr	2	37,5 ± 2,5	2	21,5 ± 2,5
♂Tr x ♀Tm	1	33 ± -	1	11 ± -
♂Tr x ♀Tr	0	-	-	-

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; **Tm**, Témoin ; **Tr**, Traité]

Nous avons également enregistré des différences morphologiques entre les œufs témoins et celles traitées (taille, forme et couleur) suite au traitement à l'extrait aqueux des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) (**Fig. 54**).



(A) *Témoin*



(B) *Traités*

**Figure 54.** Effet d'une concentration sub létale d'extrait aqueux de feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) sur les œufs pondus chez *B. germanica*, (x 4,5) (Photos originales)

**Sur le comportement grégaire :**

Les tests de l'attraction à distance en olfactomètre bidirectionnel indiquent les effets de produit, cas de l'extrait aqueux des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml), sur l'attractivité des adultes, non seulement sur la perception mais aussi sur le signal chimique.

Comme le montrent nos résultats (**Tab. 63**), plus de 86,67% des mâles témoins sont attirés par les extraits de femelles témoins et 93,33% par les extraits de mâles témoins. Aussi, les femelles témoins sont attirées significativement par l'odeur des extraits de leurs congénères témoins (93,33% avec une  $p = 1$ ) (**Tab. 63**).

Les extraits des adultes traités aux feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml) (mâle, femelle) n'attirent pas significativement les adultes, quelques soient témoins ou traités (**Tab. 63**). L'attractivité la plus faible est enregistrée chez les femelle traitées avec l'extrait du mâle traité ; elle ne dépasse pas 33,33% (**Tab. 63**).

**Tableau 63 : Taux d'attractivité des adultes de *B. germanica* traités avec une concentration sublétales des feuilles de *P. harmala* (300 µg/ml)**

Insectes testés		Extraits			
		♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr
♂ Tm	A	93,33%	33,33%	86,67%	40%
	NA	6,67%	66,67%	13,33%	60%
	<i>p</i>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>0,993 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♂ Tr	A	66,67%	60%	53,33%	53,33%
	NA	33,33%	40%	46,67%	46,67%
	<i>P</i>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♀ Tm	A	93,33%	53,33%	93,33%	53,33%
	NA	6,67%	46,67%	6,67%	46,67%
	<i>p</i>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♀ Tr	A	53,33%	33,33%	40%	66,67%
	NA	46,67%	66,67%	60%	33,33%
	<i>p</i>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; A, Attiré ; NA, Non attiré ; S, Significative ; NS, Non significative]

Comparativement aux témoins, les adultes traités mettent significativement beaucoup plus de temps à localiser la source de l'odeur provenant des mâles et femelles, témoins ou traités, lorsque les extraits sont réalisés à l'hexane (**Tab. 64**). D'une façon générale, tous les insectes testés mettent plus de temps à détecter l'odeur provenant d'un extrait des adultes traités (**Tab. 64**).

En ce qui concerne les insectes témoins (mâles et femelles), il existe des différences significatives entre les temps moyens de détection enregistrés pour des quatre extraits utilisées ( $F_{\text{obs}} = 4,09$  ;  $p = 0,01$  et  $F_{\text{obs}} = 5,86$  ;  $p = 0,001$ ) (**Tab. 64**). De plus, au sein de même extrait utilisé (cas de mâle témoin, femelle témoin et traitée), nous avons enregistré des différences significatives (**Tab. 64**).

**Tableau 64 : Temps moyens de détection (TD), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy  $\pm$  SEM), (n = 15) :**

Insectes testés	Extraits				$F_{\text{obs}}$	$p$
	♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr		
♂ Tm	4,4 $\pm$ 0,43	10,4 $\pm$ 1,14	4,53 $\pm$ 0,39	9,87 $\pm$ 0,95	<b>4,09</b>	<b>0,01*</b>
♂ Tr	13,87 $\pm$ 2,48	10 $\pm$ 2,48	10,66 $\pm$ 1,90	11,6 $\pm$ 2,14	<b>0,16</b>	<b>0,93</b>
♀ Tm	3,73 $\pm$ 0,58	10,4 $\pm$ 2,93	3,6 $\pm$ 0,57	8,2 $\pm$ 1,17	<b>5,86</b>	<b>0,001**</b>
♀ Tr	9,47 $\pm$ 1,60	10,13 $\pm$ 1,55	9,8 $\pm$ 1,43	10,66 $\pm$ 1,98	<b>0,16</b>	<b>0,92</b>
$F_{\text{obs}}$	<b>3,36</b>	<b>3,36</b>	<b>6,79</b>	<b>2,43</b>		
$p$	<b>0,003**</b>	<b>0,17</b>	<b>0,001**</b>	<b>0,08</b>		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; \*, Significatif, \*\*, Hautement significatif]

Les adultes témoins mettent significativement moins de temps (2 secondes en moyenne) pour arriver à la source odorante que les traités, lorsque les extraits testés de mâles et de femelles témoins ont été faits à l'hexane (**Tab. 65**). Tous les insectes mettent un temps plus ou moins élevé pour qu'ils arrivent au contact avec le papier contenant l'odeur des mâles et femelles traités (**Tab. 65**).

En ce qui concerne les adultes traités, aucune différence significative n'a pu être mise en évidence entre les quatre extraits réalisés (**Tab. 65**).

**Tableau 65 : Temps moyens d'arriver (TA), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy  $\pm$  SEM), (n = 15) :**

Insectes testés	Extraits				$F_{\text{obs}}$	$p$
	♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr		
♂ Tm	2 $\pm$ 0,21	4 $\pm$ 0,32	2 $\pm$ 0,20	4,5 $\pm$ 0,73	<b>5,91</b>	<b>0,002**</b>
♂ Tr	3,4 $\pm$ 0,43	3,78 $\pm$ 0,52	4,13 $\pm$ 0,30	3,88 $\pm$ 0,64	<b>0,50</b>	<b>0,69</b>
♀ Tm	1,71 $\pm$ 0,22	3,75 $\pm$ 0,65	1,71 $\pm$ 0,22	3,88 $\pm$ 0,40	<b>3,42</b>	<b>0,03*</b>
♀ Tr	3,5 $\pm$ 0,73	4,6 $\pm$ 0,6	4 $\pm$ 0,86	7,2 $\pm$ 1,46	<b>1,46</b>	<b>0,26</b>
$F_{\text{obs}}$	<b>3,32</b>	<b>1,52</b>	<b>2,20</b>	<b>2,75</b>		
$p$	<b>0,02*</b>	<b>0,24</b>	<b>0,10</b>	<b>0,06</b>		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; \*, Significatif, \*\*, Hautement significatif]



### 3.2.2. Effets des extraits aqueux des graines de *P. harmala* sur la blatte :

#### 3.2.2.1. Essai insecticide à l'égard des adultes :

Nous avons testé l'activité de diverses concentrations de graines de *P. harmala* à la décoction sur la mortalité des mâles et des femelles âgés après 7, 15 et 30 jours d'exposition.

Comme le montrent nos résultats (**Tab. 66**), les taux de mortalité mâles sont très variables, non seulement en fonction du temps de traitement, mais également en fonction de sa concentration.

À 300 µg/ml, la mortalité moyenne passe de 3,3% (7 j) à 50% (30 j), alors qu'à 500 et 700 µg/ml, les résultats obtenus sont comparables : le taux de mortalité minimum observé des mâles est de 23,3% à 7 jours (500 µg/ml) et le taux maximum est d'environ 86,7% à 30 jours a été enregistré avec la concentration la plus élevée, 700 µg/ml (**Tab. 66**).

Au seuil de significativité  $\alpha = 0,05$ , la comparaison des variances indique l'existence des différences significatives entre les différents taux de mortalité enregistrés pour les quatre concentrations au bout de 15 et 30 jours (**Tab. 66**).

**Tableau 66 : Taux de mortalité des mâles de *B. germanica* traités par les extraits aqueux des graines de *P. harmala***

	7j	15j	30j	F <sub>obs</sub>	p
300µg/ml	3,3%	20%	50%	1,12	0,38
500µg/ml	23,3%	50%	63,3%	1,25	0,35
750µg/ml	26,7%	60%	86,7%	1,65	0,27
F <sub>obs</sub>	2,15	5,57	4,18		
p	0,20	0,04*	0,07		

[\* : Significatif]

Le tableau 67 résume les différents taux de mortalité enregistrés pour les femelles. Une mortalité de 50% a été obtenue à la concentration de 300 µg/ml en 30 jours. L'effet des concentrations de 500 et 700 µg/ml sont comparables ; 36,7 à 40% des femelles meurent en 7 jours et environ 53,3% au bout de 30 jours (**Tab. 67**).

La comparaison des variances des différentes concentrations utilisées montre qu'il n'existe pas des différences significatives entre la mortalité enregistrée pour les quatre concentrations, pour la période correspondant à 30 jours de traitement, et que seule la concentration de 700 µg/ml montre des résultats significatifs au cours du temps (F<sub>obs</sub> = 7,38 ; p = 0,02) (**Tab. 67**).

**Tableau 67 : Taux de mortalité des femelles de *B. germanica* traitées par les extraits aqueux des graines de *P. harmala***

	7j	15j	30j	F <sub>obs</sub>	p
300µg/ml	6,67%	16,7%	50%	<b>0,10</b>	<b>0,91</b>
500µg/ml	13,33%	36,7%	53,3%	<b>0,37</b>	<b>0,70</b>
750µg/ml	6,67%	40 %	53,3%	<b>7,38</b>	<b>0,02*</b>
F <sub>obs</sub>	<b>0,30</b>	<b>0,66</b>	<b>0,79</b>		
p	<b>0,75</b>	<b>0,55</b>	<b>0,49</b>		

[\* : Significatif]

Les concentrations létales de graines de *P. harmala* calculées pour 7, 15 et 30 jours d'exposition sont résumées dans le tableau 68. Comme le montrent nos résultats, les mâles sont, d'une façon générale, plus sensibles aux graines que les femelles à 7 et 15 jours. À 30 jours, les valeurs des CL90 sont plus élevées chez les mâles que chez les femelles (entre  $9,33 \cdot 10^2$  et  $3,02 \cdot 10^8$  µg/ml) (Tab. 68).

**Tableau 68 : Concentrations létales des extraits aqueux des graines de *P. harmala***

Temps d'exposition	Mâles		
	Droite de regression	CL50 (µg/ml)	CL90 (µg/ml)
7j	Y= -4,51 + 3,15 X R <sup>2</sup> = 0,87	<b>1,05*10<sup>3</sup></b>	<b>2,69*10<sup>3</sup></b>
15j	Y= -2,67 + 2,78 X R <sup>2</sup> = 0,95	<b>5,75*10<sup>2</sup></b>	<b>1,66*10<sup>3</sup></b>
30j	Y= -1,86 + 2,74 X R <sup>2</sup> = 0,92	<b>5,16*10<sup>2</sup></b>	<b>9,33*10<sup>2</sup></b>
Temps d'exposition	Femelles		
	Droite de regression	CL50 (µg/ml)	CL90 (µg/ml)
7j	Y= 3,42 + 0,08 X R <sup>2</sup> = 0,01	<b>5,62*10<sup>19</sup></b>	<b>5,62*10<sup>35</sup></b>
15j	Y= -0,49 + 1,85X R <sup>2</sup> = 0,89	<b>9,33*10<sup>2</sup></b>	<b>4,57*10<sup>3</sup></b>
30j	Y= 4,50 + 0,21 X R <sup>2</sup> = 0,81	<b>2,39*10<sup>2</sup></b>	<b>3,02*10<sup>8</sup></b>

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des temps]

En ce qui concerne les temps létaux, il existe une bonne corrélation positive entre la mortalité des adultes due à un accroissement de la concentration de graines de *P. harmala* et le temps d'exposition puisque le coefficient de corrélation varie entre 0,97 à 1 chez les mâles et entre 0,96 à 0,99 (Tab. 69). Plus les concentrations de la décoction de graines de *P. harmala* augmentent plus les temps létaux diminuent et ce, aussi bien chez les mâles que chez les femelles (Tab. 69).

Tableau 69 : Temps létaux des extraits aqueux de graines de *P. harmala*

Concentration	Mâles		
	Droite de regression	TL50 (j)	TL90 (j)
300µg/ml	Y= 0,71 + 2,91 X R <sup>2</sup> =1,00	29,51	81,28
500µg/ml	Y= 2,88 + 1,70 X R <sup>2</sup> =0,97	17,78	100
750µg/ml	Y= 2,06 + 2,74 X R <sup>2</sup> =1,00	11,57	34,67
Concentration	Femelles		
	Droite de regression	TL50 (j)	TL90 (j)
300µg/ml	Y= 1,42 + 2,36 X R <sup>2</sup> =0,96	33,11	114,82
500µg/ml	Y= 2,34 + 1,89 X R <sup>2</sup> =0,98	25,70	120,23
750µg/ml	Y= 1,32 + 2,50 X R <sup>2</sup> =0,99	29,51	95,90

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des concentrations]

### 3.2.2.2. Effets du traitement par une concentration sublétales (300 µg/ml) sur le comportement de *B. germanica* :

#### Sur le comportement sexuel :

Les résultats montrent que le taux d'accouplement réussi chez les témoins est égal à 80% (Tab. 70). Cependant, l'extrait aqueux de graines de *P. harmala*, administré à une concentration sublétales de 300 µg/ml, perturbe profondément le déroulement du comportement sexuel chez *B. germanica*. Certaines séquences comportementales (parades, léchages et tentatives) ne sont pas observées (Tab. 70), ce qui a pour conséquences de supprimer l'accouplement potentiel et ce, quelle que soit le sexe traité au sein d'un couple (taux d'avortement est égale à 100%) (Tab. 70).

Tableau 70 : Effet d'une concentration sublétales des graines de *P. harmala* (300 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez *B. germanica*, (n=10)

	Contacts	Vibrations	Léchages	Tentatives	Accouplement réussi
♂Tm x ♀Tm	100	100	100	100	80
♂Tm x ♀Tr	100	0	0	0	0
♂Tr x ♀Tm	100	0	0	0	0
♂Tr x ♀Tr	100	0	0	0	0

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

De plus, le temps moyen enregistré pour que les mâles aboutissent au premier contact avec leurs femelles, augmente fortement ( $47,70 \pm 6,11$  à  $82,10 \pm 19,19$  secondes) chez les couples où au moins un des deux individus ou tout les deux sont traités, par rapport à celui

enregistré chez les témoins (seulement  $22,1 \pm 5,49$  secondes) (**Tab. 71**). L'analyse des variances montre qu'il existe des différences hautement significatives ( $F_{\text{obs}} = 5,88$  ;  $p = 0,002$ ) (**Tab. 71**).

**Tableau 71 : Effet du traitement sur le nombre de répétition et le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=10), (Moy  $\pm$  SEM)**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>a</b>	22,1 $\pm$ 5,49	54,80 $\pm$ 6,13	47,70 $\pm$ 6,11	82,10 $\pm$ 19,19	<b>5,88</b>	<b>0,002**</b>
<b>b</b>	103,7 $\pm$ 16,59	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-	-
<b>c</b>	4 $\pm$ 0,60	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-	-
<b>d</b>	193,2 $\pm$ 24,88	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-	-
<b>e</b>	7,1 $\pm$ 0,50	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-	-
<b>f</b>	285,8 $\pm$ 38,34	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-	-
<b>g</b>	3,9 $\pm$ 0,71	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-	-
<b>h</b>	413 $\pm$ 42,58	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-	-
<b>i</b>	3138,63 $\pm$ 218,69	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-	-
<b>j</b>	22,1 $\pm$ 5,49	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	0 $\pm$ 0	-	-

[**a**, Temps de 1<sup>er</sup> contact ; **b**, Temps de 1<sup>ère</sup> parade ; **c**, Nombre de parades ; **d**, Temps de 1<sup>er</sup> léchage ; **e**, Nombre de léchages ; **f**, Temps de 1<sup>ère</sup> tentative ; **g**, Nombre de tentatives ; **h**, Latence d'accouplement ; **i**, Durée d'accouplement ; ♂, Mâle ; ♀, Femelle ; **Tm**, Témoin ; **Tr**, Traité ; **Moy**, Moyenne ; **SEM**, Ecart type de la moyenne ; **\*\***, Hautement significatif]

### Sur le comportement grégaire :

Les tests olfactométriques montrent que les extraits témoins attirent de façon significative les mâles et les femelles non traités (de 86,67 à 93,33%,  $p = 1$ ) (**Tab. 72**). Tandis que, l'attraction ne dépasse pas les 20% en présence d'odeurs des individus traités (**Tab. 72**).

Dans l'autre coté, les adultes traités présentent une très faible réaction positive (6,67% à 20%) voir nulle (0%) vis-à-vis les quatre odeurs testées (**Tab. 72**). L'analyse de Monté Carlo ne montre pas des différences significatives entre les taux d'attractivité ( $p < 0,915$ ) (**Tab. 72**).

**Tableau 72 : Taux d'attractivité des adultes de *B. germanica* traités avec une concentration sublétales des graines de *P. harmala* (300 µg/ml)**

Insectes testés		Extraits			
		♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr
♂ Tm	A	93,33%	20%	86,67%	0%
	NA	6,67%	80%	13,33%	100%
	<i>p</i>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>0,993 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♂ Tr	A	20%	6,67%	6,67%	6,67%
	NA	80%	93,33%	93,33%	93,33%
	<i>P</i>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♀ Tm	A	93,33%	6,67%	93,33%	6,67%
	NA	6,67%	93,33%	6,67%	93,33%
	<i>p</i>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♀ Tr	A	20%	20%	6,67%	0%
	NA	80%	80%	93,33%	100%
	<i>p</i>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; A, Attiré ; NA, Non attiré ; S, Significative ; NS, Non significative]

À l'exposition de l'odeur du mâle et femelle témoins, les adultes témoins mettent seulement de 3,73 à 4,4 secondes et de 3,6 à 4,53 secondes, respectivement, pour effectuer un choix (Tab. 73). Cependant, ils mettent plus de 7,93 à 13,67 secondes et de 13,13 à 11,07 secondes à la présence de celle de leurs congénères traités (Tab. 73).

En ce qui concerne les adultes traités, quel que soit le stimulus, les temps moyens mesurés sont significativement différents ( $F_{obs} = 5,83$ ,  $p = 0,002$  des mâles et  $F_{obs} = 3,23$ ,  $p = 0,03$  des femelles) (Tab. 73). De même, leur attraction est toujours plus lente en comparant à celle des adultes témoins (Tab. 73).

**Tableau 73 : Temps moyens de détection (TD), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15) :**

Insectes testés	Extraits				$F_{obs}$	<i>p</i>
	♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr		
♂ Tm	4,4 ± 0,43	13,67 ± 2,05	4,53 ± 0,39	11,07 ± 1,52	<b>8,53</b>	<b>0,0001***</b>
♂ Tr	10,8 ± 0,81	16,47 ± 2,55	10,87 ± 1,71	13,13 ± 1,27	<b>5,83</b>	<b>0,002**</b>
♀ Tm	3,73 ± 0,58	7,93 ± 0,89	3,6 ± 0,57	13,13 ± 0,57	<b>0,43</b>	<b>0,73</b>
♀ Tr	9,93 ± 0,65	11,67 ± 1,35	10,93 ± 1,19	13,13 ± 0,84	<b>3,23</b>	<b>0,03*</b>
$F_{obs}$	<b>1,50</b>	<b>5,87</b>	<b>5,57</b>	<b>2,09</b>		
<i>p</i>	<b>0,22</b>	<b>0,001**</b>	<b>0,002**</b>	<b>0,11</b>		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; \*, Significatif, \*\*, Hautement significatif, \*\*\*, Très hautement significatif]

Les adultes témoins se comportent de la même façon vis-à-vis les différents extraits. Les temps moyens sont significativement différents ( $F_{\text{obs}} = 49,82$  ;  $p < 0,0001$  des mâles et  $F_{\text{obs}} = 2,41$  ;  $p = 0,09$  des femelles) (**Tab. 74**). Ils se déplacent toujours plus vite vers les extraits témoins et passent une durée de temps assez longue pour arriver aux extraits traités (**Tab. 74**).

Par contre, l'odeur des congénères n'exerce pas un effet attractif marqué sur les adultes traités, qui arrivent plus lent au contact avec chaque source odorante testée (**Tab. 74**).

**Tableau 74 : Temps moyens d'arriver (TA), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy  $\pm$  SEM), (n = 15) :**

Insectes testés	Extraits				F	p
	♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr		
♂ Tm	2 $\pm$ 0,21	6,33 $\pm$ 1,21	2 $\pm$ 0,20	16,33 $\pm$ 6,84	<b>49,82</b>	<b>0,0001***</b>
♂ Tr	7 $\pm$ 3	8 $\pm$ -	5 $\pm$ -	8 $\pm$ 2,08	<b>1,72</b>	<b>0,39</b>
♀ Tm	1,71 $\pm$ 0,22	5 $\pm$ -	1,71 $\pm$ 0,22	5 $\pm$ 1,35	<b>2,41</b>	<b>0,09</b>
♀ Tr	-	5 $\pm$ -	6 $\pm$ -	-	<b>8,16</b>	<b>0,02*</b>
<b>F</b>	<b>27,6</b>	<b>1,72</b>	<b>1,83</b>	<b>8,16</b>		
<b>p</b>	<b>0,0001***</b>	<b>0,39</b>	<b>0,17</b>	<b>0,01*</b>		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; \*, Significatif, \*\*, Hautement significatif, \*\*\*, Très hautement significatif]

### 3.2.3. Effets d'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum* sur la blatte :

#### 3.2.3.1. Essai insecticide à l'égard des adultes :

Le tableau 75 résume les taux de mortalité enregistrés après le 7<sup>ème</sup>, 15<sup>ème</sup> et 30<sup>ème</sup> jour d'exposition aux différentes concentrations d'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum*.

Chez les mâles de *B. germanica*, l'utilisation de la concentration de 300  $\mu\text{g/ml}$  provoque une mortalité de 16,7% après 7 jours d'exposition et augmente en fonction du temps pour atteindre 36,7% après 30 jours (**Tab. 75**). Nous avons enregistré une mortalité de 40% après 15 et 30 jours d'exposition pour la concentration 700  $\mu\text{g/ml}$ . La concentration 1000  $\mu\text{g/ml}$  provoque une mortalité de 30% au bout du 7<sup>ème</sup> jour pour atteindre sa valeur maximale 43,3% au 30<sup>ème</sup> jour. L'analyse des variances montre qu'il n'existe pas des différences significatives entre les taux de mortalité enregistrés au cour du traitement avec les différentes concentrations (**Tab. 75**).

**Tableau 75 : Taux de mortalité des mâles de *B. germanica* traités par les extraits aqueux des feuilles de *D. gniduum***

	<b>7j</b>	<b>15j</b>	<b>30j</b>	<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>p</b>
<b>300µg/ml</b>	16,7%	26,7%	36,7%	<b>0,32</b>	<b>0,74</b>
<b>700µg/ml</b>	3,3%	40%	40%	<b>0,96</b>	<b>0,43</b>
<b>1000µg/ml</b>	30%	40%	43,3%	<b>0,06</b>	<b>0,94</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>3,07</b>	<b>2,99</b>	<b>2,61</b>		
<b>p</b>	<b>0,12</b>	<b>0,13</b>	<b>0,15</b>		

Chez les femelles de la blatte germanique, nous avons enregistré une mortalité de 16,7% seulement avec 300 µg/ml à la fin du test (**Tab. 76**). Au bout du 15<sup>ème</sup> jour, nous avons marqué une mortalité de 13,3% et 23,3% pour les concentrations de 700 µg/ml et 1000 µg/ml, successivement (**Tab. 76**). Le suivi de la mortalité chez les femelles montre qu'elle est en fonction du temps d'exposition aux feuilles de *D. gniduum*. Cependant, elle atteint seulement un taux de 20% et 30% au bout de 30 jours de traitement (**Tab. 76**).

