

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ BADJI MOKHTAR – ANNABA

جامعة باجي مختار - عنابة



FACULTÉ DES SCIENCES  
DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE  
LABORATOIRE D'ECOBIOLOGIE DES MILIEUX MARINS ET LITTORAUX

Thèse En vue de l'obtention d'un Diplôme de Doctorat

Domaine : SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : ECOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

Spécialité : ECO-ETHOLOGIE

### Intitulé

« Valorisation des composés secondaires des plantes spontanées :  
effets insecticides directs et différés sur un modèle de laboratoire  
*Drosophila melanogaster* ».

Présentée par : **KIHEL Ines**

Directeur de thèse : Pr. OUAkid Mohammed Laid

Co-directeur de thèse : Dr. ADJAMI Yasmine

### Devant un jury composé de :

Pr. BENSOUILAH Mourad	Président	Université Badji Mokhtar - Annaba
Pr. HOUHAMEDI Moussa	Examineur	Université 8 Mai 1945 - Guelma
Dr. HADJEB Ayoub	Examineur	Université Mohamed Khaider-Biskra
Dr. ZIANE Nadia	Examineur	Université Badji Mokhtar – Annaba

Année universitaire : 2022/2023

## Remerciement

La vie est faite de cercles et me voilà maintenant en train de boucler celui qui aura débuté il y a un peu plus de 4 ans, la soutenance d'une thèse marque assurément la fin d'une étape importante dans la vie d'un chercheur. Je voudrais saisir cette occasion pour exprimer ma gratitude à tous ceux qui m'ont soutenu et encouragé à poursuivre ce travail et le finir.

Je souhaite exprimer ma reconnaissance aux membres du jury, pour l'honneur qu'ils m'ont fait en acceptant d'évaluer ce travail.

Je remercie **Pr BENSOUILAH Mourad**, d'accepter de présider ce jury et de m'avoir bien accueilli au sein de son laboratoire de recherche mais aussi pour sa grande gentillesse et sympathie.

Je remercie **Dr ZIANE Nadia**, **Pr HOUHAMEDI Moussa**, **Dr HADJEB Ayoub** de consacrer leur temps et se déplacer pour examiner ce travail.

Mes sincères remerciements vont au **Pr OUAKID Mohammed Laid**, mon directeur de thèse pour m'avoir permis d'intégrer son équipe de recherche depuis mon master et pour tout ce qu'il m'a appris et transmis des connaissances inestimables durant ces années. Merci pour votre positivisme, votre patience et votre calme, même si parfois c'était difficile. Merci de me laisser de l'autonomie et me témoigner votre confiance qui m'ont permis de m'épanouir scientifiquement et de vouloir continuer dans ce domaine.

Je remercie également ma co-directrice de thèse **Dr ADJAMI Yasmine** pour son encouragement continu et sa grande gentillesse.

Un grand merci au **Pr MERABTI Brahim** pour sa précieuse aide, sa grande disponibilité et pour son enthousiasme scientifique.

Je ne pourrais pas oublier de remercier mes camarades de labo qui sont devenus ma deuxième famille, je tiens également à leur souhaiter le meilleur dans leur vie personnelle et professionnelle.

*For my parents, with love and gratitude.*

## Résumé :

Les bioinsecticides sont de plus en plus utilisés pour lutter contre les insectes nuisibles. Il est nécessaire de comprendre comment les insectes font face à ces derniers pour concevoir des stratégies rationnelles de lutte.

Dans l'objectif de valorisation des composés secondaires des plantes nous avons évalué le potentiel insecticide d'une plante spontanée *Citrullus colosynthis* contre *Drosophila melanogaster* (le meilleur modèle d'étude de l'activité insecticide) par différents tests biologiques. Les effets directs des extraits aqueux et éthanoliques de *C. colosynthis* sur la mortalité révèlent que *C. colosynthis* provoque des taux de mortalités appréciables.

Les expositions sublétales aux insecticides peuvent fournir des informations biologiques supplémentaires décrivant la manière dont un insecticide affecte l'insecte. L'évaluation des effets sublétaux de *C. colosynthis* sur différents comportements de *D. melanogaster*, montrent qu'il affecte l'olfaction et le comportement alimentaire d'une manière répulsive, ainsi qu'il entraîne des perturbations sur le comportement sexuel.

*Bacillus thuringiensis var kurstaki* est l'une des sous-espèces de *Bacillus thuringiensis* les plus commercialisées. Les tests toxicologiques montrent que *Btk* provoque des taux de mortalité significatifs contre les larves de *D. melanogaster*. L'étude des effets sublétaux montre que *Btk* a des effets sur l'olfaction et les comportements alimentaires, ainsi que le comportement reproducteur de *D. melanogaster*.

La gestion de la résistance des insectes aux insecticides est considérée comme la clé du succès de l'efficacité et la durabilité de ces produits. Nous avons évalué le phénomène de la résistance sur 24 générations, avec trois concentrations différentes pour chaque type d'extraits testés. Quelle que soit l'intensité de la concentration utilisée, cela n'a pas empêché les individus de drosophile de développer une résistance. Nous avons pu sélectionner différentes souches résistantes.

La résistance comportementale concerne l'ensemble des modifications induites chez les individus affectés par rapport à leur comportement normal. L'étude du comportement sexuel des adultes issus des différents traitements appliqués a montré que les adultes testés présentent des adaptations aux traitements en fonction de l'évolution des générations.

**Mots clés :** Bioinsecticides, *Citrullus colosynthis*, *Bacillus thuringiensis var kurstaki*, *Drosophila melanogaster*, Mortalité, Des effets sublétaux, Comportements, Résistance.

**Abstract:**

Bioinsecticides are increasingly used to control pests, it is necessary to understand how insects respond to them in order to design rational pest control strategies.

In the aims of valorising secondary plant compounds, we evaluated the insecticidal potential of *Citrullus colosynthis* against *Drosophila melanogaster* (the best model for studying insecticidal activity) by different biological tests. The direct effects of aqueous and ethanolic extracts of *C. colosynthis* on mortality reveal that *C. colosynthis* causes appreciable mortality rates.

Sublethal exposures to insecticides can provide additional biological information describing how an insecticide affects the insect. Evaluation of the sublethal effects of *C. colosynthis* on the behaviour of *D. melanogaster*, show that it affects olfaction and feeding behaviour in a repulsive manner. Thus, it leads to disturbances in sexual reproductive behaviour.

*Bacillus thuringiensis var kurstaki* is one of the most commercialised subspecies