**Tableau 76 : Taux de mortalité des mâles de *B. germanica* traitées par les extraits aqueux des feuilles de *D. gniduum***

	<b>7j</b>	<b>15j</b>	<b>30j</b>	<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>p</b>
<b>300µg/ml</b>	6,67%	6,7%	16,7%	<b>2,37</b>	<b>0,17</b>
<b>700µg/ml</b>	10%	13,3%	20%	<b>6,25</b>	<b>0,03*</b>
<b>1000µg/ml</b>	20%	23,3%	30%	<b>0,43</b>	<b>0,67</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>0,88</b>	<b>1,38</b>	<b>3,24</b>		
<b>p</b>	<b>0,46</b>	<b>0,32</b>	<b>0,11</b>		

[\* : Significatif]

Les calculs des concentrations létales (CL50% et CL90%) chez les individus adultes de *B. germanica* exposés aux extraits de feuilles de *D. gniduum* pendant 15 et 30 jours révèle une corrélation positive entre la mortalité et les concentrations utilisées (**Tab. 77**).

Les calculs des valeurs de CL50% et de CL90% montrent que les femelles résistent plus que les mâles aux différentes concentrations. Chez les mâles, après 30 jours de traitement, la concentration létale de 50% de la population est de  $3,80 \cdot 10^3$  µg/ml et elle est de  $7,24 \cdot 10^{13}$  µg/ml chez les blattes femelles. Toutefois, 90% des blattes peuvent être éliminé avec  $5,13 \cdot 10^7$  à  $8,91 \cdot 10^{19}$  µg/ml au bout de 30 jours de traitement (**Tab. 77**).

**Tableau 77 : Concentrations létales des extraits aqueux des feuilles de *D. gniduum***

Temps d'exposition	Mâles		
	Droite de regression	CL50 (µg/ml)	CL90 (µg/ml)
7j	Y= 3,12 + 0,28 X R <sup>2</sup> = 0,01	5,12*10 <sup>6</sup>	1,94*10 <sup>7</sup>
15j	Y= 2,51 + 0,76 X R <sup>2</sup> = 0,92	1,91*10 <sup>3</sup>	9,12*10 <sup>4</sup>
30j	Y= 3,89 + 0,31 X R <sup>2</sup> = 0,96	3,80*10 <sup>3</sup>	5,13*10 <sup>7</sup>
Temps d'exposition	Femelles		
	Droite de regression	CL50 (µg/ml)	CL90 (µg/ml)
7j	Y= 0,57 + 1,16 X R <sup>2</sup> = 0,84	6,60*10 <sup>3</sup>	8,32*10 <sup>4</sup>
15j	Y= 0,01 + 1,40 X R <sup>2</sup> = 0,95	3,63*10 <sup>3</sup>	3,02*10 <sup>4</sup>
30j	Y= 2,09 + 0,21 X R <sup>2</sup> = 0,79	7,24*10 <sup>13</sup>	8,91*10 <sup>19</sup>

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des temps]

En ce qui concerne les temps létaux (**Tab. 78**), nos résultats révèlent qu'à des concentrations de 300 µg/ml, 700 µg/ml et 1000 µg/ml, il faut beaucoup plus de temps pour obtenir 50 à 90% de mortalité chez les femelles, comparativement aux mâles. Pour les trois concentrations de feuilles de *D. gniduum* utilisées, les résultats montrent qu'il existe une forte corrélation positive entre les taux de mortalité et les temps d'exposition (R<sup>2</sup> est de 0,77 à 1 chez les mâles et de 0,73 à 0,96) (**Tab. 78**).

**Tableau 78 : Temps létaux des extraits aqueux des feuilles de *D. gniduum***

Concentration	Mâles		
	Droite de regression	TL50 (j)	TL90 (j)
300µg/ml	Y= 3,19 + 1 X R <sup>2</sup> = 1,00	64,67	1230,27
700µg/ml	Y= 1,24 + 2,55 X R <sup>2</sup> = 0,77	29,51	95,50
1000µg/ml	Y= 4,04 + 0,56 X R <sup>2</sup> = 0,93	51,29	10000
Concentration	Femelles		
	Droite de regression	TL50 (j)	TL90 (j)
300µg/ml	Y= 2,71 + 0,82 X R <sup>2</sup> = 0,73	616,60	22387,21
700µg/ml	Y= 3,12 + 0,69 X R <sup>2</sup> = 0,89	524,81	380189,94
1000µg/ml	Y= 3,71 + 0,51 X R <sup>2</sup> = 0,96	338,84	109647,82

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des concentrations]

### 3.2.3.2. Effets du traitement à une concentration sublétales (300 µg/ml) sur le comportement de *B. germanica* :

#### *Sur le comportement sexuel :*

Chez les insectes témoins, nous avons enregistré 80% d'accouplement réussis, seulement 20% d'accouplements avortés et aucun accouplement nul (**Tab. 79**). Par contre, les couples traités (où les deux partenaires sont traités ou l'un des partenaires est traité) ont subi une



diminution relative dans les vibrations, les léchages et les tentatives d'accouplement. Tous les accouplements observés sont nuls avec un taux de 100% (Tab. 79).

**Tableau 79 : Effet d'une concentration sublétales des feuilles de *D. gniduim* (300 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez *B. germanica*, (n=10)**

	Contacts	Vibrations	Léchages	Tentatives	Accouplement réussi
♂Tm x ♀Tm	100	100	100	100	80
♂Tm x ♀Tr	100	20	10	0	0
♂Tr x ♀Tm	100	10	10	0	0
♂Tr x ♀Tr	100	0	0	0	0

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Bien que les temps de premier contact soient moins élevés dans un couple où un, ou les deux individus sont traités, par rapport aux valeurs observées chez les témoins. L'analyse des variances montre qu'il n'existe pas des différences significatives (Tab. 80). De plus, une augmentation a été enregistré en ce qui concerne du temps nécessaire pour que les mâles paradent ( $F_{obs} = 103,38$  ;  $p < 0,0001$ ) et que les femelles lèchent les sécrétions abdominaux de ces derniers ( $F_{obs} = 1,58$  ;  $p = 0,26$  (Tab. 80). Le nombre de répétition de chaque séquence comportementale diffère au sein d'un croisement à un autre (Tab. 80).

**Tableau 80 : Effet du traitement sur le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>a</b>	22,1 ± 5,49	35,5 ± 5,92	46,8 ± 7,38	48,6 ± 8,14	<b>0,55</b>	<b>0,65</b>
<b>b</b>	103,7 ± 16,59	567 ± 357	168 ± -	-	<b>103,38</b>	<b>0,0001***</b>
<b>c</b>	4 ± 0,60	1,5 ± 0,5	7 ± -	-	<b>3,02</b>	<b>0,09</b>
<b>d</b>	193,2 ± 24,88	240 ± -	455 ± -	-	<b>1,58</b>	<b>0,26</b>
<b>e</b>	7,1 ± 0,50	1 ± -	2 ± -	-	<b>0,91</b>	<b>0,44</b>
<b>f</b>	285,8 ± 38,34	-	-	-	-	-
<b>g</b>	3,9 ± 0,71	-	-	-	-	-
<b>h</b>	413 ± 42,58	-	-	-	-	-
<b>i</b>	3138,63 ± 218,69	-	-	-	-	-
<b>j</b>	22,1 ± 5,49	-	-	-	-	-

[**a**, Temps de 1<sup>ier</sup> contact ; **b**, Temps de 1<sup>ière</sup> parade ; **c**, Nombre de parades ; **d**, Temps de 1<sup>ier</sup> léchage ; **e**, Nombre de léchages ; **f**, Temps de 1<sup>ière</sup> tentative ; **g**, Nombre de tentatives ; **h**, Latence d'accouplement ; **i**, Durée d'accouplement ; ♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; Moy, Moyenne ; SEM, Ecart type de la moyenne ; \*, Significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

**Sur le comportement grégaire :**

Selon le test de Monte Carlo, l'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml) agit mieux sur l'attractivité des adultes témoins et traités (**Tab. 81**).

Tous les extraits utilisés n'attirent pas significativement les adultes traités par l'extrait utilisé ( $p < 0,915$ ), le taux d'attractivité ne dépasse pas les 53,33% dans le meilleur des cas (**Tab. 81**). Nos résultats montrent, aussi, que tous les adultes témoins sont attirés significativement par les extraits de leurs congénères témoins (entre 86,67 à 93,33% avec une valeur de  $p = 1$ ) (**Tab. 81**). Cette attractivité diminue quand il s'agit des extraits, de mâle et de femelle traités, faits à l'hexane (**Tab. 81**).

**Tableau 81 : Taux d'attractivité des adultes de *B. germanica* traités avec une concentration sublétales des feuilles de *D. gniduum* (300 µg/ml)**

Insectes testés		Extraits			
		♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr
♂ Tm	A	93,33%	6,67%	86,67%	40%
	NA	6,67%	93,33%	13,33%	60%
	<i>p</i>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>0,993 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♂ Tr	A	46,67%	33,33%	40%	53,33%
	NA	53,33%	66,67%	60%	46,67%
	<i>p</i>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♀ Tm	A	93,33%	33,33%	93,33%	26,67%
	NA	6,67%	66,67%	6,67%	73,33%
	<i>p</i>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♀ Tr	A	50%	26,67%	33,33%	40%
	NA	50%	73,33%	66,67%	60%
	<i>p</i>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; S, Significatif, NS, Non significatif]

L'odeur des congénères témoins n'exerce pas un effet attractif marqué sur les mâles et femelles traités, qui passent une durée de temps assez longue pour la détecter (respectivement de 6 à 8,33 secondes pour l'extrait de mâle et de 7,73 à 8,93 secondes pour l'extrait femelle) (**Tab. 82**).

Quelque soit le stimulus, les temps moyens mesurés chez les insectes témoins sont significativement différents ( $F_{obs} = 2,28$  ;  $p = 0,09$  des mâles et  $F_{obs} = 5,16$  ;  $p = 0,003$  des femelles) (**Tab. 82**). Ils se déplacent plus rapidement vers les extraits d'adultes témoins et beaucoup plus lentement vers les extraits d'adultes traités (**Tab. 82**).

**Tableau 82 : Temps moyens de détection (TD), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15) :**

Insectes testés	Extraits				F <sub>obs</sub>	p
	♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr		
♂ Tm	4,4 ± 0,43	9,13 ± 0,77	4,53 ± 0,39	6,8 ± 0,60	<b>2,28</b>	<b>0,09</b>
♂ Tr	6 ± 0,35	7,73 ± 1,08	7,73 ± 1,09	8 ± 1,10	<b>2,01</b>	<b>0,12</b>
♀ Tm	3,73 ± 0,58	9,47 ± 1,12	3,6 ± 0,57	6 ± 0,49	<b>5,16</b>	<b>0,003**</b>
♀ Tr	8,33 ± 1,10	8,4 ± 1	8,93 ± 1,32	6,07 ± 0,28	<b>2,68</b>	<b>0,06</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>2,80</b>	<b>0,47</b>	<b>2,14</b>	<b>5,19</b>		
<b>p</b>	<b>0,05*</b>	<b>0,70</b>	<b>0,11</b>	<b>0,003**</b>		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; \*, Significatif, \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

Bien que ces durées soient peu différentes, les insectes témoins arrivent plus rapidement au contact avec la source des extraits témoins que les traités (Tab. 83). De plus, au sein du même groupe (insectes témoins), on enregistre des différences hautement significatives entre les temps moyen d'arriver envers les quatre extraits testés (F<sub>obs</sub>= 7,53 ; p = 0,0005 et F<sub>obs</sub>= 2,81 ; p = 0,05) (Tab. 83).

**Tableau 83 : Temps moyens d'arriver (TA), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15) :**

Insectes testés	Extraits				F <sub>obs</sub>	p
	♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr		
♂ Tm	2 ± 0,21	3,71 ± 0,42	2 ± 0,20	5,17 ± 0,95	<b>7,53</b>	<b>0,0005***</b>
♂ Tr	2 ± -	4,6 ± 0,98	4,6 ± 0,93	5,25 ± 0,95	<b>1,22</b>	<b>0,35</b>
♀ Tm	1,71 ± 0,22	5,67 ± 0,61	1,71 ± 0,22	4,4 ± 0,93	<b>2,81</b>	<b>0,05*</b>
♀ Tr	3,33 ± 0,42	5,38 ± 1,05	3,5 ± 0,29	3,16 ± 0,17	<b>2,99</b>	<b>0,06</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>1,01</b>	<b>1,55</b>	<b>4,29</b>	<b>2,99</b>		
<b>p</b>	<b>1,00</b>	<b>0,23</b>	<b>0,01*</b>	<b>0,06</b>		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; \*, Significatif, \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

### 3.2.4. Effets d'extrait aqueux des feuilles de *D. gniduum* sur la blatte :

#### 3.2.4.1. Essai insecticide à l'égard des adultes :

L'utilisation des extraits aqueux des baies de *D. gniduum* contre les mâles de *B. germanica* provoque un taux de mortalité qui varie entre 10% et 70% selon les concentrations et les temps d'exposition (Tab. 84). L'application de 100 et 250 µg/ml induit une mortalité de

26,7 à 30% au bout des 30 jours d'exposition, tandis que la plus forte concentration (500 µg/ml) affiche un taux de mortalité de 13,3% au bout du 7<sup>ème</sup> jour, 56,7% à 15 jours et 70% à 30 jours (**Tab. 84**). Aucune différence significative n'a pu être mise en évidence quelque soit la concentration testée (**Tab. 84**).

**Tableau 84 : Taux de mortalité des mâles de *B. germanica* traités par les extraits aqueux des baies de *D. gniduum***

	<b>7j</b>	<b>15j</b>	<b>30j</b>	<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>p</b>
<b>100µg/ml</b>	10%	13,3%	26,7%	<b>0,47</b>	<b>0,65</b>
<b>250µg/ml</b>	10%	23,3%	30%	<b>0,49</b>	<b>0,63</b>
<b>500µg/ml</b>	13,3%	56,7%	70%	<b>1,61</b>	<b>0,28</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>1,74</b>	<b>0,74</b>	<b>1,45</b>		
<b>p</b>	<b>0,25</b>	<b>0,51</b>	<b>0,31</b>		

Chez les femelles exposées aux extraits aqueux des baies de *D. gniduum*, les taux de mortalité après 7 jours de traitement, varient entre 3,33 et 23,33%. Alors qu'après 30 jours du traitement, l'utilisation de 100, 250 et 500 µg/ml provoque des taux de mortalité de 16,7%, 33,3% et 53,3%, respectivement (**Tab. 85**).

L'analyse statistique des résultats (**Tab. 85**) ne révèle aucune différence significative entre les taux de mortalité enregistrés durant la période de traitement des femelles à l'aide des différentes concentrations.

**Tableau 85 : Taux de mortalité des femelles de *B. germanica* traitées par les extraits aqueux des baies de *D. gniduum***

	<b>7j</b>	<b>15j</b>	<b>30j</b>	<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>p</b>
<b>100µg/ml</b>	3,33%	6,7%	16,7%	<b>2,27</b>	<b>0,18</b>
<b>250µg/ml</b>	3,33%	23,3%	33,3%	<b>1,84</b>	<b>0,24</b>
<b>500µg/ml</b>	23,33%	40%	53,3%	<b>2,58</b>	<b>0,16</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>0,24</b>	<b>2,66</b>	<b>2,59</b>		
<b>p</b>	<b>0,80</b>	<b>0,15</b>	<b>0,15</b>		

Les résultats montrent qu'il y a une corrélation positive entre les taux de mortalité et les concentrations d'extrait aqueux des baies de *D. gniduum* (le coefficient de corrélation chez les mâles «R<sup>2</sup>» est de 0,68 à 0,91) (**Tab. 86**).

Pour assurer une mortalité de 50% et 90% chez les adultes mâles après 30 jours de traitement, la concentration d'extrait aqueux des baies de *D. gniduum* doit être égale à  $3,90 \cdot 10^2$  et  $2,04 \cdot 10^3$  µg/ml. Par contre, elle doit être de  $4,67 \cdot 10^2$  et  $3,39 \cdot 10^3$  µg/ml chez les femelles (Tab. 86).

**Tableau 86 : Concentrations létales des extraits aqueux des baies de *D. gniduum***

Temps d'exposition	Mâles			
	Droite de regression		CL50 (µg/ml)	CL90 (µg/ml)
7j	Y= 3,23 + 0,23 X	R <sup>2</sup> = 0,68	5,01*10 <sup>7</sup>	1,82*10 <sup>13</sup>
15j	Y= 0,22 + 1,79 X	R <sup>2</sup> = 0,91	4,68*10 <sup>2</sup>	2,45*10 <sup>3</sup>
30j	Y= 1,11 + 1,56 X	R <sup>2</sup> = 0,75	3,90*10 <sup>2</sup>	2,04*10 <sup>3</sup>
Temps d'exposition	Femelles			
	Droite de regression		CL50 (µg/ml)	CL90 (µg/ml)
7j	Y= -0,03 + 1,51 X	R <sup>2</sup> = 0,68	2,14*10 <sup>3</sup>	1,51*10 <sup>4</sup>
15j	Y= -0,08 + 1,80 X	R <sup>2</sup> = 1,00	6,61*10 <sup>2</sup>	3,39*10 <sup>3</sup>
30j	Y= 1,02 + 1,49 X	R <sup>2</sup> = 1,00	4,67*10 <sup>2</sup>	3,39*10 <sup>3</sup>

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des temps]

Les résultats du tableau 87 résument les différents temps létaux des extraits aqueux des baies de *D. gniduum*.

En ce qui concerne les temps létaux, il existe une bonne corrélation positive entre la mortalité des adultes, due à un accroissement de la concentration de l'extrait et le temps d'exposition, puisque le coefficient de corrélation varie entre 0,91 à 0,95 chez les mâles et de 0,92 à 0,99 chez les femelles (Tab. 87). Plus les concentrations d'extrait augmentent plus les temps létaux diminuent ; à 500 µg/ml, sont respectivement TL50= 16,22, TL90= 51,29 jours chez les mâles et TL50= 25,12, TL90= 251,19 jours chez les femelles (Tab. 87).

**Tableau 87 : Temps létaux des extraits aqueux des baies de *D. gniduum***

Concentration	Mâles		
	Droite de regression		TL90 (j)
100µg/ml	Y= 2,79 + 1,04 X	R <sup>2</sup> = 0,91	134,90
250µg/ml	Y = 2,75 + 1,21 X	R <sup>2</sup> = 0,95	72,44
500µg/ml	Y= 1,83 + 2,60 X	R <sup>2</sup> = 0,92	16,22
Concentration	Femelles		
	Droite de regression		TL90 (j)
100µg/ml	Y= 1,96 + 1,37 X	R <sup>2</sup> = 0,98	165,96
250µg/ml	Y= 1,38 + 2,25 X	R <sup>2</sup> = 0,92	40,74
500µg/ml	Y= 3,19 + 1,29 X	R <sup>2</sup> = 0,99	25,12

[Y : Probits des taux de mortalités ; X : Logarithme décimal des temps]

### 3.2.4.2. Effets du traitement par une concentration sublétales (100 µg/ml) sur le comportement de *B. germanica* :

#### *Sur le comportement sexuel :*

Les résultats montrent que l'extrait des baies de *D. gniduum*, administré à une concentration sublétales de 100 µg/ml, supprime complètement l'accouplement chez les adultes de *B. germanica* (le taux d'avortement est équivalent de 100%) et ce, quelle que soit le sexe traité au sein d'un couple (dyade) (**Tab. 88**). Seuls 10% à 40% des mâles paradedent et des femelles lèchent les sécrétions mâles, alors que 100% de témoins réalisent ces comportements (**Tab. 88**).

**Tableau 88 : Effet d'une concentration sublétales des baies de *D. gniduum* (100 µg/ml) sur le taux de réussite des séquences comportementales conduisant à l'accouplement chez *B. germanica*, (n=10)**

	Contacts	Vibrations	Léchages	Tentatives	Accouplement réussi
♂Tm x ♀Tm	100	100	100	100	80
♂Tm x ♀Tr	100	40	40	0	0
♂Tr x ♀Tm	100	10	10	0	0
♂Tr x ♀Tr	100	10	0	0	0

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité]

Le traitement perturbe le déroulement des séquences comportementales conduisant à l'accouplement. Bien que les données ne soient pas significatives, le temps de premier contact est plus important dans les couples où les deux individus sont traités ( $62,2 \pm 6,78$  secondes) (**Tab. 89**). Ainsi, ce produit affecte la capacité des mâles à localiser les femelles vierges d'où l'augmentation du temps pour effectuer ses premières parades et le nombre de répétition ( $F_{\text{obs}} = 2,90$  ;  $p = 0,08$  et  $F_{\text{obs}} = 3,38$  ;  $p = 0,05$  respectivement) (**Tab. 89**). De plus, le nombre de léchages par les femelles est moins important dans le couple où le mâle est traité (3 fois seulement) (**Tab. 89**).

**Tableau 89 : Effet du traitement sur le temps nécessaire (en secondes) pour la réalisation de chaque acte (n=30), (Moy ± SEM)**

	♂Tm x ♀Tm	♂Tm x ♀Tr	♂Tr x ♀Tm	♂Tr x ♀Tr	F <sub>obs</sub>	p
<b>a</b>	22,1 ± 5,49	42,1 ± 5,89	33,3 ± 4,78	62,2 ± 6,78	<b>0,29</b>	<b>0,83</b>
<b>b</b>	103,7 ± 16,59	155 ± 88,52	67 ± -	73 ± -	<b>2,90</b>	<b>0,08</b>
<b>c</b>	4 ± 0,60	13,5 ± 6,06	7 ± -	9 ± -	<b>3,38</b>	<b>0,05*</b>
<b>d</b>	193,2 ± 24,88	163 ± 85,75	94 ± -	-	<b>2,14</b>	<b>0,16</b>
<b>e</b>	7,1 ± 0,50	5,25 ± 2,21	3 ± -	-	<b>10,75</b>	<b>0,002**</b>
<b>f</b>	285,8 ± 38,34	-	-	-	-	-
<b>g</b>	3,9 ± 0,71	-	-	-	-	-
<b>h</b>	413 ± 42,58	-	-	-	-	-
<b>i</b>	3138,63 ± 218,69	-	-	-	-	-
<b>j</b>	22,1 ± 5,49	-	-	-	-	-

[**a**, Temps de 1<sup>ier</sup> contact ; **b**, Temps de 1<sup>ière</sup> parade ; **c**, Nombre de parades ; **d**, Temps de 1<sup>ier</sup> léchage ; **e**, Nombre de léchages ; **f**, Temps de 1<sup>ière</sup> tentative ; **g**, Nombre de tentatives ; **h**, Latence d'accouplement ; **i**, Durée d'accouplement ; ♂, Mâle ; ♀, Femelle ; **Tm**, Témoin ; **Tr**, Traité ; **Moy**, Moyenne ; **SEM**, Ecart type de la moyenne ; \*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif]

#### **Sur le comportement grégaire :**

L'effet différé d'extrait aqueux des baies de *D. gniduum*, à une concentration sublétales de 100 µg/ml, a été testé sur le phénomène d'attraction et l'acuité olfactive d'insectes (**Tab. 90**).

Tous les extraits utilisés n'attirent pas significativement les adultes traités ( $p < 0,915$ ), le taux d'attractivité varie entre 0 à 66,67% (**Tab. 90**). Concernant les adultes témoins, ce sont toujours les extraits de leurs congénères témoins qui les attirent de plus (de 86,67 à 93,33%, avec une valeur  $p$  égale à 1). Cependant, ce n'est pas le cas pour les extraits d'insectes traités au produit ; les témoins présentent des taux d'attraction très diminués envers les femelles traitées surtout, voir nuls (de 0 à 6,67%) (**Tab. 90**).

**Tableau 90 : Taux d'attractivité des adultes de *B. germanica* traités avec une concentration sublétale des baies de *D. gniduum* (100 µg/ml)**

Insectes testés		Extraits			
		♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr
♂ Tm	A	93,33%	26,67%	86,67%	6,67%
	NA	6,67%	73,33%	13,33%	93,33%
	<i>p</i>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>0,993 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♂ Tr	A	13,33%	46,67%	13,33%	33,33%
	NA	86,67%	53,33%	86,67%	66,67%
	<i>p</i>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♀ Tm	A	93,33%	53,33%	93,33%	0%
	NA	6,67%	46,67%	6,67%	100%
	<i>p</i>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>1,00 S</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>
♀ Tr	A	0%	13,33%	33,33%	66,67%
	NA	100%	86,67%	66,67%	33,33%
	<i>p</i>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>	<b>&lt; 0,915 NS</b>

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; S, Significatif, NS, Non significatif]

Comparativement aux insectes traités, les témoins mettent entre 3,73 à 4,53 secondes seulement pour détecter l'odeur de leurs congénères témoins. Une fois les adultes (témoins ou traités) sont en exposition aux extraits d'insectes traités aux baies de *D. gniduum* (100 µg/ml), ils se comportent de la même manière et mettent plus de 5,53 à 11,13 secondes (**Tab. 91**).

**Tableau 91 : Temps moyens de détection (TD), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15) :**

Insectes testés	Extraits				F <sub>obs</sub>	<i>p</i>
	♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr		
♂ Tm	4,40 ± 0,43	6,53 ± 0,60	4,53 ± 0,39	6,07 ± 0,63	<b>0,41</b>	<b>0,75</b>
♂ Tr	6,27 ± 0,67	6,67 ± 0,81	6,53 ± 1,09	6,6 ± 0,61	<b>0,18</b>	<b>0,91</b>
♀ Tm	3,73 ± 0,58	6,2 ± 0,49	3,60 ± 0,57	5,53 ± 0,31	<b>2,00</b>	<b>0,12</b>
♀ Tr	6,53 ± 0,59	11,13 ± 2,72	7,27 ± 0,61	6,33 ± 0,46	<b>6,60</b>	<b>0,001**</b>
F <sub>obs</sub>	<b>0,45</b>	<b>6,34</b>	<b>0,86</b>	<b>1,60</b>		
<i>p</i>	<b>0,72</b>	<b>0,001**</b>	<b>0,47</b>	<b>0,20</b>		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; \*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

Quel que soit le stimulus, les temps moyens d'arriver chez les adultes témoins (mâles et femelles) sont significativement différents (F<sub>obs</sub>= 4,96 ; *p* = 0,007 et F<sub>obs</sub>= 8 ; *p* = 0,002) (**Tab. 92**). Ils se déplacent toujours plus vite vers les extraits d'insectes témoins et moins vers les traités. En revanche, il n'existe pas des différences significatives entre les temps mesurés chez les insectes traités envers les différentes odeurs testées (**Tab. 92**).



**Tableau 92 : Temps moyens d'arriver (TA), en secondes, de différents extraits utilisés à l'égard des adultes témoins et traités, (Moy ± SEM), (n = 15) :**

Insectes testés	Extraits				F <sub>obs</sub>	p
	♂ Tm	♂ Tr	♀ Tm	♀ Tr		
♂ Tm	2 ± 0,21	3,5 ± 0,5	2 ± 0,20	-	<b>0,16</b>	<b>0,85</b>
♂ Tr	4,25 ± 1,31	3,43 ± 0,48	3,75 ± 0,77	5 ± 2	<b>1,02</b>	<b>0,41</b>
♀ Tm	1,71 ± 0,22	4,33 ± 1,53	1,71 ± 0,22	4,33 ± 0,88	<b>1,45</b>	<b>0,25</b>
♀ Tr	4 ± -	3,8 ± 0,37	-	3,5 ± 1,5	<b>5,79</b>	<b>0,0</b>
<b>F<sub>obs</sub></b>	<b>4,96</b>	<b>0,50</b>	<b>8,00</b>	<b>1,97</b>		
<b>p</b>	<b>0,007**</b>	<b>0,70</b>	<b>0,002**</b>	<b>0,25</b>		

[♂, Mâle ; ♀, Femelle ; Tm, Témoin ; Tr, Traité ; \*, Significatif ; \*\*, Hautement significatif ; \*\*\*, Très hautement significatif]

### 3.2.6. Synthèse des résultats obtenus :

Le tableau 93 est une synthèse des résultats obtenus sur les activités biologiques de différents extraits végétaux utilisés contre *B. germanica*. Il indique que ces derniers montrent un potentiel de lutte contre la blatte. Ils présentent également une bonne activité adulticide par ingestion et ce sont la décoction des graines et des feuilles de *P. harmala* les plus puissantes, alors que celles des feuilles de *D. gniduum* semblent être la solution la moins destructive. Le traitement perturbe ainsi le déroulement de la reproduction ayant un effet anti-fertilisant, en supprimant ou diminuant le nombre d'œufs pondus. De plus, nos observations comportementales, effectuées sur les adultes, ont permis de démontrer que le traitement affecte leur attraction à distance en modifiant probablement les hydrocarbures cuticulaires.

**Tableau 93 : Synthèse des résultats sur les effets directs et différés des différents extraits végétaux utilisés contre la blatte germanique, *B. germanica***

Effet		Produit	<i>P. harmala</i>		<i>D. gniduum</i>	
			Feuilles	Graines	Feuilles	Baies
Toxicité	Mâles		+++	+++	+	++
	Femelles		+	++	+	++
Inhibition de la reproduction			+	+	+	+
Effet sur l'attraction à distance (hydrocarbures cuticulaires)			+	+	+	+
Anti-ponte (Nombre d'œufs pondus)			+	+	+	+

Toxicité par ingestion

+ : Mortalité <50 % après 30 jours

++ : Mortalité comprise entre 50 % et 80 % après 30 jours

+++ : Mortalité >80 % après 30 jours

Inhibition de la reproduction

+ : Présence ; - : Absence

Effet sur l'attraction à distance (hydrocarbures cuticulaires)

+ : Présence ; - : Absence

Anti-ponte (Nombre d'œufs pondus)

+ : Présence ; - : Absence

#### 4. Discussion :

Au contraire des autres drosophiles, *D. melanogaster* a la capacité de provoquer des dégâts directs, sans action préalable de micro-organismes ou présence de blessures, sur les cultures fruitières et maraîchères (Delbac *et al.*, 2014). Les dégâts indirects se manifestent par la vection de certains pathogènes liés notamment au mutualisme de *D. melanogaster* avec certaines levures (Fermaud *et al.*, 2002 ; Hamby *et al.*, 2012) ou d'autres pathogènes (Van Timmeren & Isaacs, 2014). C'est une caractéristique des drosophiles, quelle que soit l'espèce, d'être associées aux levures (Morais *et al.*, 1992). Le rôle de propagation de champignons est également connu, avec notamment la vection du botrytis par *D. melanogaster*, agent de la pourriture grise des fruits (Louis *et al.*, 1996). Dans les habitations et les commerces, le risque sanitaire est majeur et dû surtout à la contamination des aliments et à la prolifération rapide des mouches.

Les blattes germaniques, *B. germanica*, sont considérés comme des nuisibles car ils vont pouvoir envahir tout endroit où sont stockés des aliments qu'ils vont contaminer avec leurs fèces, et la sécrétion noirâtre qu'ils régurgitent en mangeant (Mourier, 2014). Leurs sécrétions salivaires ainsi que corporelles vont être à l'origine d'une odeur nauséabonde et persistante. Ces sécrétions vont pouvoir altérer le goût des aliments cuits avec les ustensiles contaminés (Mourier, 2014). Ils peuvent également occasionner des dégâts au niveau des tissus et des produits à base de papier. Ces cafards constituent des sources d'allergènes puissants (Fakoorziba *et al.*, 2010 ; Mahjoob *et al.*, 2010 ; Tilahun, 2012 ; Nejati *et al.*, 2012 ; Mahmoud *et al.*, 2013 ; Motevali Haghi *et al.*, 2014), ayant ainsi la réputation de transmettre des organismes tels que les Staphylocoques, les Streptocoques, les bactéries coliformes, et le virus de la poliomyélite (Fotedar, 1991 ; Erku *et al.*, 2006 ; Bonnefoy, 2008).

En raison de leur nuisance, *D. melanogaster* et *B. germanica* ont fait l'objet de plusieurs études toxicologiques. Ces insectes constituent aussi deux modèles expérimentaux aux nombreux avantages pour étudier le vivant. Ils permettent d'appréhender des questions scientifiques à bien des niveaux biologiques comme le comportement, la reproduction, les relations avec les autres espèces ou bien encore l'adaptation à l'environnement (Joly, 2006). En effet, ces insectes sont capables d'exprimer une grande variété de comportements complexes, car elles peuvent révéler différentes formes de mémoires associatives (DeZazzo

& Tully, 1995 ; Chabaud *et al.* 2006 ; Pacaud, 2008) sous le contrôle de gènes et de structures spécifiques (Isabel *et al.*, 2004).

Actuellement, la lutte dans les milieux naturels et anthropisés se dirige de plus en plus vers l'utilisation de moyens naturels pour combattre les différents ravageurs. Cette tendance est dictée par un souci majeur d'actualité qui vise à réduire le plus possible le recours aux pesticides qui polluent l'environnement et conduisent également à l'apparition de souches résistantes (Acheuk, 2012). Parmi ces moyens naturels figure l'utilisation des extraits végétaux comme bioinsecticides (Grethead *et al.*, 1994).

Les biomolécules appartenant au métabolisme secondaire des plantes telles que : les terpènes, les alcaloïdes, les glucosides, les polyphénols et les huiles essentielles, sont facilement biodégradables par voies enzymatiques, aucun phénomène de bioamplification n'ayant été décrit (Isman, 2002). Ces métabolites secondaires ne développent que peu de toxicité pour les vertébrés et sont régulièrement consommés dans l'alimentation (Regnault-Roger *et al.*, 2002).

Les composés phénoliques constituent un ensemble de molécules largement répandues dans la nature. On les trouve dans les plantes depuis les racines jusqu'aux fruits. Les polyphénols naturels sont des métabolites secondaires, constitués d'un ou plusieurs cycles benzoïques dérivés des acides benzoïques, et cinnamiques, couramines, flavonols, flavones, flavanes, chalcones, anthocyanes et stilbènes (Acheuk, 2012). Les composés phénoliques jouent un rôle très important dans la protection des végétaux. Certains polyphénols ont une action insecticide, d'autres ont un effet attractif ou répulsif. La composition de certains insecticides comprend à la fois une substance insecticide autre qu'un polyphénol et un polyphénol présentant un effet de synergie. Les polyphénol attirent les insectes et les immobilisent à proximité de l'autre insecticide à action rapide. L'effet attractif des polyphénols permet de masquer l'effet répulsif des substances insecticides (Acheuk, 2012). Au niveau enzymatique, ils exercent une action inhibitrice de l'activité des enzymes hydrolitiques parasitaires telles que les pectinases, les cellulases et les protéases. Ils peuvent également inhiber la production des enzymes hydrolytiques et la biosynthèse de toxines parasitaires. D'autre part, ils entraînent des altérations membranaires et des inhibitions au niveau de la chaîne de transport des électrons ou de biosynthèse d'ARN et d'ADN (El-Modafar & El-Boustani, 2002).

Il a été supposé pendant longtemps que les alcaloïdes étaient essentiellement des molécules d'excrétion et de stockage de métabolisme azoté voire de régulation de croissance. Il est admis maintenant que ces alcaloïdes jouent sans aucun doute un rôle primordial de défense chez les plantes contre les pathogènes et prédateurs (**Guignard, 2000**). Les alcaloïdes sont des composés insecticides aux faibles concentrations et également toxiques pour les vertébrés. Chez les plantes, ils sont sous forme minérale oxydée non toxique. Dans le tube digestif de certains insectes herbivores, en milieu alcalin, ces alcaloïdes sont réduits en molécules organiques non chargées et toxiques traversant facilement les membranes biologiques et tuant irrémédiablement leurs prédateurs. De plus, ces insectes deviennent, comme les plantes qu'ils ont ingérées, des formes redoutables pour leurs propres prédateurs (**Taiz & Zeiger, 2006**).

Leur mode d'action est très variable mais la plupart affecte les récepteurs du système nerveux (**Rattan, 2010**). Les alcaloïdes sont trouvés en quantités considérables chez plusieurs espèces appartenant aux Annonaceae, Apocynaceae, Fumariaceae, Fabaceae, Rutaceae, Papaveraceae etc (**Bruneton, 1993**). Ils s'accumulent dans la totalité de la partie aérienne (gaines, tige et feuilles) (**Taiz & Zeiger, 2006**). Les plantes alcaloïfères sont répulsives pour les insectes (**Rattan, 2010**). La nicotine fut le premier alcaloïde isolé et utilisé contre les insectes piqueurs suceurs des cultures vivrières. Les propriétés insecticides d'autres alcaloïdes végétaux ont été mises en évidence : l'anabasine et la vératrine, qui sont des dérivés de la nicotine. Ces alcaloïdes développent la même activité que le pyrèthre en ralentissant la fermeture des canaux Na<sup>+</sup> dépendants : en conséquence ces molécules perturbent la dépolarisation membranaire, provoquant ainsi une paralysie avant la mort (**Acheuk, 2012**).

Dans le cadre de la recherche des molécules bioactives, d'origine végétale, efficaces dans la lutte contre la mouche du vinaigre *D. melanogaster* et la blatte germanique *B. germanica*, la présente étude s'oriente vers l'activité biologique des extraits aqueux de deux plantes réputées toxiques. Il s'agit de *P. harmala* (feuilles, fleurs et graines) qui est connue par sa richesse essentiellement en alcaloïdes et de *D. gnidum* (feuilles et baies) par les polyphénols dont les couramines et les flavonoïdes.

Au vu de nos résultats, *P. harmala* manifeste par ingestion un grand pouvoir insecticide à l'égard des larves du 2<sup>ème</sup> stade de *D. melanogaster* avec une relation concentration-réponse significative. Contrairement à l'extrait floral, ceux de feuilles et de graines présentent également une toxicité non négligeable avec un taux de mortalité variant entre 71,1 à 100%.

En outre, *D. gniduim* présentent une bonne activité larvicide, ses baies affectent plus de 68,75% de l'échantillon dans les mêmes conditions du traitement.

Nous avons montré aussi que les différentes parties des plantes étudiées ont un effet sur la mortalité des mâles et des femelles de la blatte germanique et ce, en fonction des concentrations utilisées et du temps d'exposition. Les valeurs des CL<sub>50</sub>%, CL<sub>90</sub>%, TL<sub>50</sub>% et TL<sub>90</sub>% diminuent avec l'augmentation de la durée de traitement et/ou de la concentration du produit. Nos résultats montrent que la mortalité des mâles est plus importante que celle des femelles, quelque soit le produit utilisé, les calculs des CL<sub>50</sub>% et des CL<sub>90</sub>% indiquent ces différences. De plus, il semble que les graines et les feuilles de *P. harmala* agissent de la même manière sur ces insectes. Un pourcentage maximal de mortalité de 86,7 à 90% a été enregistré chez les mâles et de 53 à 63 % chez les femelles. En revanche, les baies de *D. gniduim* provoquent une mortalité plus importante que les feuilles. Les deux sexes ont une capacité de résistance différente pour ces composés, cela peut être due à la capacité de la femelle à mieux se désintoxiquer comme elle est plus grande que le mâle et contient plus de corps gras (Sharma, 2002).

Les résultats trouvés pour *P. harmala* sont en accord avec ceux de la littérature. Notons ceux qui sont signalés chez *Culex pipiens* (Habbachi *et al.*, 2014 ; Benhissen, 2016) et *Blattella germanica* (Masna, 2016), les ravageurs de cultures ; sur des larves de lépidoptères (Abdel-Rahman & Al-Mozini, 2007 ; Abbasipour *et al.*, 2010) que sur des larves de coléoptères (Salari *et al.*, 2012 ; Amandeep & Meera, 2014) et d'acridiens (Idrissi-Hassani & Hermas, 2008 ; Kemassi *et al.*, 2012). Dhumad Kadhim *et al.*, 2015 ont rapporté les effets de différents extraits de graines de *P. harmala* sur le charançon du riz *Sitophilus oryzae* L., à une concentration de 1%, 2% et 3%. Après 24, 48, 72 heures, des taux de mortalité de 98, 100, 100% ont été enregistrés avec l'extrait éthanolique et de 64, 66, 74% avec un extrait aqueux, respectivement. En effet, certains auteurs ont pu montrer la propriété insecticide de quelques principes isolés de cette plante, dont l'harmine et l'harmaline, vis-à-vis d'un certain nombre de ravageurs (Zeng *et al.*, 2010 ; Bouayad *et al.*, 2012).

Par ailleurs, l'action de *D. gniduim* a été aussi rapportée sur *Spodoptera littoralis* (Pérez Izquierdo & Ocete, 1994), *Xanthogaleruca luteola* (Maistrello *et al.*, 2005), *Sitophilus oryzae*, *Rhizopertha dominica* (Benayad, 2008) et *C. pipiens* (Habbachi *et al.*, 2014). Dahchar *et al.*, 2016 ont testé le potentiel larvicide d'extrait aqueux de feuilles de la plante contre deux espèces de moustiques, *C. pipiens* et *Culiseta longiareolata*. Après 72 heures, ses

valeurs  $LC_{50}$  calculés sont de l'ordre 0,05, 0,03, 0,06 à 0,07g/l et 0,09, 0,07, 0,12 à 0,13 g/l, respectivement.

En effet, nous avons observé que la transition larve-pupe chez la drosophile est affectée par le traitement avec les différents extraits végétaux et le stade larvaire semble être le stade le plus sensible conduisant à une inhibition de la mue pupale et adulte.

On définit le développement comme un phénomène à dominante qualitative, d'évolution morphologique et anatomique qui induit un adulte capable de se reproduire (**Salgueiro & Reyss, 2002**). Les processus de croissance et de développement chez les insectes sont rythmés par différentes mues. Les mues de croissance permettent à la larve d'augmenter sa taille et des mues de métamorphose aboutissant à l'imago. Ces différentes étapes sont régulées par deux hormones principales qui agissent en coordination : l'ecdysone, hormone stéroïdienne de mue (active sous forme de 20-hydroxyecdysone, 20E) et l'hormone juvénile (HJ) (**Dhadialla et al., 1998**).

Au cours des nos expérimentations, l'effet différé de *P. harmala* et *D. gniduum* sur le développement de la mouche a été aussi étudié. Les résultats montrent que ses extraits aqueux influent, à fortes concentrations, sur la durée de pupation et le nombre d'adultes émergés occasionnant un retard de croissance et de la mue chez les larves traitées. La mue étant perturbée de différentes manières : soit la mue est empêchée et l'insecte meurt à l'intérieur de son ancienne cuticule, soit elle est initiée mais n'est pas achevée et l'ancienne capsule céphalique, empêchant ainsi les larves de se nourrir (**Berry et al., 1993**) où engendrent des lésions cuticulaires et des mues anormales. Ce sont des composés connus comme phagorépresseurs qui peuvent donc retarder le développement larvaire (**Kemassi, 2008**).

Nos résultats relèvent que les extraits végétaux utilisés, induisent également diverses aberrations morphologiques telles que l'hyperpigmentation des larves, formation d'intermédiaires larve-pupe et pupa-adulte (réduction importante de la taille). Les malformations des adultes se localisent essentiellement au niveau des ailes (ailes malformés ou absents) et des pattes ; ces derniers ne peuvent vivre que 24 à 48 heures.

La sensibilité aux produits insecticides reste liée aussi au stade de développement de l'insecte ; **Kemassi (2008)** a montré que les larves du 5<sup>ème</sup> stade de *Schistocerca gregaria* (criquet) sont plus sensibles aux extraits de plantes dont *P. harmala*, comparativement aux adultes. Il est admis communément que la résistance des insectes aux insecticides croît avec le

développement de l'insecte (**Douaho et al., 1982 ; Acheuk, 2000**). **Maistrello et al., 2005** a testé l'activité inhibitrice d'extraits éthanoliques de feuilles de *D. gniduum* sur la croissance d'un coléoptère, *Xanthogaleruca luteola*. Une réduction significative de la survie larvaire et d'émergence adulte, avec une augmentation de la période larvaire, une réduction importante de poids et l'apparition des malformations chez les adultes émergés ont été observées.

Plusieurs extraits de plantes ont des propriétés insecticides et peuvent contrôler les ravageurs, en affectant nombreuses activités biologiques (**Mostafa et al., 1996 ; Schmutterer, 1997**). Par exemple, **Sadek (2003)**, a observé que la durée de pupation chez les larves de *Spodoptera littoralis* augmente après un traitement avec l'extrait de *Adhatoda vasica*. **Jeyabalan et al., (2003)** ont rapporté que l'extrait de *Plargonium citrosa* (Vanleenii) prolonge la durée de stades larvaires et la durée totale de développement de *Anopheles stephensi*. Selon **Zhong et al., (2001)**, l'extrait de fleurs de *Rhododendron molle* prolonge la durée de développement de *Pieris rapae*. Des effets toxiques larvaires et pupales causés par *Euphorbia canariensis* ont également ont été mis en évidence par divers auteurs dans *Musca domestica* (**Beard & Walton, 1971**) et *D. melanogaster* (**Uysal & Kaya, 2004**). **Khosravi & Sendi (2013)** ont confirmé les effets négatifs des huiles essentiels de *Thymus vulgaris* et *Lavandula angustifolia* sur le développement larvaire et l'émergence d'adultes chez *X. luteola*.

Le comportement d'insectes et tous les animaux, est dirigé par des interactions entre les neurones au sein de leur système nerveux. Les insecticides ont été choisis et parfois conçus pour leur capacité remarquable à tuer les insectes. La plupart attaquent des sites spécifiques dans le système nerveux de l'insecte. Donc il n'est pas surprenant que les insecticides à des niveaux qui ne mènent pas à la mortalité peuvent influencer le comportement (**Haynes, 1988 ; Rafalimanana, 2004**).

Cependant, il existe peu d'études détaillées sur les effets potentiels des doses sublétales d'insecticides. Les études sur les effets comportementaux des neurotoxiques sont importantes pour plusieurs raisons. D'abord, les observations détaillées des symptômes comportementaux d'insectes empoisonnés aideront à élucider les modes d'action des insecticides nouveaux et conventionnels. Deuxièmement, il est clair que presque tous les insecticides interfèrent avec les comportements normalement bien orchestrés des insectes ravageurs et peuvent donc contribuer à la gestion de leurs populations (**Haynes, 1988 ; Desneux et al., 2007 ; Lürning & Scheffer, 2007**).



Chaque jour, les animaux dont les insectes utilisent de nombreuses sources d'informations, émanant de leur environnement. Ces stimuli, notamment visuels et olfactifs, servent, entre autres, à localiser des sources de nourriture, des partenaires sexuels, ou à toute autre activité nécessitant de se déplacer dans l'environnement. L'utilisation de telles informations implique la mise en place de processus de discrimination et éventuellement de mémorisation des stimuli les plus pertinents (**Pacaud, 2008 ; Louat, 2013**).

Basés sur l'origine de l'émission et sur le receveur, les signaux chimiques peuvent être divisés en deux grands groupes ; les allélochimiques, signaux qui sont émis d'un animal d'une espèce vers un membre d'une espèce différente (**Whittaker & Feeny, 1970**) et les phéromones, signaux chimiques qui transportent l'information d'un individu à un autre membre de la même espèce (**Karlson & Lüscher, 1959**). La communication chimique intraspécifique joue un rôle essentiel dans le comportement sexuel et la vie sociale des insectes (**Desneux et al., 2007 ; Badi, 2015**).

Pour la drosophile, la localisation et l'évaluation des différentes ressources nécessaires pour l'alimentation peut être une tâche formidable. Non seulement ces ressources sont souvent dispersées sur une grande échelle par rapport à la taille de l'insecte, mais les différents types de ressources sont également susceptibles d'exiger des ensembles uniques de signaux de reconnaissance. En conséquence, le comportement de recherche d'insectes est un processus comportemental complexe médité par une multitude d'imputes sensorielles (**Papaj & Vet, 1990 ; Byers, 1996 ; Finch & Collier, 2000 ; Bergman & Wiklund, 2009**) et, bien que le comportement de recherche a été largement étudié, il est encore très bien difficile de savoir comment différentes modalités de recherche fonctionnent dans un contexte écologique et contribuent au processus de décision qui permet à l'insecte de trouver sa cible de recherche (**Chardonnet, 2013 ; Schäpers et al., 2015**).

Le comportement d'une larve de drosophile dépend de l'interaction entre des stimuli externes (écologiques) et internes (physiologiques). Si la réponse des larves à différents taux d'humidité, à certains sucres ou à l'éthanol est connue depuis plusieurs décennies (**Cooper, 1960 ; McKenzie & Parsons, 1972 ; Parsons, 1977**). C'est beaucoup plus récemment qu'il a été montré que les larves utilisent leur système chimiosensoriel pour détecter leur nourriture suivant des interactions sociales (**Fourgeron, 2011 ; Beltrami et al., 2012**). De plus, comme les larves baignent dans la nourriture, les systèmes olfactif et gustatif coopèrent lors de la recherche de la nourriture la plus appropriée à leurs besoins.

Dans ce travail, nous avons pu mettre en évidence que les larves de *D. melanogaster* sont capables de détecter l'odeur du milieu artificiel témoin à distance (leur milieu de culture initial) ; toutes ces dernières localisent son odeur (100%).

L'extrait des graines de *P. harmala* mélangé avec le milieu artificiel semble être attractif pour les asticots, néanmoins elles prennent de temps pour qu'elles adaptent l'odeur et qu'elles arrivent à la source. Cependant, les feuilles et les fleurs de la même plante ont un effet répulsif sur l'insecte. Il est probable que d'autres facteurs, en plus des alcaloïdes répulsifs, déterminent également la performance des larves témoins par rapport au *P. harmala*. Ces facteurs pourraient être d'autres produits chimiques comme les polysaccharides, les stéroïdes, les acides aminés et les flavonoïdes. L'huile extraite des graines, analysée par CCM et HPLC, montre une prédominance des acides gras insaturés : respectivement, l'acide linoléique en quantité importante suivi de l'acide oléique ; les acides gras saturés tels que l'acide palmitique et l'acide stéarique sont en quantités plus faibles (**Idrissi Hassani & EI Hadek, 1999**). **Fourgeron, 2011** a pu aussi montrer que les larves de drosophile sauvages (Di2 et CS), élevées sur un milieu standard de laboratoire, sont capables de percevoir et de différencier les AGs. Les AGs insaturés attirent les larves sauvages de façon dose dépendante, alors que les AGs saturés sont répulsifs. Ce qui peut expliquer les variations dans les réponses comportementales obtenus lors de nos tests.

Nous avons également observé que les larves témoins sont attirées par l'odeur des baies de *D. gniduum* et non par ses feuilles, ce qui peut être dû à la quantité des phénols attractifs dans chaque partie de la plante. Il semble que lorsqu'un milieu de culture est déposé dans l'arène de test, les larves le perçoivent d'abord grâce à leur système olfactif, puisque qu'elles parcourent plus de chemin quand elles sont en présence d'un milieu nutritif, témoin ou traitée. Ainsi, ces derniers pourraient émettre une odeur, qui attirerait la larve. Celle-ci serait alors plus motivée pour se déplacer et explorer l'enceinte de test puisqu'elle sentirait une odeur évoquant peut-être une source de nourriture.

De plus, les différents traitements influent sur l'attractivité alimentaire des larves traitées (élevées dans un milieu traité) ; ces dernières perdent la faculté de détection des odeurs, leurs choix est aléatoire. Sur l'état général des insectes, les molécules bioactives des plantes provoquent une perturbation de la motricité naturelle de l'insecte (**Acheuk, 2012**). Une analyse chimique par la chromatographie en phase gazeuse des larves traitées et des différents milieux de culture mélangé à chaque produit peut mieux nous renseigner sur l'effet

des neurotoxines alcaloïdiques de *P. harmala* et des coumarines et polyphénols de *D. gniduum* sur la *D. melanogaster*.

Le spinosad (spynosyne) présente un effet répulsif pour trois prédateurs du thrips des petits fruits (*Frankliniella occidentalis*). Cet effet répulsif est présent durant les deux premiers jours de la vie des prédateurs qui évitent les zones traitées au spinosad (**Rahman et al., 2011**). Ces dernières seront donc dépourvues de plusieurs prédateurs de *Frankliniella occidentalis* (**Louat, 2013**). Certaines espèces végétales ont un pouvoir répulsif, antiappétant ou toxique sur le Criquet pèlerin. Le Mélia *Melia azedarach* L. et le Neem *Azadirachta indica* Juss. (Meliaceae) sont connus depuis fort longtemps pour leur effet dissuasif sur les insectes (**Philogène, 1991 ; Dombia, 1994**). Des recherches sur *Melia azedarach* L. et *Azadirachta indica* Juss. (Miliaceae), ont trouvé leurs effets acridifuges sur le Criquet pèlerin (**Tail, 1998 ; Moussa, 2000 ; Ould El Hadj et al., 2006**). De même, *Nerium oleander* L. (Apocynaceae) et *Inula viscosa* L. (Asteraceae) semblent avoir respectivement un effet dissuasif et antiappétant sur cet acridien (**Tail, 1998**). Il arrive que des espèces végétales soient consommées malgré leur toxicité lorsque les insectes sont affamés ou manquent d'eau. C'est le cas de *Eucalyptus occidentalis* L. (Myrtaceae) et *Cestrum parqui* L. (Anacardiaceae) (**Barbouche et al., 1995 cité par Moumen, 1997**).

Le comportement d'accouplement chez les insectes se compose d'une série complexe des événements comportementaux qui sont coordonnés par les systèmes nerveux et hormonal de manière très précise. Chaque événement de comportement peut être affecté par des doses sublétales d'insecticide, conduisant à l'échec de la reproduction. Il affecte la capacité de localisation, la parade et le temps de l'accouplement peuvent également entraîner une diminution de la production de la progéniture (**Haynes, 1988**).

Le comportement sexuel de l'insecte peut donc être utilisé comme un paramètre important pour comprendre les effets délétères de plantes toxiques. Dans ce contexte, nous avons évalué les effets secondaires (différés) de différentes concentrations sublétales de chaque partie des deux plantes (*P. harmala* et *D. gniduum*) sur l'ensemble de séquences comportementales conduisant à l'accouplement et le potentiel reproductif chez *D. melanogaster* et *B. germanica*.

Dans notre étude, nous avons testé l'hypothèse que des faibles doses d'un insecticide, tel que *P. harmala* et *D. gniduum*, pourraient influencer les traits du fitness et de la performance reproductive des adultes des drosophiles, en perturbant l'odorat nécessaire à la reproduction.

Ces derniers ont montré une déficience remarquable entraînant l'avortement du processus d'accouplement. Clairement, une longue latence d'accouplement indique la non-réceptivité de la femelle malgré le dynamisme du mâle. Cette inappétence sexuelle est liée à la nature des phéromones épicuticulaires des femelles et au comportement de parade des mâles. Une femelle non réceptive va donner des coups de pattes au mâle, élever et descendre son abdomen, fuir ou extruder totalement son ovipositeur (**Spieth, 1952 ; Lasbleiz et al., 2006**). En cas d'acceptation, durant la copulation, les spermatozoïdes du mâle sont transférés dans le tractus reproductif de la femelle (**Vasudev et al., 2013**), les femelles drosophiles sont fécondées durant seulement 20 minutes (**Goudey-Perrière & Perrière, 1974**). Nos résultats montrent que la durée de la copulation, chez les adultes traités, signifie leur difficulté où ils prennent un grand temps pour que les femelles soient fécondées.

Notons qu'aucune étude des effets sublétaux de *P. harmala* ou d'autres plantes toxiques n'a été faite sur le comportement sexuel de la drosophile. Cependant, ils ont également été décrits dans des expériences avec d'autres insecticides. L'exposition à l'imidaclopride, un néonicotinoïde, à des doses sublétales en intoxication chronique induit des effets sur l'accouplement et la fécondité des drosophiles (**Louat, 2013**). Des résultats similaires sont obtenus par l'utilisation d'insecticides : dithiocarbamate, Dithane M 45 (**Vasudev, 2013**), Spinosad (2,5mg/l) et l'Azadiractine (0,05mg/l) (**Bensafi Gheraïbia, 2010**), *Bacillus thuringiensis* (5g/l) (**Habbachi et al., 2013b**). De plus, des résultats acquis par **Bensafi Gheraïbia (2015)** indiquent que le spiromesifen perturbe le métabolisme lipidique chez la drosophile, confirmant ainsi son mécanisme d'action primaire sur la synthèse des lipides des hydrocarbures cuticulaires.

Après l'accouplement, la seconde phase essentielle pour la reproduction de l'insecte est l'oviposition, qui est aussi sous contrôle neuronal conduisant à une ponte sélective sur des substrats appropriés (**Becher, 2012**). Le choix du substrat est le résultat d'une évaluation sensorielle exprimé dans le comportement de "search-like", précédant le programme d'oviposition stéréotypée (**Yang et al., 2008**). L'effet répulsif des insecticides peut également induire une diète ou une baisse de l'alimentation chez l'insecte pouvant conduire à une réduction de la fécondité (**Li et al., 2007 ; Louat, 2013**). Notre étude confirme que *P. harmala* a un effet répulsif sur la drosophile entraînant des changements de ses réponses olfactives. Une diminution importante du nombre d'œufs pondus a été enregistrée chez les couples traités par rapport aux témoins. Par ailleurs, les alcaloïdes neurotoxiques de la plante

seraient à l'origine du blocage de développement ovarien et de la vitellogenèse chez les femelles et l'absence de la maturité sexuelle chez les mâles (**Abbassi et al., 2003**).

Des travaux antérieurs, concernant l'effet anti-fertilisant et anti-ponte de différents extraits de *P. harmala*, concordent avec nos résultats tel observé chez *Callosobruchus chinensis* (**Meera & Mann, 2002**), la mouche de pêche, *Bactrocera zonata* (**Khattak et al., 2006 ; Rehman et al., 2009a**) et la mouche de fruit d'olive, *Bactrocera oleae* (**Rehman et al., 2009b**). Ainsi, **Dehghani et al. (2012)** a trouvé que ces derniers peuvent affecter le temps d'incubation et le taux d'éclosion de *Trialeurodes vaporariorum*. Des résultats similaires sont signalés chez *Tribolium Castaneum* (**Amandeep & Meera, 2014**), *Blattella germanica* (**Masna, 2016**) et *Culex pipiens* (**Benhissen, 2016**). **Abbassi et al., (2003)** a également mis en évidence l'effet néfaste de l'espèce végétale sur la reproduction, l'ovogénèse et la capacité de ponte du criquet pèlerin, *S. gregaria*, sous les conditions de laboratoire.

Différentes études récentes appuient nos résultats et rapportent l'impact de l'expérience pré-imaginale sur le comportement et la prise de décision chez les adultes traduisent cette capacité de conversation de la mémoire de l'apprentissage à travers les stades de développement (**Duckas, 2008 ; Flaven-Pouchon et al., 2014 ; Abed-Vieillard & Cortot, 2016**). De plus, selon **Krause Pharm & Ray (2015)** l'aversion olfactive semble être conservée chez les différentes espèces de drosophile, ce qui permettra de généraliser l'action des extraits végétaux utilisés à d'autre espèces nuisibles de drosophiles telles que *D. suzukii*.

En ce qui concerne l'accouplement des congénères témoins chez *B. germanica*, nous avons enregistré un taux de réussite de 80% et qu'il y avait 20% d'accouplements avortés. Nos résultats montrent que les toxines contenues dans les plantes étudiées influent aussi sur les couples de la blatte. Nous avons noté que des accouplements réussis ne dépassent pas les 20%, lorsque l'un de deux sexes est témoin (mâle traité-femelle témoin, mâle témoin-femelle traitée). Dans le cas des deux sexes traités, nous enregistrons des accouplements nuls ; le produit empêche les séquences de léchage, tentative et d'accouplement. Il influe, probablement, sur les sécrétions tergaux des mâles et sur les cires cuticulaires chez les deux sexes.

La perturbation de comportement sexuel et de l'accouplement par les doses subléthales d'insecticides a été démontrée chez plusieurs insectes. **Floyd & Crowder (1981)** ont rapporté que *Pectinophora gossypiella* traité par perméthrin ne répond pas à la parade wing-fanning et elle a de basses concentrations de phéromone. Les fréquences de vol et le parade de mâle

*Trichoplusia ni* ont également diminué lors de contact avec les doses subléthales de cyperméthrin et chlordimeform (Clark & Haynes, 1992a, b).

L'effet des insecticides sur les comportements d'accouplement de *B. germanica* est très peu étudié. Lee *et al.* (1998) observent que les mâles de *B. germanica* établissent le contact antennaire et adoptent une position de parade devant les femelles traitées par deltaméthrin, mais ces dernières ne sont pas réceptives. L'azadirachtine est responsable de l'augmentation du temps de la première parade chez le mâle de *B. germanica* et celui du premier temps de léchage chez la femelle ainsi que sur le taux de réussite des accouplements (Masna *et al.*, 2015 ; Masna, 2016). Également, Le *Bacillus thuringiensis var kurstaki*, le spinosad, le tébufenozide et l'halofenozide administrés à des concentrations sublétales perturbent le déroulement de comportement sexuel et grégaire de *B. germanica* et les individus traités perdent la faculté de perception des stimuli extraits des femelles suite à des modifications dans les quantités des cires cuticulaires (Habbachi, 2009 ; Kilani-Morakchi *et al.*, 2009, Habbachi *et al.*, 2010 ; Badi, 2015). Il semble que le mode d'action du pesticide soit localisé à un des niveaux d'intégration du message odorant, ainsi situé aux premiers niveaux de l'intégration de message (Ouakid, 2006 ; Habbachi, 2009 ; Mehaoua, 2014).

L'utilisation d'extrait aqueux de *P. harmala* et *D. gniduum*, à des concentrations sublétales affectent ainsi le comportement grégaire de la blatte germanique. Les extraits utilisés au cours de ce travail agissent sur la perception des blattes adultes ; *B. germanica* traités et testés en olfactomètre ne détectent pas significativement les odeurs testées. Les produits affectent aussi et le signal chimique chez les blattes puisque les extraits des adultes traités n'attirent pas significativement les blattes testées.

Les extraits aqueux des fleurs de *P. harmala* sont aussi des neurotoxines et provoquent des perturbations de la perception chimique chez la blatte germanique selon Masna (2016). Plusieurs travaux indiquent les effets neurotoxiques de la plante. L'extrait éthanolique de ses feuilles affecte la physiologie et le système nerveux du criquet et provoque des troubles de l'équilibre chez l'ensemble des traités (Abbassi *et al.*, 2005). Ce sont les alcaloïdes indoliques ( $\beta$  carbolines) qui agissent sur le système nerveux central de l'insecte (Bruneton, 1993) et en particulier l'harmaline, l'harmine et l'harmalol, qui sont des composés majeurs de la plante. En revanche, il n'existe pas des études qui concernent les effets différés de *D. gniduum* sur le comportement d'insectes.

Plusieurs articles de synthèse font régulièrement le point sur l'état d'avancement des recherches en matière de lutte biologique. L'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) participe activement à cette mise à jour en publiant et réactualisant régulièrement des articles récapitulatifs sur les agents les plus prometteurs (**Boulogne, 2011**). Nous pensons que les substances naturelles extraites des plantes pourraient constituer la base de synthèse de molécules en meilleure harmonie avec l'environnement.

## 5. Conclusion :

Notre hypothèse de départ était de confirmer que les extraits végétaux, provenant des plantes médicinales, présentaient un potentiel de lutte contre les espèces invasives, notamment en raison des métabolites secondaires qu'elles contiennent.

Nous avons mis en évidence l'effet direct et indirect des extraits aqueux de *P. harmala* (Feuilles, fleurs et graines) et de *D. gniduum* (feuilles et baies) sur les larves du 2<sup>ème</sup> stade de *D. melaogaster* et les adultes de *B. germanica*, au laboratoire dans les conditions contrôlés.

Nous avons pu déterminer que les graines et les feuilles de *P. harmala* possèdent une très bonne activité insecticide contre ces insectes par rapport aux fleurs. La mortalité observée est corrélée positivement avec les concentrations utilisées et la durée d'exposition. En parallèle, l'extrait aqueux des baies de *D. gniduum* présente une activité appréciable. Cependant, ses feuilles sont moins toxiques et les calculs des concentrations létales et des temps létaux indiquent les différences.

Notre étude nous a permis la mise en évidence d'effets d'insecticides à faible concentrations (effets différés) sur la réponse au signal odorant des larves de la drosophile et sur l'activité locomotrice et notamment de sa durée, qui doit être suffisante pour pouvoir observer par exemple une prolongation de la réponse olfactive, ainsi les effets répulsifs ou attractifs exercés par chaque partie de plante sur la mouche.

Les effets sublétaux les plus importants d'insecticide sont ceux qui perturbent les traits liés à la reproduction des insectes, comme la recherche du partenaire sexuel, le sexe ratio, la fertilité des œufs, ...etc. Dans les conditions de laboratoire, nous avons montré que, lorsque les extraits aqueux de *P. harmala* et de *D. gniduum* étaient ingérés par les deux modèles, cela provoquait des troubles importants du comportement sexuel (attraction à distance, reconnaissance par contact, etc...) et, par voie de conséquence rendait les individus incapables de s'accoupler, donc de donner une descendance.

Les résultats en olfactomètre indiquent aussi l'effet des extraits végétaux sur la perception et le message chimique chez les blattes adultes. Ils influent, non seulement sur les sécrétions sexuelles mais aussi, sur les sécrétions grégaires. De ce fait, il serait intéressant d'analyser les extraits attractifs afin de déterminer l'influence des insecticides sur les hydrocarbures cuticulaires et ce à travers des analyses chromatographiques.



**6. Références bibliographiques :**

- Abbasipour H., Mahmoudvand M., Rastegar F. & Basij M., 2010.** Insecticidal activity of *Peganum harmala* seed extract against the diamondback moth, *Plutella xylostella*. *Bulletin of Insectology*, 63(2): 259-263.
- Abbassi K., Atay-Kadiri Z. & Ghaout S., 2003 a.** Caractérisation des populations de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) durant la recrudescence de 1995 au Sud du Maroc. *Journal of Orthoptera Research*, 12 (2): 63-69.
- Abbassi K., Atay-Kadiri Z. & Ghaout S., 2003 b.** Biological effects of alkaloids extracted from three plants of Moroccan arid areas on the desert locust. *Physiological Entomology*, 28: 32-236.
- Abbassi K., Mergaoui L., Atay-Kadiri Z., Stambouli A. & Ghaout S., 2003 c.** Effets des extraits de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*, Forskål, 1775). *Zool. Baetica*, 13/14: 203-217.
- Abbassi K., Mergaoui L., atay-kadiri Z., ghaout S. & Stambouli A., 2005.** Activités biologiques des feuilles de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) en floraison sur la mortalité et l'activité génésique chez le criquet pèlerin. *Zool. Baetica*, 16: 31-46.
- Abdel-Rahman H.R. & Al-Mozini R.N., 2007.** Antifeedant and Toxic Activity of some Plant Extracts Against Larvae of Cotton Leaf worm *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera : Noctuidae). *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(24): 4467-4472.
- Abdullah M.A.R., 2009.** Toxicological and histopathological studies of *Boxus chinensis* oil and precocene II on larvae of the red palm weevil *Rynchophorus ferrugineus* (Oliver) (Coleoptera : Curculionidae). *Egypt. Acad. J. biolog. Sci*, 2(2): 45-54.
- Abed-Vieillard D. & Cortot J., 2016.** When Choice Makes Sense : Methol Influence on Mating, Ovipostion and Fecundity in *Drosophila melanogaster*. *Front. Inter. Neurosci*, 10: 5.
- Acheuk F., 2012.** Évaluation des effets du Téflubenzuron et de l'extrait méthalonique de la plante *Haplophyllim tuberculatum* (Rutacée) sur le développement et la reproduction du criquet migrateur : *Locusta migratoria* (Linné, 1758) (Orthoptera, Oedipodinae). Thèse

- de Doctorat en Sciences Agronomiques. École Nationale Supérieure Agronomique El-Harrach d'Alger, Algérie. 151 pp.
- Ahmad A., Khan K.A., Sultana S., Siddiqui B.S., Begum S., Faizi S. & Siddiqui S., 1992.** Study of the in vitro antimicrobial activity of harmine-harmaline and their derivatives. *J. Ethno-pharmacol limerick*, 35(3): 289-294.
- Amandeep K. & Meera S., 2014.** Pesticidal Effect of Plant *Peganum harmala* Against Stored Grain Pest *Tribolium Castaneum* (Coleoptera : Tenebrionidae). *Indian Journal of Applied Research*, 4(7): 554-555.
- Aouinty B., Oufara S., Mellouki F. & Mahari S., 2006.** Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 10(2): 67-71.
- Aqel M. & Hadidi M., 1991.** Direct relaxant effect of *Peganum harmala* seed extract smooth muscles of rabbit and guinea pig. *International Journal of Pharmacology Lisse*, 29: 176-182.
- Ashburner M. & Roote J., 1989.** *Drosophila protocols*. NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Avondet J.L., Blair R.B., Berg D.J. & Ebbert MA., 2003.** *Drosophila* (Diptera : Drosophilidae) response to changes in ecological parameters across an urban gradient. *Environ. Entomol*, 32(2): 347-358.
- Ayad R., 2008.** Recherche et Détermination structurale des métabolites secondaires de l'espèce : *Zygophyllum cornutum* (Zygophyllaceae). Mémoire de Magister. Université Mentouri de Constantine, Algérie. 124 pp.
- Ayoub M.T., Al-Allaf T. & Rshan L.J., 1994.** Anti-proliferative activity of harmalol. *Fitoterapia*, 65: 14-18.
- Badi A., 2015.** Effets sublétaux d'un régulateur de croissance des insectes, le tébufénozide, sur la communication chimique et la reproduction de *Blattella germanica* (Dictyoptera :

- Blattellidae). Thèse de Doctorat en Biologie Animale. Université Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 107 pp.
- Baumholtz M., Parish L.C., Witkowski J. & Nutting W., 1997.** The medical importance of cockroaches. *International Journal of Dermatology*, 36: 90-96.
- Beard R.L. & Walton G.S., 1971.** Insecticidal mycotoxins produced by *Aspergillus flavus* var. *colunaris*. *Bull. Conn. Agr. Exp. Sta.*, 725: 1-26.
- Becher P.G., Flick G., Rozpędowska E., Schmidt A., Hagman A., Lebreton S., Larsson M.C., Hansson B.S., Piškur J., Witzgal P. & Bengtsson M., 2012.** Yeast, not fruit volatiles mediate *Drosophila melanogaster* attraction, oviposition and development. *Functional Ecology*, 26: 822-828.
- Bell W.J., Roth L.M. & Nalepa C.A., 2007.** Cockroaches Ecology, Behavior and Natural History. *JHU Press*. 247 pp.
- Bellakhdar J., 1997.** La pharmacopée marocaine traditionnelle ; Médecine arabe ancienne et savoirs populaires. *Ibis Press, Saint Etienne*. 764 pp.
- Beltrami M., Medina-Munoz M.C., Del Pino F., Faveur J.F. & Godoy-Herrera R., 2012.** Chemical cues influence pupation behavior of *Drosophila simulans* and *Drosophila buzzatii* in nature and in laboratory. *PLos One*, 7: e39393.
- Benayad N., 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines, moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V-Agdal de Rabat, Maroc. 200 pp.
- Benhissen S., 2016.** Identification, composition et structure des populations Culicidiennes de la région d'Ouled-Djellal (Biskra). Effet des facteurs écologiques sur l'abondance saisonnière. Essais de lutte. Thèse de Doctorat en Ecologie Animale. Université de Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 126 pp.
- Bensafi Gheraïbia H., 2010 .** Etude écophysiologique, systématique et lutte intégrée contre les drosophiles, vecteurs de la pourriture grise dans les cultures. Mémoire de Magistère en Écophysiologie Animale. Université Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 67 pp.

- Bensafi Gheraïbia H., 2015.** Evaluation du Spiromesifen, inhibiteur de la synthèse des lipides chez *Drosophila melanogaster* : Aspect toxicologique, biochimique et comportemental. Thèse de Doctorat en Biologie Animale. Université de Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 105 pp.
- Ben-Salah N., Amamou M., Jerbi Z., Ben-Salah F. & Yacoub M., 1986.** Un cas de surdosage en *Peganum harmala* L. *Journal de Toxicologie Clinique et Expérimentale*, 6: 319-322.
- Benton R., Vannice K.S. & Vosshall L.B., 2007.** An essential role for a CD36-related receptor in pheromone detection in *Drosophila*. *Nature*, 450: 289-293.
- Bergman M. & Wiklund C., 2009.** Visual mate detection and mate flight pursuit in relation to sunspot size in a woodland territorial butterfly. *Anim Behav*, 78: 17-23.
- Berry R.E., Moldenke A.F., Miller J.C. & Wernz J.C., 1993.** Toxicity of diflubenzuron in larvae of gypsy moth (Lepidoptera : Lymantridae) : Effets of host plant. *Journal of Economic Entomology*, 86(3): 809-814.
- Bézanger-Beauquesne L., Pinkas M., Torck M. & Trotin F., 1980.** Plantes médicinales des régions tempérées, *Ed. Maloine, Paris*. 156 pp.
- Bezzar-Bendjazia R., 2016.** Effets d'un biopesticide, l'azadirachtine, sur un modèle de référence, *Drosophila melanogaster* (Diptera) : Toxicité, Développement et Digestion. Thèse de Doctorat en Biologie Environnementale. Université Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 101 pp.
- Blanc N., 2000.** Les animaux et la ville. *Odile Jacob (Eds)*, Paris. 232 pp.
- Boll W. & Noll M., 2002.** The *Drosophila* Pox neuro gene : control of male courtship behavior and fertility as revealed by a complete dissection of all enhancers. *Development*, 129: 5667-5681.
- Bonde J.P., Toft G., Rylander L., Rignell-Hydbom A., Giwercman A., Spano M., Manicardi G.C., Bizzaro D., Ludwicki J.K., Zvezday V., Bonefeld-Jorgensen E.C., Pedersen H.S., Jonsson B.A. & Thulstrup A.M., 2008.** Fertility and markers of male reproductive function in Inuit and European populations spanning large contrasts in blood levels of persistent organochlorines. *Environ Health Perspect*, 116: 269-277.

- Bonnefoy X., Kampen H. & Sweeney K., 2008.** Les nuisibles urbains et leur impact sur la Santé Publique. Chartered Institute of Environmental Health. 48 pp.
- Borozan-Dorey V., 2002.** Le savoir-vivre des blattes is beautiful. La Recherche, L'actualité des sciences. Disponible sur <http://www.larecherche.fr/savoirs/cas-espece/savoir-vivre-blattes-blatte-is-beautiful-01-11-2002-83571>.
- Bouayad N., Rharrabe K., Lamhamdi M., Ghailani Nourouti N. & Sayah F., 2012.** Dietary effects of harmine, a b-carboline alkaloid, on development, energy reserves and a-amylase activity of *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera : Pyralidae). *Saudi Journal of Biological Sciences*, 19: 73-80.
- Bouharmont J., Masson P. L. & Van Hove C., 2007.** Biologie. Révision scientifique de Charles- Marie Evrard. *Ed. De Boeck université*. 386: 1250 pp.
- Boulahbel B., 2015.** Evaluation de l'azadirachtine (Neem-Azal et Huile de Neem) sur le développement et la reproduction chez *Drosophila melanogaster* (Diptera) : mécanismes d'action et action comparée. Thèse de Doctorat en Biologie Animale et Environnementale. Université Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 81 pp.
- Boulogne I., 2011.** Evaluation du potentiel insecticide et antifongique sur *Acromyrmex octospinosus* (Reich) d'une sélection de plantes à usages ethnopharmacologiques TRAMIL. Thèse de Doctorat. Université des Antilles et de la Guyane, France. 169 pp.
- Bounechada M. & Arab R., 2011.** Effet insecticide des plantes *Melia azedarach* L. et *Peganum harmala* L. sur *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera : Tenebrionidae). *Agronomie*, 1: 6.
- Bruneton J., 1993.** Pharmacognosie Phytochimie, plantes médicinales. *Edition Lavoisier*, Paris. 895 pp.
- Bruneton J., 1996.** Plantes toxiques. Végétaux dangereux pour l'homme et les animaux. *Edition Lavoisier*, Paris. 529 pp.
- Bussell J.J., Yapici N., Zhang S.X., Dickson B.J. & Vosshall L.B., 2014.** Abdominal-B Neurons Control *Drosophila* Virgin Female Receptivity. *Current Biology*, 24: 1-12.

- Byers J.A., 1996.** An encounter rate model of bark beetle populations searching at random for susceptible host trees. *Ecol Model*, 91: 57-66.
- Cantrell C.L., Dayan E.F. & Duke S.O., 2012.** Natural products as sources for new pesticides. *J Nat Prod*, 75(6): 1231-1242.
- Casida J.E. & Durkin K.A., 2013.** Neuroactive insecticides : targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu Rev Entomol*, 58: 99-117.
- Chaabane F., Boubaker J., Loussaif A., Neffati A., Kilani-Jaziri S., Ghedira K. & Chekir-Ghedira L., 2012.** Antioxidant, genotoxic and anti-genotoxic activities of *Daphne gnidium* leaf extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12: 153.
- Chabaud M.A., 2008.** Développement de conditionnements associatifs et expression individuel et collectif de mémoires appétitifs et aversives chez la drosophile. Thèse de Doctorat en Biologie du Comportement. Université Paris 13, France. 44 pp.
- Chardonnet F., 2013.** Rôle du gène *foraging* dans l'évolution du comportement alimentaire de noctuelles foreuses de céréales. Thèse de Doctorat en Biologie des organismes. Université Pierre et Marie Curie de Gif-sur-Yvette, France. 245 pp.
- Charnot A., 1945.** La toxicologie au Maroc. Mémoire de la Société Scientifiques Nationale Du Maroc. *Edition Siège de l'I. S.* 717 pp.
- Chatterjee A. & Ganguly M., 1968.** Alkaloidal constituents of *Peganum harmala* and synthesis of the minor alkaloid deoxyvascinone. *Phytochemistry*, 7: 307-311.
- Chopra I.C., Abral B.K. & Handa K.L., 1960.** Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique. *Ed UNESCO*. 48 pp.
- Clark D.C. & Haynes K.F., 1992 a.** Sublethal effects of cypermethrin on chemical communication, courtship and oviposition in the cabbage looper (Lepidoptera : Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, 85: 1771-1778.
- Clark D.C. & Haynes K.F., 1992 b.** Sublethal effects of chlordimeform on chemical communication and other reproductive behaviors in the female cabbage looper moth (Lepidoptera : Noctuidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 19: 105-117.

- Clynen E., Ciudad L., Bellés X. & Piulachs M.D., 2011.** Conservation of fruitless role as master regulator of male courtship behaviour from cockroaches to flies. *Dev. Genes. Evol*, 221: 43-48.
- Cooper D.M., 1960.** Food preference of larval and adult *Drosophila*. *Evolution*, 14: 41-45.
- Corby-Harris V., Pontaroli A.C., Shimkets L.J., Bennetzen J.L., Habel K.E. & Promislow D.E.L., 2007.** Geographical Distribution and Diversity of Bacteria Associated with Natural Populations of *Drosophila melanogaster*. *Applied And Environmental Microbiology*, 73(11): 3470-3479.
- Cornwell P.B., 1968.** The cockroach, A laboratory insect and an industrial pest. *London, Hutchinson*, 1: 116.
- Costa J.T., 2006.** The other insect societies. *The Belknap Press of Harvard University Press*, Cambridge, Massachusetts and London, England. 812 pp.
- Cox P.D., 2004.** Potential for using semiochemicals to protect stored products from insect infestation. *Journal of Stored Products Research*, 40: 1-25.
- Crossley S.A., Bennet-Clark H.C. & Evert H.T., 1995.** Courtship song components affect male and female *Drosophila* differently. *Anim. Behav*, 50: 827-839.
- Dahchar Z., Bendali-Saoudi F. & Soltani N., 2016.** Larvicidal activity of some plant extracts against two mosquito species *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(4): 346-350.
- Dehghani M., Ahmadi K. & Zohdi H., 2012.** Evaluation of some plant extracts and conventional insecticides against *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera : Aleyrodidae) in greenhouse condition. *Mun. Ent. Zool*, 7(2): 828.
- Delbac L., Cusch A., Rouzes R, Ravidat M.L. & Launes S., 2004.** *Drosophila suzukii* est-elle une menace pour la vigne ? *Phytoma*, 679: 16-21.
- Dempster J.P., 1975.** Animal population ecology. *Academic Press*, London. 63-75, 133-135 pp.

- Deravel J., Krier F. & Jacques Ph., 2014.** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 18(2): 220-232.
- Desneux N., Decourtye A. & Delpuech J.M., 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu. Rev. Entomol*, 52: 81-106.
- DeZazzo J. & Tully T., 1995.** Dissection of memory formation : from behavioral pharmacology to molecular genetics. *Trends Neurosci*, 18: 212-218.
- Dhadialla T.S., Carlson G.R. & Le D.P., 1998.** New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Ann. Rev. Entomol*, 43: 545-569.
- Dickson B.J., 2008.** Wired for sex : the neurobiology of *Drosophila* mating decisions. *Science*, 322(5903): 904-9.
- Douaho K., Kershoas L. & Fuzeau-Breasch S., 1982.** Mécanisme de la sensibilité au Lindane chez le criquet migrateur, *Locusta migratoria* (L.). *Agronomie*, 2(9): 895-900.
- Doumandji S., 2006.** Toxicité comparée des extraits de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera : Cyrtacanthacridinae). *Sécheresse*, 17(3): 407-414.
- Duckas R., 2008.** Evolutionary biology of insect learning. *Annu. Rev. Entomol*, 53: 145-160.
- Ebling W., 1978.** Urban entomology. University of California. Division of Agricultural Science. Berkeley, CA.
- Ekström G. & Ekbohm B., 2011.** Pest Control in Agro-ecosystems : An Ecological Approach. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 30: 74-94.
- El-Allagui N., Bourijate M., Tahrouch S. & Hatimi A., 2007.** Effet de cinq extraits végétaux sur la mortalité des nématodes à galles du genre *Meloidogyne* ssp. *Biochimie substances naturelles et environnement, congrès international de biochimie*, Agadir.
- El-Bahri L. & Chemli R., 1991.** *Peganum harmala* L. a poisonous plant of North Africa. *Veterinary and Human Toxicology*, 33: 276-277.
- Elie M.P., 1998.** Blattes : Une vie cachée. *Magazine Québec science*. 40 pp.



- El-Modafar C. & El-Boustani E.S., 2002.** Contribution des polyphénols aux mécanismes de défense des plantes in Regnault-Roger C., Philogène B.J. & Vincen C., 2002. Biopesticides d'origine végétale. *Ed. Tec & Doc*, Lavoisier, Paris. 169-185.
- Eriksson P., Ahlbom J. & Fredriksson A., 1992.** Exposure to DDT during a defined period in neonatal life induces permanent changes in brain muscarinic receptors and behaviour in adult mice. *Brain Res*, 582: 277-281.
- Erku W., Gebre-Michael T. & Ashenafi M., 2006.** Cockroaches associated food-borne bacterial pathogens from some hospitals and restaurants in Addis Ababa, Ethiopia : Distribution and antibiograms. *Journal of Rural and Tropical Public Health*. James cook University, Australia. 8 pp.
- Fakoorziba M.R., Eghbal F., Hassanzadeh J. & Moemenbellah-Fard M.D., 2010.** Cockroaches (*Periplaneta americana* and *Blattella germanica*) as potential vectors of the pathogenic bacteria found in nosocomial infections. *Ann. Trop. Med. Parasitol*, 104(6): 521-8.
- Fermaud M., Gravot E. & Blancard D., 2002.** La pourriture acide dans le vignoble bordelais II, Vection par les drosophiles des micro-organismes pathogènes. *Phytoma, La Défense des Végétaux*, 547: 41-44.
- Finch S. & Collier R.H., 2000.** Host-plant selection by insects, a theory based on 'appropriate/inappropriate landings' by pest insects of cruciferous plants. *Entomol. Exp. Appl*, 96: 91-102.
- Finney D.J., 1971.** Probits analysis. 3<sup>rd</sup> ed, Cambridge University Press, London.
- Flaven-Pouchon J., Garcia T., Abed-Vieillard D., Farine J.P., Ferveur J.F. & Everaerts C., 2014.** Transient and Permanent Experience with Fatty Acids Changes *Drosophila melanogaster* Preference and Fitness. *PLoS ONE*, 9(3): e92352.
- Floyd J.P. & Crowder L.A., 1981.** Sublethal effects of permethrin on pheromone response and mating of male pink bollworm moths. *Journal of Economic Entomology*, 74: 634-638.

- Fotedar R., Shriniwa S. & Banerjee U., 1991.** Nosocomial infections : cockroaches as possible vectors of drug-resistant *Klebsiella*. *The Journal of Hospital Infection*, 18(2): 155-159.
- Fourgeron A.S., 2011.** Réponses comportementales et préférences envers les acides gras à longue chaîne chez *Drosophila melanogaster*. Thèse de Doctorat en Sciences Biologiques. Université de Bourgogne, France. 126 pp.
- Frichman A.M. & Alcamo I.E., 1977.** Domestic cockroaches and human bacterial disease. *Pest Control*, 16-20.
- Frison G., Favretto D., Zancanaro F., Fazzin G. & Ferrara S.D., 2008.** A case of b-carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic. Sci. Int*, 179: 37-43.
- Gemeno C. & Schal C., 2004.** Sex pheromones of cockroaches. In: Cardé R.T. & Miller J.G., (eds), *Advances in insect chemical ecology*, chapter 6. Cambridge University Press, New York, NY. 179-247 pp.
- Gilbert S.F., 1996.** Biologie du développement. 4<sup>ème</sup> édition, De Boeck, ISBN2-8041-2263-8. 892 pp.
- Gordon D.G., 1996.** The compleat cockroach : a comprehensive guide to the most despised and Least Understood. Creature on Earth. *Ten speed pressm Berkely*. 178 pp.
- Goudey-Perrière F. & Perrière C., 1974.** Guide de travaux pratiques de Zoologie et de Biologie Animale. Centre de documentation universitaire. Vol 2.
- Govindarajan M. & Rajeswary M., 2015.** Ovicidal and adulticidal potential of leaf and seed extract of *Albizia lebbek* (L.) Benth. (Family : Fabaceae) against *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, and *Anopheles stephensi* (Diptera : Culicidae), *Parasitol Res*, 114(5): 1949-1961.
- Grandcolas P., 1998.** Les blattes. Organisation mondiale de santé. *Bureau regionalde l'europe*. 24 pp.
- Greenspan R.J. & Ferveur J.F., 2000.** Courtship in *Drosophila*. *Ann. Rev. Genet*, 3: 205-232.

- Grethead P.J., Kooyman C., Launois-Luong M.H. & Popov G.B., 1994.** Les ennemis naturels des criquets du Sahel. Collection Acridologie Opérationnelle, n°8. Ed. Cirad-Gerdat-Prifa, Montpellier. 147 pp.
- Griffiths A.J.F., Miller J.H., Suzuki D.T., Sanlaville C., Lewontin R.C. & Gelbart W.M., 2002.** Introduction à l'analyse génétique. 3<sup>e</sup> édition De Boeck Université. 38 pp.
- Grillet M., 2009.** Implication des signaux sensoriels dans la réceptivité sexuelle de la femelle *Drosophila melanogaster* : cas d'isolement reproducteur chez des populations du Zimbabwe. Thèse de Doctorat en Biologie Animale. Université de Bourgogne, France. 282 pp.
- Grillet M., Dartevelle L. & Ferveur J.F., 2006.** A *Drosophila* male pheromone affects female sexual receptivity. *Proc. R. Soc. B*, 273: 315-323.
- Guignard J.L., 2000.** Biochimie végétale. Ed. Masson, Paris, 274 pp.
- Guillaumin M., Renoux J. & Stockman R., 1969.** La blatte : *Blabera fusca* Br. Edition Doin 1. Paris 1. 67 pp.
- Gupta R.C. & Milatovic D., 2014.** Insecticides. In: Gupta, R.C. (Ed). *Biomarkers in Toxicology*. Academic Press, Elsevier, Amsterdam. 389-407 pp.
- Habbachi W., 2009.** Étude de deux espèces de Blattellidae *Loboptera decipiens* & *Blattella germanica* (L.) : Reproduction et Comportement Sexuel. Mémoire de magister en Biologie et physiologie environnementale. Université Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 88 pp.
- Habbachi W., Bensafi H., Adjami Y., Ouakid M.L., Farine J.P. & Everaerts C., 2010.** Spinosad Affects Chemical Communication in the German Cockroach, *Blattella germanica* (L). *J. Chem. Ecol*, 35(12): 1384-1410.
- Habbachi W., Benhissen S., Ouakid M.L. & Farine J.P., 2013 a.** Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala* (L.) (Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera : Drosophilidae). *Algerian journal of arid environment*, 3: 82-88.

- Habbachi W., 2013 b.** Etude des Blattellidae (Dictyoptera) : Essais Toxicologiques, Synergie et Résistance aux Insecticides et aux Biopesticides. Thèse Doctorat en Biologie Animale. Université Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 170 pp.
- Habbachi W., Benhissen S., Ouakid M.L., Farine J.P. & Bairi A., 2014.** Toxicity of aqueous extracts from Mediterranean plants on *Culex pipens* (Mosquitoes). Case of *Daphne gnidium* (Thymelaeaceae) and *Peganum harmala* (Zygophyllaceae). *J. Wulfenia*, 21(12): 244-252.
- Hales R.A. & Breed M.D., 1983.** Female calling and reproductive behavior in the brown banded cockroach, *Supella longipalpa* (F.) (Orthoptera : Blattellidae). *Ann. Entomol. Soc. Amer*, 76: 239-241.
- Hall J.C., 1994.** The mating of a fly. *Science*, 264(5166): 1702-714.
- Hamby K.A., Hernandez A. Boundy-Mills K. & Zalom F.G., 2012.** Associations of yeasts with Spotted-Wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii* ; Diptera: Drosophilidae) in cherries and raspberries. *Applied and Environmental Microbiology*, 78: 4869-4873.
- Haynes K.F., 1988.** Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Ann. Rev. Entomol*, 33: 149-168.
- Hoffmann A.A. & Parsons P.A., 1991.** *Evolutionary genetics and environmental stress*. Oxford University Press. 284 pp.
- Honda T., Lee C.Y., Yoshida-Kasikawa M., Honjo K. & Furukubo-Tokunaga K., 2014.** Induction of Associative Olfactory Memory by Targeted Activation of Single Olfactory Neurons in *Drosophila* Larvae. *Scientific Reports*, 4: 4798.
- Idrissi Hassani L.M., Ould Ahmedou M.A. Chihrane J. & Bouaichi A., 1998.** Effets d'une alimentation en *Peganum harmala* L. sur la survie et le développement ovarien du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forsk. *Ethnopharmacologia*, 23: 26-41.
- Idrissi Hassani M.L. & EI Hadek M., 1999.** Analyse de la composition de l'huile de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) from Morocco. *Acta Botan Gallica*, 146: 353-359.

- Idrissi Hassani L.M. & Hermas J., 2008.** Effet de l'alimentation en *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forsk. (Orthoptera, Acrididae). *Zool. Baetica*, 19: 71-84.
- Isabel G., Pascual A. & Preat T., 2004.** Exclusive consolidated memory phases in *Drosophila*. *Science*, 304: 1024-1027.
- Isman M.B., 2002.** Problèmes et perspectives de commercialisation des insecticides d'origine botanique in Regnault-Roger C., Philogène B.J. & Vincen C., 2002. Biopesticides d'origine végétale. *Ed. Tec & Doc*, Lavoisier, Paris, 301-311 pp.
- Jacobs S., 2013.** German cockroaches. The Pennsylvania State University. Disponible sur <http://ento.psu.edu/extension/factsheets/german-cockroaches>.
- Jbilou R., Ennabili A. & Sayah F., 2006.** Insecticidal activity of four medicinal plant extracts against *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera : Tenebrionidae). *Afr. J. Biotechnol*, 5(10): 936-940.
- Jeyabalan D., Arul N. & Thangamathi P., 2003.** Studies on effects of *Plargonium citrosa* leaf extracts on malarial vector, *Anopheles stephensi* Liston. *Bioresour Technol*, 89: 185-189.
- Jolivet P., 1980.** Les insectes et l'homme. Presse Universitaire de France, collect. *Que sais-je?*. 1: 127 pp.
- Joly D., 2006.** La drosophile : Un insecte au service de la science. *Insectes*, 128(1): 25-29.
- Julve P.h., 1998.** Baseflor. Index botanique, écologique et chorologique de la flore de France. Version : 23 avril 2004.
- Kadhim A.D., Salim H.S. & Abed M.S., 2015.** Efficacy of Harmal *Pegnum harmala* on Rice weevil *Sitophilus oryzae* L. in the stored Rice grains. *European Academic Research*, 3(7): 7506-7514.
- Kaiser L., 1999.** Le comportement des insectes. *Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S)*, Section 4 : Comportement, 35: 136-147.
- Karlson P. & Lüscher M., 1959.** Pheromones : A new term for a class biologically active substances. *Nature*, 183: 55-56.

- Kartal M., Altun M.L. & Kurucu S., 2003.** HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmin and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 31: 263-269.
- Kayser O., Albrecht F.K. & Simon L.C., 2003.** Natural Products as potential antiparasitic drugs. Robert Koch-Institut, London School of Hygiene and Tropical Medicine, Department of Infectious and Tropical Diseases, Keppel Street, London, United Kingdom.
- Keller A., 2007.** *Drosophila melanogaster*'s history as a human commensal. *Curr. Biol.*, 17: 77-81.
- Kemassi A., 2008.** Toxicité comparée des extraits de quelques plantes acridifuges du Sahara septentrional Est algérien sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Mémoire de Magister en Sciences Agronomiques. Université Kasdi-Merbah de Ouargla, Algérie. 160 pp.
- Kemassi A., Boual Z., Lebbouz I., Daddi Bouhoun M., Saker M.L., Ould ElHadj-Khelil A. & Ould El Hadj M.D., 2012.** Étude de l'activité biologique des extraits foliaires de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae). *Lebanese Science Journal*, 13(2): 81-97.
- Khattak M.K., Shahzad M.F. & Jilani G., 2006.** Effect of different extracts of harmal (*Peganum harmala* L.), rhizomes of kuth (*Saussurea lappa* c. b. Clarke) and balchar (*Valeriana officianalis* L.) on the settling and growth of Peach Pruit Fly, (*Bactrocera zonata* Saunders). *Pak. Entomol.*, 28: 1.
- Khosravi R. & Sendi J.J., 2013.** Toxicity, development and physiological effect of *Thymus vulgaris* and *Lavandula angustifolia* essential oils on *Xanthogaleruca luteola* (Coleoptera : Chrysomelidae). *Journal of King Saud University-Science*, 25: 349-355.
- Kloepper J., Harrison M. & Brewer J., 1979.** The association of *Erwinia carotovora* var. *atroseptica* and *Erwinia carotovora* var. *carotovora* with insects in Colorado. *Am. Potato J.*, 56: 351-361.
- Koehler P.G. & Patterson R.S., 1987.** Implication of cockroach infestations to human health. *Infections in Medicine*, 4: 349-355, 358-359, 393.

- Kohler H.R. & Triebkorn R., 2013.** Wild life ecotoxicology of pesticides : can we track effects to the population level and beyond?. *Science*, 341(6147): 759-765.
- Kowalski S., Aubin T. & Martin J.R., 2004.** Courtship song in *Drosophila melanogaster* : a differential effect on male-female locomotor activity. *Can. J. Zool*, 82: 1258-1266.
- Kubo I., 2006.** New concept to search for alternate insect control agents from plants. In Rai, M., and M. Carpinella (eds.) Naturally occurring bioactive compounds 3. Elsevier, Amsterdam, The Netherlands. 61-80 pp.
- Kurtovic A., Widmer A. & Dickson B.J., 2007.** A single class of olfactory neurons mediates behavioural responses to a *Drosophila* sex pheromone. *Nature*, 446: 542-546.
- Lala S., Pramanick S., Mukhopadhyay S., Bandyopadhyay S. & Basu M.K., 2004.** Harmine : Evaluation of its anti-leishmanial properties in various vesicular delivery systems. *J. Drug Target*, 12: 165-175.
- Lamchouri F., Settaf A., Cherrah Y., El Hamidi M., Tligui N., Lyoussi B. & Hassarn M., 2002.** Experimental toxicity of *Peganum harmala* seeds. *Annales Pharmaceutiques Françaises*, 60: 123-129.
- Lasbleiz C., Ferveur J.F. & Everaerts C., 2006.** Courtship behaviour of *Drosophila melanogaster* revisited. *Animal Behaviour*, 72: 1001-1012.
- Lebouz I., 2010.** Activité biologique des extraits foliaires de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) chez *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1755) (Orthoptera, Acrididae). Mémoire de Magister. Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie. 165 pp.
- Lebreton S., Grabe V., Omondi A.B., Ignell R., Becher B. G., Hansson B. S., Sachse S. & Witzgall P., 2014.** Love makes smell blind : mating suppresses pheromone attraction in b females via Or65a olfactory neurons. *Scientific Reports*, 4: 7119.
- Lee C.Y., Yap H.H. & Chong N.L., 1998.** Sublethal effects of deltamethrin and propoxur on longevity and reproduction of German cockroaches, *Blattella germanica*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 89: 137-145.
- Li X., Schuler M.A. & Berenbaum M.R., 2007.** Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annu. Rev. Entomol*, 52: 231-253.

- Liang D. & Shall C., 1993.** Ultrastructure and maturation of a sex pheromone gland in the female German cockroach, *Blattella germanica*. *Tissue & Cell*, 25: 763-776.
- Lihoreau M., Zimmer C. & Rivault C., 2008.** Mutual mate choice : when it pays both sexes to avoid inbreeding. *PloS ONE*, 3(10): 1-7.
- Linnaeus C., 1753.** Species Plantarum Exhibentes Plantas Rite Cognitas ad Genera Relatas, cum Differentiis Specificis, Nominibus Trivialibus, Synonymis Selectis, et Locis Natalibus, Secundum Systema Sexuale Digestas, *ed. I.* Laurentius Salvius, Stockholm, Sweden. Facsimile published 1957-1959 as *Ray Soc. Publ.* 140 and 142. The Ray Society, London, U.K.
- Linnaeus C., 1767.** Systema naturae, Tom I. Parts II. *Edition Duodecima.* Reformata. Holmiae. (Laurentii Salvii). 533-1327 pp.
- Lorec A., 2013.** Un outil idéal pour décrypter les mécanismes d'attaques bactériennes et nos propres défenses. Les défis du CEA. *Le magazine de la recherche et de ses applications.* 180: 15-21.
- Louis C., Girard M., Kuhl G. & Lopez-Ferber M., 1996.** Persistence of *Botrytis cinerea* in its vector *Drosophila melanogaster*. *Phytopathology*, 86: 934-939.
- Lürning M. & Scheffer M., 2007.** Info-disruption : pollution and transfer of chemical information between organisms. *Trends. Ecol. Evol*, 22: 37-49.
- Mahjoob M., Nejati J. & Keyhani A., 2010.** Evaluation of bacterial infection of external surface and digestive system of cockroach species. *Hormozgan Med J*, 14(1): 80-86.
- Mahmoud M.F., El-Bahrawy A.F., El-Sharabasy H.M., El-Badry Y.S. & El-Kady G.A., 2013.** Ecological investigation, density, infestation rate and control strategy of German cockroach, *Blattella germanica* (L.) in two hospitals in Ismailia, Egypt. *Arthropods*, 2(4): 216-224.
- Mahmoudian M., Jalilpour H. & Salehian P., 2002.** Toxicity of *Peganum harmala* : Review and a Case Report. *Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics*, 1: 1-4.
- Maire R., 1933.** Études sur la flore et la végétation du Sahara central. Mémoire de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord, Alger. 361 pp.



- Maistrello L., López M., Soria F. & Ocete R., 2005.** Growth inhibitory activity of *Daphne gnidium* (L.) (*Thymelaeaceae*) extracts on the elm leaf beetle (Col., Chrysomelidae). *Applied Entomology Journal*, 129(8): 418-424.
- Marcillac F., Houot B. & Ferveur J.F., 2005.** Revisited Roles of *Drosophila* Female Pheromones. *Chem. Senses*, 30(1): 273-274.
- Masna F., 2016.** Inventaire de la faune Blattoptère urbaine et forestière dans la région aride de Laghouat. Caractérisation des principales espèces nuisibles et essais de lutte. Thèse de Doctorat en Ecologie Animale. Université Badji Mokhtar d'Annaba, Algérie. 94 pp.
- Masna F., Habbachi W., Ouakid M.L. & Bairi A., 2015.** Azadirachtin affects mortality and sexual behavior in German cockroach, *Blattella germanica* (L.) (Dictyoptera : Blattellidae). *Kasmera*, 43(2): 66-75.
- Masson C. & Brossut R., 1981.** La communication chimique chez les insectes. *La recherche*, 121: 406-416.
- Massoud M., Jalilpour H. & Salehian P., 2002.** Toxicity of *Peganum harmala* : Review and a Case Report. *Iran. J. Pharmacol*, 1: 1-4.
- Mckay T., Bianco T., Rhodes L. & Barnett S., 2013.** Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Nematoda : Filarioidea) in mosquitoes from northeast Arkansas, the United States. *J. Med. Entomol*, 50(4): 871-878.
- McKenzie J.A., & Parsons P.A., 1972.** Alcohol tolerance an ecological parameter in the relative success of *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. *Oecologia*, 10: 373-388.
- McKenzie J.A., 1974.** The distribution of vineyard populations of *Drosophila melanogaster* during vintage and non-vintage periods. *Oecologia*, 15: 1-16.
- McKenzie J.A. & Mc Kechnie S.W., 1979.** A comparative study of resource utilization in natural populations of *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Oecologia*, 40: 299-309.
- Meera S. & Mann A.K., 2002.** Effect of smoke treatment of *Peganum harmala* on the mortality of *Callosobruchus chinensis* Linnaeus. *Insect Environ*, 8: 108-109.

- Mehaoua M.S., 2014.** Abondance saisonnière de la pyrale des dattes (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller., 1839), bioécologie, comportement et essai de lutte. Thèse de Doctorat en Sciences Agronomiques. Université Mohamed Khider de Biskra, Algérie. 109 pp.
- Meigen J.W., 1830.** Systematische Beschreibung der bekannten europäischen zweiflügeligen Insekten. 6. Hamm. pp. IV+1 - 401.
- Menasria T., Moussa F., El-Hamza S., Tine S., Megri R. & Chenchouni H., 2014.** Bacterial load of German cockroach (*Blattella germanica*) found in hospital environment. *Pathog. Glob. Health*, 108(3): 141-147.
- Merritt R.W., Courtney G.W. & Keiper J.B., 2003.** Diptera (Flies, Mosquitoes, Midges, Gnats). In : Resh V.H., Cardé R.T. *Encyclopedia of insects. Ed., Academic Press, San Diego, USA.* 324-340 pp.
- Messiad R., 2006.** Effets d'un régulateur de croissance, l'azadirachtine chez *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae) : Physiologie, Activités enzymatiques et comparaison de la détoxification avec d'autres groupes de pesticides. Thèse de Doctorat en Environnement et Santé. Université Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 82 pp.
- Miller D.M. & Koehle P.G., 2003.** Least Toxic Methods of cockroach control. *ENY*. 258 pp.
- Mirzaei M., 2007.** Treatment of natural tropical theileriosis with the extract of the plant *Peganum harmala*. *Korean J. Parasitol*, 45(4): 267-271.
- Mohammedi Z., 2013.** Etude phytochimique et activités biologiques de quelques plantes médicinales de la région Nord et Sud Ouest de l'Algérie. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Abou-Bekr Belkaid de Telemcen, Algérie. 170 pp.
- Morais P.B., Hagler A.N., Rosa C.A. & Mendoca-Hagler L.C., 1992.** Yeasts associated with *Drosophila* in tropical forests of Rio de Janeiro, Brazil. *Canadian Journal of Microbiology*, 38: 1150-1155.
- Morakchi-Kilani S., Aribi N., Farine J.P., Smaghe G. & Soltani N., 2009.** Halofenozide affects sexual behaviour, cuticular hydrocarbons and reproduction in the female German cockroach *Blattella germanica* (Dictyoptera, Blattellidae). *Belg. J. Zool*, 139(2): 147-155.

- Mordue L.A.J., Morgan E.D. & Nisbet A.J., 2010.** Addendum : Azadirachtin, a natural product in insect control : An update. In : Gilbert L.I., & Gill S.S. (Eds). *Insects Control*. Elsevier, Oxford, UK. 204-206 pp.
- Mostafa T.Y., Mahgoub S.M. & Ahmed M.S., 1996.** The efficiency of certain plant powders against cowpea weevil *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera : Bruchidae). *Egypt. J. Agric. Res*, 74: 307-319.
- Motevali Haghi S.F., Aghili S.R., Gholami Sh., Salmanian B., Nikokar S.H., Khangolzadeh Geravi M. & Hajati H., 2014.** Isolation of medically important fungi from cockroaches trapped at hospitals of Sari, Iran. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*, 3: 29-36.
- Moumen K., 1997.** La transformation phasaire chez le Criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) : Mécanique et action de l'alimentation. Thèse de DEA (Diplôme d'études approfondies), Tunis, 38 pp.
- Mourier A., 2014.** Lutte intégrée contre deux insectes synanthropes : *Blattella germanica* et *Cimex lectularius*. Apports de l'écologie scientifique pour le conseil à l'officine. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Bordeaux, France. 101 pp.
- Moussa A., 2000.** Régime alimentaire d'*Anacridium aegyptium* (Linné, 1746) à dergana. Comparaison d'extraits des plantes sur quelques paramètres physiologiques de *Locusta migratoria* (Linné, 1758) et *A. aegyptium* (Orthoptera : Acrididae). Mémoire d'Ingénieur en Agronomie. Institut National Agronomique d'El Harrach-Alger, Algérie. 85 pp.
- Movafeghi A., Abedini M., Fathiazad F., Aliasgharpour M. & Omid, Y., 2009.** Floral nectar composition of *Peganum harmala* L. *Nat. Prod. Res*, 23: 301-308.
- Nadarasah G., & Stavrinides J., 2011.** Insects as alternative hosts for phytopathogenic bacteria. *FEMS. Microbiol. Rev*, 35: 555-575.
- Nath D., Sethi N., Srivastava R., Jain A.K. & Singh R.K., 1993.** Study on tetragenic and antifertility activity of *Peganum harmala* in rats. *Fitoterapia*, 64: 321-324.
- Nejati J., Keyhani A., Moosa-Kazemi S.H., Mohammadi M., Mahjoob M. & Boostanbakhsh A., 2012.** Cockroaches' bacterial infections in wards of hospitals, Hamedan city west of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 2(5): 381-384.

- Nenaah G., 2010.** Antibacterial and antifungal activities of (beta)-carboline alkaloids of *Peganum harmala* (L) seeds and their combination effects. *Fitoterapia*, 81: 779-782.
- Nicholson G.M., 2007.** Fighting the global pest problem : preface to the special toxicon issue on insecticidal toxins and their potential for insect pest control. *Toxicon*, 49(4): 413-422.
- Nishida R. & Fumaki H., 1983.** Female sex pheromone of the German cockroach, *Blattella germanica*. *Mem. Coll. Agric. (Kyoto Univ)*, 11: 1-24.
- Niven J.E., Graham C.M. & Burrows M., 2008.** Diversity and evolution of the insect ventral nerve cord. *Annual Review of Entomolgy*, 53: 253-271.
- Nojima S., Schal C., Webster F.X., Santangelo R.G. & Roelofs W.L., 2005.** Identification of sex pheromone of the German cockroach, *Balattella germanica*. *Science*, 307: 1104-1106.
- O'Grady P.M., 2003.** *Drosophila melanogaster*. In : Resh V.H., Cardé R.T. *Encyclopedia of insects*. Ed., Academic Press, San Diego, USA. 345-348 pp.
- Odegaard F., 2000.** How many species of arthropods ? Erwin's estimate revised. *Biological Journal of Linnean Society*, 71: 583-597.
- Ouakid M.L., 2006.** Bioécologie de *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) dans les subéraies d'El Tarf : comportement alimentaire et essais insecticides. Thèse de Doctorat d'État en Sciences Naturelles. Université Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 150 pp.
- Ould El Hadj M.D., Tankari Dan-Badjo A., Halouane F. & Doumandji S., 2006.** Toxicité comparée des extraits de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera-Cyrtacanthacridinae). *Sécheresse*, 17(3): 407-414.
- Ozenda P., 1977.** Flore du Sahara. Ed. du CNRS, Paris (France). 312-322 pp.
- Ozenda P., 1991.** Flore et végétation du Sahara. 3e Ed. Centre National de la Recherche Scientifique, Paris (France). 39-96 pp.

- Pacaud F., 2008.** Apprentissage visuel et olfactif chez la blatte *Blattella germanica* (L.). Rapport de stage en Master 1 "Biologie des Organismes, des Populations et des Écosystèmes". CNRS-Université de Rennes 1, France. 17 pp.
- Papaj D.R. & Vet L., 1990.** Odor learning and foraging success in the parasitoid, *Leptopilina heterotoma*. *J. Chem. Ecol.*, 16: 3137-3150.
- Parsons P.A., 1979.** Larval reaction to alcohol as an indicator of resource utilization differences between *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. *Oecologia*, 30: 141-146.
- Parvathi D.V., Amritha A.S. & Paul S.F.D., 2009.** Wonder animal model for genetic studies, *Drosophila melanogaster*, its life cycle and breeding methods, a review. *Sri Ramachandra Journal of Medicine*, 2(2): 33-38.
- Pavlou H.J. & Goodwin S.F., 2013.** Courtship behavior in *Drosophila melanogaster* : towards a 'courtship connectome'. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 23(1): 76-83.
- Pérez Izquierdo M.A. & Ocete R., 1994.** Actividad anti-alimentaria de extractos de *Daphne gnidium* L. y *Anagyris foetida* L. sobre *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (*Lepidoptera* : *Noctuidae*). *Bol. San. Veg. Plagas*, 20: 623-629.
- Petterson J., 1970.** An aphid sex attractant. *I. Biological studies. Entomol. Scand.*, 1: 63-73.
- Pham-Delègue M.H., Roger R., Charles R. & Masson C., 1990.** Effet d'une préexposition olfactive sur un comportement d'orientation en olfactomètre dynamique à quatre voies chez l'abeille (*Apis mellifera* L.). *Insectes Soc.*, 37: 181-187.
- Philogène B.J.R., Regnault-Roger C. & Vincent C., 2002.** Produits phytosanitaires insecticides d'origine végétale : promesses d'hier et d'aujourd'hui. Biopesticides d'origine végétale (C. Regnault-Roger, B.J.R., Philogène and C. Vincent). Paris, Lavoisier. 1-17 pp.
- Pottier-Alapetite G., 1979.** Flore de la Tunisie : Angiospermes, Dicotylédones, Apétales, Dialypétales. Tunisia : Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique et Ministère de l'Agriculture, Tunis.

- Quézel P. & Santa S., 1963.** Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales. *Editions du Centre National de la Recherche Scientifique*, Paris. 475-476 pp.
- Rafalimanana H.J., 2004.** Évaluation des effets d'insecticides sur deux types d'Hyménoptères auxiliaires des cultures, l'abeille domestique (*Apis mellifera* L.) et des parasitoïdes de pucerons : Études de terrain à Madagascar et de laboratoire en France. Thèse de Doctorat en Ecologie et Environnement. Institut National Agronomique Paris-Grignon, France. 207 pp.
- Rageau J., 1958.** Possibilité de lutte contre les mouches en Nouvelle-Calédonie. Paris (FRA) ; Nouméa : Ostrom ; Institut Française d'Océanie. 9 pp.
- Rahman T., Spafford H. & Broughton S., 2011.** Compatibility of spinosad with predaceous mites (Acari) used to control *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Thysanoptera : Thripidae). *Pest. Manag. Sci.*, 67: 993-1003.
- Ramade F., 2011.** Introduction à l'écochimie. Les substances chimiques de l'écosphère à l'homme. *DOC T. & (Ed.)*. Paris : Lavoisier ISBN.
- Rattan R.S., 2010.** Mechanism of Action of Insecticidal Secondary Metabolites of Plant Origin. *Crop Protect.*, 29(9): 913-920.
- Regnault-Roger C., Philogène B.J. & Vincen C., 2002.** Biopesticides d'origine végétale. *Ed. Tec & Doc, Lavoisier*, Paris (France). 311 pp.
- Rehman J.U., Jilani G., Khan M.A., Masih F. & Kanvil S., 2009 a.** Repellent and Oviposition Deterrent Effects of Indigenous Plant Extracts to Peach Fruit Fly, *Bactrocera zonata* Saunders (Diptera : Tephritidae). *Pakistan J. Zool.*, 41(2): 101-108.
- Rehman J. U., Wang X. G., Johnson M.W., Daane K.M., Jilani G., Khan M.A. & Zalom F.G., 2009 b.** Effects of *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) Seed Extract on the Olive Fruit Fly (Diptera : Tephritidae) and Its Larval Parasitoid *Psytalia concolor* (Hymenoptera : Braconidae). *Journal of Economic Entomology*, 102(6): 2233-2240.
- Revadi S., Lebreton S., Witzgall P., Anfora G., Dekker T. & Becher P.G., 2015.** Sexual Behavior of *Drosophila suzukii*. *Insects*, 6: 183-196.

- Rivault C., Cloarec A., Mathieu N. & Blane N., 1995.** La ville au risque de l'écologie, les blattes en milieu urbain. Rapport final. Appel d'offre N°93070 du Ministère de l'Environnement. 101 pp.
- Rivault C., Cloarec A., Mathieu N. & Blane N., 1994.** Les blattes : un animal de ville à toutes saisons. *Ann. Rech. Urb*, 61: 33-38.
- Roth L.M. & Willis E.R., 1960.** The Biotic Association of cockroaches. Smithsonian Institute Miscellaneous Collection.141: 1-470.
- Rust M.K., Owens J.M. & Reiersen D.A., 1995.** Understanding and Controlling the German Cocroache. New York Oxford. *Oxford University Press*. 430 pp.
- Sadek M.M., 2003.** Antifeedant and toxicity of *Adhatoda vasica* leaf extract against *Spodoptera littoralis* (Lep., Noctuidae). *J. Applied Entomol*, 127: 396-404.
- Salari E., Ahmadi K., Dehyagobi R.Z., Purhematy A. & Takaloozadeh H.M., 2012.** Toxic and repellent effect of harmal (*Peganum harmala* L.) acetonic extract on several aphids and *Tribolium castaneum* (Herbst). *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(1): 147-151.
- Salgueiro E. & Reyss A., 2002.** Biologie de la reproduction sexuée. *Edition Belin*, ISBN 2-7011-3267-3. 191 pp.
- Schal C., Gautier J.Y. & Bell W.J., 1984.** Behavioural ecology of cockroaches. *Biol, Rev*, 59: 209-254.
- Schäpers A., Carlsson M.A., Gamberale G. & Janz N., 2015.** The Role of Olfactory Cues for the Search Behavior of a Specialist and General Butterfly. *J. Insect. Behav*, 28: 77-87.
- Schmutterer H., 1990.** Properties and potentials of natural pesticides from neem tree. *Annu. Rev. Entomol*, 35: 271-298.
- Schmutterer H., 1997.** Side-effects of neem (*Azadirachta indica*) products on insect pathogens and natural enemies of spider mites and insect. *Journal of Applied Entomology*, 12: 121-128.
- Schoeters G. & Hoogenboom R., 2006.** Contamination of free-range chicken eggs with dioxins and dioxin-like polychlorinated biphenyls. *Mol. Nutr. Food. Res*, 50: 908-914.

- Shao H., Huang X., Zhang Y. & Zhang C., 2013.** Main Alkaloids of *Peganum harmala* L. and Their Different Effects on Dicot and Monocot Crops. *Molecules*, 18: 2623-2634.
- Sharaf M., El-Ansari M.A., Matlin S.A. & Saleh N.A.M., 1997.** Four flavonoid glycosides from *Peganum harmala*. *Phytochemistry*, 44: 533-536.
- Sharma H.C., Sullivan D.J. & Bhatnagar V.S., 2002.** Population dynamics of the Oriental armyworm, *Mythimna separata* (Walker) (Lepidoptera : Noctuidae) in South-Central India. *Crop Protection*, 21: 721-732.
- Slack J., 2004.** Biologie du développement. 1ère édition, De Boeck. 481 pp.
- Snedeker S.M., 2001.** Pesticides and breast cancer risk : a review of DDT, DDE, and dieldrin. *Environ. Health Perspect*, 109(1): 35-47.
- Sokolowski M.B., 2001.** *Drosophila* : genetics meets behavior. *Nat. Rev. Genet*, 2: 879-890.
- Spieth H.T., 1952.** Mating behavior within the Genus *Drosophila* (Diptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 99: 401-474.
- Tahrouch S., Rapior S., Mondolot-Cosson L., Idrissi Hassani L.A., Bessiere J.M. & Andary C., 2002.** *Peganum harmala* : source combinée d'aromes et de colorants. *Reviews in Biology and Biotechnology*, 2(2): 33-37.
- Tail G., 1998.** Action de quelques substrats alimentaires sur quelques paramètres biologiques de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775), (Orthoptera : Acrididae). Efficacité entologique de *Pseudomonas fluorescens* (Pseudomonadales) sur quelques aspects physiologiques du criquet pèlerin. Thèse de Magistère en Sciences Agronomiques. Institut National Agronomique d'El Harrach-Alger, Algérie. 190 pp.
- Taiz L. & Zeiger E., 2006.** Plant physiology. Ed. Sinauer associates, Sunderland, USA. 764 pp.
- Tanaka A., 1976.** Stages in the embryonic development of the German cockroach *Blattella germanica* (Blattaria, Blattellidae). *Kontyû*, 44: 512-525.
- Tavernier R. & Lizeaux C., 2002.** Sciences Vie Terre Term S-Spec. Maisonneuve & Larose. ISBN 2047295858, 97820472958554. 113, 116, 117 pp.



- Terhzaz S., 2003.** Caractérisation de deux neuropeptides chez *Drosophila melanogaster* : la leucokinine et l'IFamide. Thèse de Doctorat en Neurosciences et Neuropharmacologie. Université Bordeaux I, France. 211 pp.
- Tilahun B., Worku B. & Tachbele E., 2012.** High load of multi-drug resistant nosocomial neonatal pathogens carried by cockroaches in a neonatal intensive care unit at Tikur Anbessa specialized hospital, Addis Ababa, Ethiopia. World sepsis day. Disponible sur <http://www.aricjournal.com/content/1/1/12>.
- Tine S., 2013.** Etude de la biodiversité des Blattes dans les régions semi-arides et arides et évaluation de l'impact d'insecticides chez *Blattella germanica* et *Blatta orientalis* (Dictyoptera, Blattellidae). Thèse de Doctorat en Biologie Animale. Université Badji Mokhtar de Annaba, Algérie. 194 pp.
- Tokro G., 1984.** Les phéromones sexuelles chez *Blattella germanica* L. (Insecte, Dictyoptère). Sécrétion d'une phéromone sexuelle volatile par le pygidium des femelles. Thèse de Doctorat en Biologie Cellulaire et Moléculaire, Option : Entomologie. Université de Bourgogne-Dijon, France. 54 pp.
- Tracqui P. & Demongeot J., 2003.** Eléments de biologie à l'usage d'autres disciplines de la structure aux fonctions : De la structure aux fonctions. *EDP Sciences Editions*. 94-95 pp.
- Uysal H. & Kaya Y., 2004.** Toxicity of *Euphorbia canariensis* latex to some developmental stages of *Drosophila melanogaster* (Diptera : Drosophilidae). *Bull Environ Contam Toxicol*, 72: 45-53.
- Vaillant J. & Derridj S., 1992.** Statistic analysis of insect preference in tow-choise experiments. *J. Insect. Behav*, 5: 773-781.
- Van Timmeren S. & Isaacs R., 2014.** *Drosophila suzukii* in Michigan vineyards, and the first report of *Zaprionus indianus* from this region. *Journal of Applied Entomology*, 10: 1111-12113.
- Vasudev V., Gurushankara H.P., Vishwaprakash Mahadimane P., Khalandar D. & Shamprasad B.R., 2013.** Effects of fungicide Dithane M 45 in *Drosophila melanogaster* on courtship behavior. *Dros. Inf. Serv*, 96: 94-98.

- Vet L.E.M., Van Lenteren J.C., Heymans M. & Meelis E., 1983.** An airflow olfactometer for measuring olfactory responses of hymenopterous parasitoids and other small insects. *Physiol. Entomol*, 8: 97-106.
- Von Schilcher F., 1976.** The role of auditory stimuli in the courtship of *Drosophila melanogaster*. *Anim. Behav*, 24: 18-26.
- Wattiez C. & Beys B., 1999.** Pas de pesticides à la maison solution sans danger pour le contrôle de bestioles indésirables. *Pest. Action Network (Pan). Belg.* 12 pp.
- Wei H. & Du J., 2004.** Sublethal effects of larval traitement with deltamethrin on moth sex pheromone communication system of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *Pestic Biochem Phys*, 80: 12-20.
- White N.J., Pukrittayakamee S., Hien T.T., Faiz M.A., Mokuolu O.A. & Dondorp A.M., 2014.** Paludisme. *Lancet*, 383(9918): 723-735.
- Whittaker R.H. & Feeny P.P., 1970.** Allelochemics : chemical interactions between plants. *Science*, 171: 757-770.
- Wigglesworth V.B., 1972.** The principales of insect physiology. *Seventh Edition*. Chapman and Hall, London. 827 pp.
- Willis E.R., Riser G.R. & Roth, L.M., 1958.** Observation on reproduction and development in cockroaches. *Annals of the Entomological Society of America*, 51: 53-59.
- Xing M., Shen F., Liu L., Chen Z., Guo N., Wang X., Wang W., Zhang K., Wu X. & Wang X., 2012.** Antimicrobial efficacy of the alkaloid harmaline alone and in combination with chlorhexidine digluconate against clinical isolates of *Staphylococcus aureus* grown in planktonic and biofilm cultures. *Lett. Appl. Microbiol*, 54: 475-482.
- Yang C., Belawat P., Hafen E., Jan L.Y. & Jan Y.N., 2008.** *Drosophila* egg-laying site selection as a system to study simple decision-making processes. *Science*, 319: 1679-1683.
- Yang R.Z. & Tangs C.S., 1988.** Plants used for pest control in China : a literature review. *Econ. Bot*, 42: 376-406.

**Yousefi R., Ghaffarifar F. & Dalimi A., 2009.** The Effect of *Alkanna tinctoria* and *Peganum harmala* Extracts on *Leishmania major* (MRHO/IR/75/ER) in Vitro. *Iranian. J. Parasitol*, 4(1): 40-47.

**Zaïdi M.I. & Munir C., 1995.** A new direct isolation method of harmaline from the *harmala* seeds by Mercury (II) ions. *Sarhad Journal of Agriculture*, 11: 219-223.

**Zeng Y., Zhang Y., Weng Q., Hu M. & Zhong G., 2010.** Cytotoxic and Insecticidal Activities of Derivatives of Harmine, a Natural Insecticidal Component Isolated from *Peganum harmala*. *Molecules*, 15: 7775-7791.

**Zhong G.H., Hu M.Y. & Weng A.Q., 2001.** Laboratory and field evaluations of extracts from *Rhododendron molle* flowers as insect growth regulator to imported cabbage worm, *Pieris rapae*, L. (Lepidoptera : Pieridae). *J. Appl. Entomol*, 125: 563-596.

**Zhou H., Du J. & Hang Y., 2005.** Effects of sublethal doses of malathion on responses to sex pheromones by male Asian corn borer moths, *Ostrinia furnacalis* (Guenée). *J. Chem. Ecol*, 31: 1645-1656.

**Faculty.ksu.edu**, [http://healthyhomegardening.com/images/gardengeek/syrian\\_rue.jpg](http://healthyhomegardening.com/images/gardengeek/syrian_rue.jpg)

**Healthyhomegardening.com**, <http://faculty.ksu.edu.sa/AlRowaily/Pictures%20Library/Range%20land%20Flora%20d9%86%d8%a8%d8%a7%d8%aa%d8%a7%d8%aa%20d8%a7%d9%84%d9%85%d8%b1%d8%a7%d8%b9%d9%8a/Peganum%20harmala.bmp>

# Résumé

Les invasions biologiques ou proliférations de nuisibles, de plus en plus fréquentes, sont l'une des premières causes de perte de biodiversité, la source de pertes économiques importantes et dans certains cas entraînent des retentissements sanitaires. Face aux problèmes de résistance et de toxicité des produits chimiques largement utilisés jusqu'ici, les pouvoirs publics se penchent de plus en plus sur les méthodes dites "biologiques" pour y remédier. Les composés naturels issus des produits végétaux et résultants du métabolisme secondaires sont des meilleurs alternatifs. Récemment, des nouvelles recherches s'appuient sur la compréhension de l'effet des faibles quantités d'insecticide sur les fonctions physiologiques des organismes "nuisibles" comme l'olfaction, à la base de nombreux comportements vitaux.

C'est dans cet esprit que nous abordons le cas d'insectes urbains, la mouche du vinaigre et un commensal, la blatte. La mouche du vinaigre, *Drosophila melanogaster*, véhicule des germes pathogènes et leur simple pullulation la rende gênante. La blatte germanique, *Blattella germanica*, entraîne des problèmes d'hygiène et est aussi à l'origine de manifestations allergiques.

Dans un premier temps, nous avons étudié l'impact toxicologique des extraits aqueux de différentes parties de deux plantes spontanées, *Peganum harmala* (feuilles, fleurs et graines) et *Daphné gniduum* (feuilles et baies). Ces derniers révèlent une bonne activité insecticide, ils provoquent une mortalité importante chez les deux espèces en fonction de la concentration et du temps d'exposition. Le traitement, par ingestion, agit essentiellement sur le cycle de développement de la mouche ; il influe sur la durée et le nombre d'individus (phénomène de mue). De plus, des malformations morphologiques, des changements de la pigmentation du corps, déformations au niveau des ailes et des pattes chez les adultes, ont été enregistrés.

L'objet principal de cette thèse consiste à évaluer les effets différés de différentes concentrations sublétales de chaque plante sur le comportement alimentaire des larves de 3<sup>ème</sup> stade, sexuel et l'oviposition de *D. melanogaster* et sur le comportement sexuel et grégaire chez les adultes de *B. germanica*. Grâce à des tests de choix, nous avons pu montrer que ces composés avaient un fort impact sur le phénomène d'attraction et l'acuité olfactive d'insectes (larves et femelles de *D. melanogaster*). Elles perdent la faculté de détection d'odeurs d'alimentation ou du site de ponte ; leurs choix est aléatoire. Ses effets, répulsifs ou attractifs, ont également été déterminés. Comme, ils agissent sur le nombre d'œufs pondus. Nos résultats nous a permis aussi d'observer des comportements pré-copulatoires anormaux ou inhabituels (attraction à distance, reconnaissance par contact, etc...) et de déceler des parades déficientes, ce qui signifie que ces biopesticides agissent probablement comme des perturbateurs d'information en modifiant la communication chimique, réduisant ainsi les chances de reproduction des insectes cibles. Les blattes ayant exposées aux traitements insecticides et testées en olfactomètre, montrent un changement de comportement d'orientation vis-à-vis des odeurs de leurs congénères.

**Mots-clés** : Insectes nuisibles, *Drosophila melanogaster*, *Blattella germanica*, biopesticides, *Peganum harmala*, *Daphne gniduum*, toxicité, concentration sublétale, comportement, olfaction.

# Abstract

Biological invasions or pest proliferations are more and more frequent and are one of the first causes of major biodiversity and economic losses and in some cases may pose health impacts. Chemicals were widely used until now, but their toxicity and the growing immunity of insects make public authorities to favor biological methods. Natural compounds derived from plant products and resulting secondary metabolism are the best alternatives. Recently, new researches are based on understanding the effect of low amounts of insecticide on the physiological functions of the pests such as olfaction, which underlies many vital behaviors.

In this perspective, we approach the case of urban insects, the vinegar fly and a commensal, the cockroach. The vinegar fly, *Drosophila melanogaster*, carries pathogenic germs or even their simple multitude makes it annoying. The German cockroach, *Blattella germanica*, causes problems of hygiene and allergic problems.

Initially, we studied the toxicological impact of aqueous extracts of different parts of two spontaneous plants, *Peganum harmala* (leaves, flowers and seeds) and *Daphne gniduum* (leaves and berries). The latter show a good insecticidal activity, they cause a significant mortality in both species depending on concentration and time of exposure. The treatment, by ingestion, acts essentially on the development cycle of the fly ; It affects the duration and number of individuals (metamorphosis phenomenon). In addition, morphological malformations, changes in body pigmentation, deformities in wings and legs in adults were recorded.

The main objective of this thesis is to evaluate the delayed effects of different sublethal concentrations of each product on the feeding behavior of third instar larvae, *D. melanogaster* oviposition and on sexual and gregarious behavior in adults *B. germanica*. Using a two-choice tests, we were able to show that these compounds had a strong impact on the phenomenon of attraction and the olfactory acuity of insects (larvae and females of *D. melanogaster*). They lose the ability to detect feed odors or laying site ; their choices are random. Their effects, repulsifs or attractifs, were also determined. As, they act on the number of eggs laid. Our results also allowed us to observe abnormal or unusual pre-copulatory behaviors (distance attraction, contact recognition, etc.) and detect deficient parades, Which signify that this biopesticide probably as a disruptive information by altering the chemical communication, which leads to reduced reproduction chances of target insects. Cockroaches exposed to insecticide treatments and tested in olfactometer show a change in orientation behavior towards odors of their congeners.

**Keywords :** Pests, *Drosophila melanogaster*, *Blattella germanica*, biopesticides, *Peganum harmala*, *Daphne gniduum*, toxicity, sublethal concentration, behavior, olfaction.

## الملخص :

الغزوات البيولوجية أو انتشار الحشرات الضارة، أكثر وأكثر تواترا، هي واحدة من الأسباب الأولية لفقدان التنوع البيولوجي، ومصدر خسائر اقتصادية مهمة وفي بعض الحالات تؤدي إلى مضاعفات صحية. لمواجهة مشاكل مقاومة وسمية المواد الكيميائية المستخدمة على نطاق واسع حتى الآن، فإن السلطات تميل أكثر وأكثر إلى طرق تسمى "البيولوجية" لإصلاحه. المركبات الطبيعية تستخرج من المنتجات النباتية وما ينتج عن عملية الأيض الثانوية هي البديل الأفضل. مؤخرا، أصبح البحوث الجديدة تستند على فهم تأثير كميات صغيرة من المبيدات الحشرية على الوظائف الفيزيولوجية " للكائنات الضارة " مثل الشم، الأساس لكثير من السلوكيات الهامة.

ومن هذا المنطلق، تطرقنا لحالة الحشرات في المناطق الحضرية، ذبابة الخل والمتعايش الصرصور. ذبابة الخل *Drosophila melanogaster*، التي تنقل الجراثيم المسببة للأمراض أو حتى مجرد تكاثرها يجعل منها مزعجة. الصرصور الألماني *Blattella germanica*، يؤدي إلى مشاكل صحية وهو أيضا مصدر للحساسية.

أولا، قمنا بدراسة تأثير السمي للمستخلص المائي من أجزاء مختلفة من نبتتين تلقائيتين، الحرمل *Peganum harmala* (أوراق، أزهار والبذور) والأزاز *Daphne gniduum* (أوراق و ثمار). هذه الأخيرة تكشف عن وجود نشاط جيد ضد الحشرات، فإنها تتسبب في قتل النوعين، وهذا على حسب التراكيز ومدة أخذ المركب. كما يؤثر العلاج أيضا على دورة التطور للذبابة (ظاهرة التحولات). وزيادة عن ذلك، سجل التشوه الشكل الخارجي، التغيرات في تصبغ الجسم، عاهات على مستوى الأجنحة و الأرجل لدى البالغين.

الغرض الرئيسي من هذه الدراسة هو تقييم التأثيرات المتأخرة من تركيزات مختلفة دون المميتة من كل نبتة على سلوك تغذية يرقات المرحلة الثالثة، الجنسي و الإباضة للذبابة والسلوك الجنسي والاجتماعي للصرصور. بفضل اختبارات الاختيار، لقد أظهرنا أن هذه المركبات لها تأثير قوي على ظاهرة الجذب وحدة حاسة الشم (اليرقات والإناث). تفقد القدرة على الكشف عن روائح التغذية أو موقع الإباضة (خيارهم عشوائي). وحددت أيضا تأثيراتها الجاذبة و النافرة. كما أنها تؤثر على عدد البيض الذي تضعه. سمحت نتائجنا أيضا بمراقبة سلوكيات غير طبيعية أو غير عادية قبل التزاوج (التجاذب عن بعد، والتعرف بالاتصال... الخ) ، وهو ما يعني أن هذه المبيدات الحيوية ربما تكون بمثابة مثبطات للمعلومات عن طريق تغيير التواصل الكيميائي، والحد من نجاح تزاوج الحشرات المستهدفة. الصراصير التي تعرضت للمبيدات و التي أختبرت ب olfactomètre تظهر تغيير في سلوك التوجه لروائح قرانهم.

**كلمات المفتاح :** حشرات ضارة ، *Drosophila melanogaster* ، *Blattella germanica* ، مبيدات بيولوجية، *Daphne gniduum* ، سمية، تركيز دون المميت ، سلوك ، حاسة الشم.



E-ISSN: 2320-7078  
P-ISSN: 2349-6800  
JEZS 2016; 4(6): 638-642  
© 2016 JEZS  
Received: 26-09-2016  
Accepted: 27-10-2016

**Djamila Elbah**  
Laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Badji Mokhtar, Annaba 23000, Algeria

**Wafa Habbachi**  
Laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Badji Mokhtar, Annaba 23000, Algeria

**Med Laid Ouakid**  
Laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Badji Mokhtar, Annaba 23000, Algeria

**Abdelkrim Tahraoui**  
Laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Badji Mokhtar, Annaba 23000, Algeria

**Correspondence**  
**Djamila Elbah**  
Laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Department of Biology, Faculty of Sciences, University Badji Mokhtar, Annaba 23000, Algeria

## Sublethal effects of *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) on sexual behavior and oviposition in fruit fly *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae)

**Djamila Elbah, Wafa Habbachi, Med Laid Ouakid and Abdelkrim Tahraoui**

### Abstract

*Peganum harmala* (Zygophyllaceae) is an herbaceous plant of the mediterranean boards, rich in indolic alkaloids that confer it an insecticidal activity (biopesticide). In this study, the deferred toxic effects of *P. harmala* were evaluated on sexual behavior in the fruit fly, *Drosophila melanogaster*. Treatment was applied on 2<sup>nd</sup> instar larvae (L<sub>2</sub>), by ingestion of a sublethal concentration (300 µg/ml). The harmel affected negatively the series of behavioral sequences leading to mating in adults (courtship elements), causing an abortion rate of 90%. In addition, it has a repellent effect expressed by the choice of oviposition site by females causing a reduction the number of laid eggs.

**Keywords:** *Peganum harmala*, deferred effects, sublethal concentration, mating, oviposition, *Drosophila melanogaster*

### 1. Introduction

In recent decades, environmental problems have incited organizations and research institutions to develop more biological methods, in order to limit the use of chemical pesticides. One of its forms is the use of secondary compounds from plants to control harmful insects [1].

*Peganum harmala* (L.) (Zygophyllaceae), is a one of the most important sources of natural substances due to the structural diversity of alkaloids that are present in the plant and their bioactivity. It is abundant in Mediterranean arid areas (Oriental Morocco, Septentrional Sahara, Algerian highlands, Tunisia, Libya and Egypt) [2]. Many studies have showed the toxic effects of the substances extracted from *P. harmala* in control of various insect species, such as *Schistocerca gregaria* [3-5], *Plodia interpunctella* [6], *Spodoptera littoralis* [7] and *Tribolium castaneum* [8, 9].

Dipteran regroup a large number of insects that are a causing a major risk to human health [10], including the fruit fly, *Drosophila melanogaster* (M.) (Diptera, Drosophilidae). It is a species of tropical origin (East Africa), worldwide distributed due to human activities and its abundance is correlated to the degree of urbanization [11, 12]. Its nuisance comes from the fact that it is responsible for moisture and infestation of fruits via fungi and bacteria that it transports, producing also hundreds of insects resistant to the different living conditions in a more or less important duration. The larvae can cause intestinal irritation and diarrhea if swallowed by eating infested fruit [13, 14]. It also remains a choice material for biological essays.

Many behaviors of *Drosophila* based on recognition of chemicals and especially pheromones representing intraspecific chemical signals, which play an important role in attracting and discrimination of sexual partners [15]. Recent studies describe that pesticides may also interfere with the chemical communication (olfactory and gustatory senses) of exposed species and therefore cause inadequate behavioral responses [16]. Some studies have shown the effect of sublethal doses of insecticides on the behavior of harmful or beneficial insects [17, 18], including a decrease in behavioral responses to sex pheromones in treated individuals [19, 20].

The sexual behavior of the fly can be used as an important parameter in order to understand the effects of plant extracts. The aim of the present work is to evaluate the secondary effects of aqueous leaves extract of *P. harmala*, at a sublethal concentration (300 µg/ml), on the series of

behavioral sequences leading to mating, reproductive potential and olfactory attractiveness in choosing of oviposition sites in *Drosophila*.

## 2. Materials and Methods

### 2.2 Insect

*D. melanogaster* is a holometabolous insect, characterised with a short time of the developmental cycle (from egg to adult imago, passing through three larval stages and pupal stage in duration of 10-12 days, at 25 °C) and its prolific reproduction mode induces a large number of descendants in each generation (300 descendants per female). The female lays eggs on the flesh of ripe and wounded fruits. For experiment, a stock of a wild strain, derived from fermented apples in region of Annaba (Algeria), was conserved in vials containing a standard agar medium (cornmeal and brewer's yeast base), at a temperature of 25 ± 1 °C, a humidity of 70% and a 12 : 12 h light : dark cycle. Rearing of insects was conducted in laboratory of Applied Neuro-Endocrinology, Faculty of Sciences, University Badji Mokhtar of Annaba (Algeria) in 2016.

### 2.2 Plant aqueous extract preparation

Fresh leaves of *P. harmala* (500g) were collected in September 2016 from the Laghouat region Algeria (33 ° 47'59 "N, 2 ° 51'54" E). Leaves were rinsed (with water) and carefully cut into pieces of 2 to 5 cm, then they are boiled in a liter of distilled water for 1 hour of time until obtaining an initial stock solution of 1000 µg/ml, filtered with filter paper (Whatman). The used concentration (300 µg/ml) was obtained after dilution with distilled water.

### 2.3 Effects of *P. harmala* on the behavior of *D. melanogaster*:

**2.3.1 Description of courtship elements:** Courtship in *Drosophila* is a succession of predetermined and invariable actions [21, 22]. The male, first, is moving towards a potential female and tap her on the cuticle with his fore legs; if the female moves, the male follows and vibrates one wing. Then, when the female stops, the male running in circles around her, lick her genitalia with his proboscis and attempts to copulate [23, 24].

**2.3.2 Treatment:** To evaluate the activity of *P. harmala* on adults courtship, a treatment by ingestion was performed on 2<sup>nd</sup> instar larvae. 40g of culture medium containing 10ml of product, is distributed in four tubes where we put the larvae. An untreated medium was used as control. The newly emerged adults are kept in isolation (individually) in small

tubes containing culturing medium. Insects used must be aged 3 to 5 days so that they are sexually mature.

**2.3.3 Ethological tests:** Concerning coupling tests, watch glasses of 3 cm in diameter were used. The male is introduced first in order to get used to his new environment, then the female five minutes later will be placed. When the female is introduced into the cell corresponds to the time T<sub>0</sub>; test start. Contacts, wings vibrations, lickings, attempts and duration mating are noted separately in the control and treated groups. All experiments are conducted in a quiet room, dark and lit by a red light. It allows significantly to limit the influence of visual stimuli [25]. Four types of crosses are performed (n= 30) : a/ Control Males x Control Females ; b/ Control Males x Treated Females ; c/ Treated Males x Control Females ; d/ Treated Males x Treated Females. 48 hours after isolation of mated females, we observe the culture medium, placed in watch glasses, under a stereomicroscope to realize a count of the eggs laid. The mediums used in the olfactory attraction in oviposition test are: control medium and treated medium with harmel (300 µg/ml).

### 2.4 Statistical analysis

The various parameters obtained were analyzed by descriptive metric methods then compared using a variance analysis (ANOVA). All calculations are made on XLStat 2014 (Add in soft, New York, NY). Regarding the results of the tests of choice (oviposition), data were analyzed by Monte Carlo simulation based on a Chi2 test at significance level  $\alpha = 0.05$  [26].

## 3. Results

### 3.1 Effect on sexual behavior

Except touching (contacts), where all the males were moving towards their females and tap them (100%) (Tab. 1), our results show that the treatment acts differently on other behavioral sequences of courtship, depending on cross type. Only 40 to 46.67% of the treated male paraded (wings vibrations), while 100% of controls performed this act (Tab. 1). Moreover, only 23.33 to 50% of these latters licked females secretions, in couples where at least one individual is treated (Tab. 1). Regarding mating attempts, 26 males in the control pairs have attempted to mate, leading to a successful coupling rate of 83.33% (25 pairs). On the other hand, only 4 to 5 couples were able to attempt copulation, when one sex or both partners are treated. The aborted coupling rate in treated couples is equivalent to 90% (Tab. 1).

**Table 1:** Number of successful mating behavioral sequences in treated adults with leaves aqueous extracts of *P. harmala* (n = 30) :

	Contacts	Vibrations	Lickings	Attempts	Successful coupling
♂C x ♀C	30	30	26	26	25
♂C x ♀T	30	19	15	14	12
♂T x ♀C	30	12	7	5	4
♂T x ♀T	30	14	7	4	3

[♂, Male; ♀, Female; C, Control; T, Treated]

We recorded different behavioral sequences from those usually observed in untreated individuals. The mean number of touching differs according to the couple tested, with over 12.47 ± 1.39 contacts are registered in treated males (treated couples). Indeed, the analysis of variances shows that there are highly significant differences (F<sub>obs</sub>= 5.18;  $p < 0.002$ ) (Tab. 2). Thus, their vibrations wings is repeated 20.64 times,

higher than those recorded in the control couples (F<sub>obs</sub>= 17.73;  $p < 0.0001$ ) (Tab. 2). The mean number of licks and of mating attempts when at least one of the two adults is treated, can reach up respectively to 12 and 6 times. At significance level  $\alpha = 0.05$ , the analysis of variances shows that there are highly significant differences comparing to control pairs (Tab. 2).



**Table 2:** Effect of treatment on the number of repetitions of each behavioral sequence (n = 30) (M ± SEM) :

	♂C x ♀C	♂C x ♀T	♂T x ♀C	♂T x ♀T	F <sub>obs</sub>	p
a	4.17 ± 0.49	6.7 ± 0.94	6.5 ± 0.88	12.47 ± 1.39	5.18	0.002**
b	8.3 ± 0.90	8.32 ± 1.43	11.08 ± 2.56	20.64 ± 6.89	17.73	0.0001***
c	4.65 ± 0.76	6.53 ± 1.28	8 ± 1.38	12 ± 2.66	2.50	0.07*
d	2.64 ± 0.47	2.54 ± 0.78	3.2 ± 0.58	6 ± 2.48	2.70	0.06*

[a, Number of contacts; b, Number of vibrations; c, Number of lickings; d, Number of attempts; ♂, Male; ♀, Female; C, Control; T, Treated; M, Mean; SEM, Standard error of the mean; \* : Significant differences]

Once of the two is treated individual, the time needed for the male to recognize his female and makes the first contact increases sharply (32.8 to 81.33 seconds). The variance analysis showed that there are highly significant differences (F<sub>obs</sub>= 16.64; p <0.0001) (Tab. 3). In addition, the mean time of the first song, first lick and of mating attempt, also remain very high compared with those of control adults. Indeed, the

coupling latency is quite high and reach up to 427.17 to 1199.67 seconds (F<sub>obs</sub>= 7.25; p <0.0005) (Tab. 3). The mean time to make the adults to achieve a successful mating, differs depending on the subject. Highly significant differences were revealed by the analysis of variances F<sub>obs</sub>= 6.38 and p <0.0005 (Tab. 3).

**Table 3:** Effect of treatment on the time required (in seconds) for the completion of each behavioral sequences (n = 30) (M ± SEM):

	♂C x ♀C	♂C x ♀T	♂T x ♀C	♂T x ♀T	F <sub>obs</sub>	p
a	9.33 ± 1.44	53.63 ± 7.89	81.33 ± 8.79	32.8 ± 5.16	16.64	0.0001***
b	67.37 ± 11.06	298.95 ± 56.32	305.08 ± 45.76	159.14 ± 29.89	7.26	0.0002***
c	98.69 ± 17.35	283 ± 56.07	445.14 ± 76.90	206.43 ± 73.57	2.45	0.07*
d	192.85 ± 36.61	362.14 ± 72.46	480.8 ± 123.01	717.75 ± 302.61	8.05	0.0002***
e	286.8 ± 44.51	427.17 ± 51.62	445.25 ± 126.31	1199.67 ± 349.95	7.25	0.0005***
f	720.9	491.73	176.30	1039.33	6.38	0.0005***

[a, Number of contacts; b, Number of vibrations; c, Number of lickings; d, Number of attempts; ♂, Male; ♀, Female; C, Control; T, Treated; M, Mean; SEM, Standard error of the mean; \* : Significant differences]

### 3.2 Effect on oviposition

The results in table 4 show that about 25 control couples tested, all females prefer to lay their eggs significantly in control medium (p <1.000) (Tab. 4). While, treated females have a very low positive reaction (2 of 11), even nil (0 of 3) to

the same odor (Tab. 4).

By analyzing their behavior towards treated medium with *P. harmala* (300 µg/ml), treated females appear attracted by the smell of this medium (9 females with p <0.968 and 3 females with p <0.885), whereas that controls are not (Tab. 4).

**Table 4:** Effect of *P. harmala* on the choice of laying in *D. melanogaster*:

	N	Control medium			Traited medium		
		A	NA	p	A	NA	p
♂C x ♀C	25	25	0	1,000 (S)	7	18	<0.828 (NS)
♂C x ♀T	11	2	9	<0.968 (NS)	9	2	0.968 (S)
♂T x ♀C	4	4	0	<0.923 (NS)	1	3	<0.923 (NS)
♂T x ♀T	3	0	3	<0.885 (NS)	3	0	<0.885 (NS)

[♂ : Male ; ♀, Female ; C, Control ; T, Treated ; A : Attracted ; NA : Not attracted ; S, Significance ; NS : No significance]

The mean number of eggs laid by control females (in control pairs) was 35.94 ± 3.54 with a minimum of 3 and a maximum of 74, while the one filed by the treated females was 13.33 ±

2.40, the maximum of which is 18 eggs (Tab. 5). Analysis of variance shows that there are highly significant differences at α = 0.05 level (F<sub>obs</sub>= 7.41; p <0.0003) (Tab. 5).

**Table 5.** Effect of *P. harmala* on the number of eggs:

N	♂C x ♀C	♂C x ♀T	♂T x ♀C	♂T x ♀T	F <sub>obs</sub>	p
Moy ± SEM	35.94 ± 3.54	24.18 ± 1.90	20.80 ± 5.19	13.33 ± 2.40	7.41	<0.0003***
Min - Max	(3 - 74)	(15 - 35)	(4 - 34)	(10 - 18)		
Total	1150	266	104	40		

[♂ : Male ; ♀, Female ; C, Control ; T, Treated ; M, Mean ; SEM, Standard error of the mean ; Min, Minimum ; Max, Maximum, \*\*\*, Very highly significant differences]

### 4. Discussion

The *Drosophila* courtship by its complexity is the best example of behavior requiring a range of sensory perceptions mobilizing a large number of organs, it consists of a series of actions quite accompanied by exchanges of visual, auditory, chemical, touch signals... and it involves a lot of upstream genes to achieve this courtship [27, 28]. This behavior has been the subject of intense research [29, 30]. The male mate choice experiment was not simply a measure of male preference;

successful copulation also requires the target female be receptive [31].

In our study, we tested the hypothesis that low doses of an insecticide, such as *P. harmala*, might influence the traits of fitness and reproductive performance of adult, disturbing smell necessary for reproduction. They have shown a remarkable deficiency causing abortion of the coupling process. Clearly, a long coupling latency indicates the non-responsiveness of the female despite the dynamism of the

male. This sexual inappetence is related to the nature of epicuticular pheromones of female and male courtship behavior. A non-receptive female will give pawed the male, raising and lowering her abdomen, leak or extrude completely her ovipositor [29]. If accepted, during copulation, the male sperms are transferred into the reproductive tract of the female [32], *Drosophila* females are fertilized for only 20 minutes [33]. Our results show that the duration of copulation, in treated adults, signify of their difficulty, they take a long time for the females are fertilized.

Note that no study of Sublethal effects of *P. harmala* or other toxic plants has been realised on the sexual behavior of *Drosophila*. However, they have also been described in experiments with other insecticides. The exposure to imidacloprid, a neonicotinoid, at Sublethal doses in chronic intoxication induced effects on mating and fertility of fruit flies [34]. Similar results are obtained by the use of insecticides: dithiocarbamate, Dithane M 45 [32], spinosad (2.5 mg/l) and azadirachtin (0.05 mg/l) [23]. *Bacillus thuringiensis* (5 g/l) [35]. In addition, other results indicate that spiromesifen disrupts lipid metabolism in *Drosophila*, confirming also its primary mechanism of action on cuticular hydrocarbons lipid synthesis [36].

After mating, the second essential phase for the reproduction of the insect oviposition, which is also under neuronal control leading to selective egg-laying on suitable substrates [37]. The choice of the substrate is the result of a sensory evaluation expressed in search-like behavior, preceding the stereotypical ovipositioning program [38]. The repellent effect of insecticides can also induce a diet or a drop in food to the insect which can lead to reduced fertility [39, 34]. Our study confirms that *P. harmala* has a repellent effect on *Drosophila* causing changes its olfactory responses. A significant decrease in the number of eggs was recorded in treated couples comparing to controls. Furthermore, the neurotoxic alkaloids of this plant would be cause of blocking ovarian development and vitellogenesis in females and the absence of sexual maturity in males [4].

Previous works, concerning the anti-fertilizing effect and anti-ovipositing of different extracts of *P. harmala*, match with our results as observed in *Callosobruchus chinensis* [40], peach fly, *Bactrocera zonata* [41, 42] and the olive fruit fly, *Bactrocera oleae* [43]. Other work demonstrated that these latter can affect the incubation period and the hatching rate of *Trialeurodes vaporariorum* [44]. Similar results are reported in *Tribolium castaneum* [45], *Blattella germanica* [46] and *Culex pipiens* [47]. The negative impact of the same plant species has also been reported on reproduction, oogenesis and egg laying capacity of the desert locust *S. gregaria*, under laboratory conditions [4].

## 5. Conclusion

The exposure to sublethal concentrations of *P. harmala* has allowed us to observe abnormal or unusual pre-copulatory behavior in *Drosophila*, and detect deficient parades. Which signify that this biopesticide probably as a disruptive information by altering the chemical communication, which leads to reduced reproduction chances of target insects. It also acts as an anti-fertilizing agent. The repellent effect of the plant also influences the choice of ovipositing site and the number of laid eggs.

## 6. References

1. Kemassi A. Toxicité comparée des extraits de quelques plantes acridifuges du Sahara septentrional Est algérien

- sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775), Magister en Sciences Agronomiques. Université Kasdi Merbah-Ouargla, Algérie. 2008, 160.
- Bézanger-Beauquesne L, Pinkas M, Torck M, Trotin F. Plantes médicinales des régions tempérées. Edn. Maloine, Paris, 1980, 156.
  - Abbassi K, Mergaoui L, Atay-Kadiri Z, Stambouli A, Ghaout S. Effets des extraits de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*, Forskål, 1775). Zool Baetica. 2003; 14:203-217.
  - Abbassi K, Mergaoui L, Atay-kadiri Z, Ghaout S, Stambouli A. Activités biologiques des feuilles de *Peganum harmala* (zygophyllaceae) en floraison sur la mortalité et l'activité génésique chez le criquet pèlerin. Zool. Baetica. 2005; 16:31-46.
  - Idrissi Hassani LM, Hermas J. Effet de l'alimentation en *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forsk. (Orthoptera, Acrididae). Zool. Baetica. 2008; 19:71-84.
  - Rharrabe K, Bakrim A, Ghailani N, Sayah F. Bioinsecticidal effect of harmaline on *Plodia interpunctella* development (Lepidoptera : Pyralida). Pesticide Biochemistry and Physiology. 2007; 89(2):137-145.
  - Shonouda M, Osman S, Salamo O, Ayoub A. Toxic effect of *Peganum harmala* L. leaves on the cotton leaf worm, *Spodoptera littoralis* Boid and its parasitoids *Microplitis rufiventris* Kok. Pakistan Journal of Biological Sciences. 2008; 11(4):546-552.
  - Salari E, Ahmadi K, Dehyaghobi RZ, Purhematy A, Takaloozadeh HM. Toxic and repellent effect of harmal (*Peganum harmala* L.) acetonc extract on several aphids and *Tribolium castaneum* (Herbst). Chilean Journal of Agricultural Research. 2012; 72(1):147-151.
  - Kaur AM, Srivastava M. Pesticidal effect of plant *Peganum harmala* against stored grain pest *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). Indian Journal of Applied Research. 2014; 4(7):544-545.
  - Jolivet P. Les insectes et l'homme. Collections PUF, 1980, 128.
  - Avondet JL, Blair RB, Berg DJ, Ebbert MA. *Drosophila* (Diptera: Drosophilidae) response to changes in ecological parameters across an urban gradient. Environ. Entomol. 2003; 32(2):347-358.
  - Keller A. *Drosophila melanogaster*'s history as a human commensal. Curr. Biol. 2007; 17:77-81.
  - Joly D. La drosophile: Un insecte au service de la science. Banque des savoirs : Biologie et génétique. 2006, 8.
  - Habbachi W, Benhissen S, Ouakid ML, Farine JP. Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala* (L.) (Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera-Drosophilidae). Algerian journal of arid environment. 2013; 3:82-88.
  - Symonds MRE, Elgar MA. The evolution of pheromone diversity. Cell press. 2008; 220-228.
  - Desneux N, Decourtie A, Delpuech JM. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. Annu Rev Entomol. 2007; 52:81-106.
  - Haynes KF. Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. Ann. Rev. Entomol. 1988; 33:149-168.

18. Lürning M, Scheffer M. Info-disruption: pollution and transfer of chemical information between organisms. *Trends. Ecol. Evol.* 2007; 22:37-49.
19. Wei H, Du J. Sublethal effects of larval traitement with deltamethrin on moth sex pheromone communication system of the Asian corn borer, *Ostrinia furnacalis*. *Pestic. Biochem. Phys.* 2004; 80:12-20.
20. Zhou H, Du J, Hang Y. Effects of sublethal doses of malathion on responses to sex pheromones by male Asian corn borer moths, *Ostrinia furnacalis* (Guenée). *J Chem. Ecol.* 2005; 31:1645-1656.
21. Clynen E, Ciudad L, Bellés X, Piulachs MD. Conservation of fruitless' role as master regulator of male courtship behaviour from cockroaches to flies. *Dev. Genes. Evol.* 2011; 221:43-48.
22. Chardonnet F. Rôle du gène *foraging* dans l'évolution du comportement alimentaire de noctuelles foreuses de céréales, Thèse de Doctorat. Université Pierre et Marie Curie, Gif-sur-Yvette. France. 2013, 245.
23. Bensafi Gheraïbia H. Etude écophysiological, systématique et lutte intégrée contre les drosophiles, vecteurs de la pourriture grise dans les cultures, Mémoire de Magistère, Université de Annaba. Algérie. 2010, 67.
24. Revadi S, Lebreton S, Witzgall P, Anfora G, Dekker T, Becher PG. Sexual Behavior of *Drosophila suzukii*. *Insects.* 2015; 6:183-196.
25. Boll W, Noll M. The *Drosophila* Pox neuro gene: control of male courtship behavior and fertility as revealed by a complete dissection of all enhancers. *Development.* 2002; 129:5667-5681.
26. Vaillant J Derridj S. Statistic analysis of insect preference in tow-choise expriments. *J Insect. Behav.* 1992; 5:773-781.
27. Slack J. Biologie du développement. 1ère édition, De Boeck, 2004, 481.
28. Demir E, Dickson BJ. Fruitless splicing specifies *Drosophila*. *Cell.* 2005; 121(5):785-794.
29. Lasbleiz C, Ferveur JF, Everaerts C. Courtship behaviour of *Drosophila melanogaster* revisited. *Anim. Behav.* 2006; 72:1001-1012.
30. Meissner G, Manoli D, Chavez J, Knapp J, Lin T. Functional dissection of the neural substrates for sexual behaviors in *Drosophila melanogaster*. *Genetics.* 2011; 189:195-875.
31. Somashekar K, Krishna MS, Hegde SN, Jayaramu SC. Effects of age on female reproductive success in *Drosophila bipectinata*. *Journal of Insect Science.* 2011; 11(132):1536-2442.
32. Vasudev V, Gurushankara HP, Vishwaprakash Mahadimane P, Khalandar D, Shamprasad BR. Effects of fungicide Dithane M 45 in *Drosophila melanogaster* on courtship behavior. *Dros. Inf. Serv.* 2013; 96:94-98.
33. Goudey-Perrière F, Perrière C. Guide de travaux pratiques de Zoologie et de Biologie Animale, Centre de documentation universitaire, Paris, 1974, 2.
34. Louat F. Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophila melanogaster*, Thèse de Doctorat en Agricultural sciences. Université d'Orléans. France. 2013, 214.
35. Bourbia S. Étude de la souche sauvage de *Drosophila melanogaster* agent de la pourriture grise des fruits. Identification et Comportement sexuel. Thèse de Magister. Université de Annaba, Algérie. 2012, 86.
36. Bensafi Gheraïbia H. Evaluation du spiromesifen, inhibiteur de la synthèse des lipides chez *Drosophila melanogaster* : aspect toxicologique, biochimique et comportemental. Thèse de Doctorat, Université de Annaba, Algérie, 2015, 105.
37. Becher PG, Flick G, Rozpędowska E, Schmidt A, Hagman A, Lebreton S *et al.* Yeast, not fruit volatiles mediate *Drosophila melanogaster* attraction, oviposition and development. *Functional Ecology.* 2012; 26:822-828.
38. Yang C, Belawat P, Hafen E, Jan LY, Jan YN. *Drosophila* egg-laying site selection as a system to study simple decision-making processes. *Science.* 2008; 319:1679-1683.
39. Li X, Schuler MA, Berenbaum MR. Molecular mechanisms of metabolic resistance to synthetic and natural xenobiotics. *Annu. Rev. Entomol.* 2007; 52:231-253.
40. Meera S, Mann AK. Effect of smoke treatment of *Peganum harmala* on the mortality of *Callosobruchus chinensis* Linnaeus. *Insect. Environ.* 2002; 8:108-109.
41. Khattak MK, Shahzad MF, Jilani G. Effect of different extracts of harmal (*Peganum harmala* L.), rhizomes of kuth (*Saussurea lappa* c. b. Clarke) and balchar (*Valeriana officinalis* L.) on the settling and growth of Peach Fruit Fly, (*Bactrocera zonata* Saunders). *Pak. Entomol.* 2006; 28(1):15-18.
42. Rehman JU, Jilani G, Khan MA, Masih F, Kanvil S. Repellent and Oviposition Deterrent Effects of some plant Extracts to Peach Fruit Fly, *Bactrocera zonata* Saunders (Diptera : Tephritidae). *Pakistan J Zool.* 2009a; 41(2):101-108.
43. Rehman JU, Wang XG, Johnson MW, Daane KM, Jilani G, Khan MA *et al.* Effects of *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) Seed Extract on the Olive Fruit Fly (Diptera: Tephritidae) and Its Larval Parasitoid *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of Economic Entomology.* 2009b; 102(6):2233-2240.
44. Dehghani M, Ahmadi K, Zohdi H. Evaluation of some plant extracts and conventional insecticides against *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood) (Homoptera: Aleyrodidae) in greenhouse condition. *Mun. Ent. Zool.* 2012; 7(2):828-836.
45. Amandeep K, Meera S. Pesticidal Effect of Plant *Peganum harmala* Against Stored Grain Pest *Tribolium Castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Indian Journal of Applied Research.* 2014; 2249-555.
46. Marna F. Inventaire de la faune Blattoptère urbaine et forestière dans la région aride de Laghouat. Caractérisation des principales espèces nuisibles et essais de lutte, Doctorat en Ecologie Animale. Université Badji Mokhtar, Annaba. Algérie. 2016, 94.
47. Benhissen S. Identification, composition et structure des populations Culicidiennes de la région d'Ouled-Djellal (Biskra). Effet des facteurs écologiques sur l'abondance saisonnière. Essais de lutte, Thèse de Doctorat. Université d'Annaba, Algérie. 2016, 126.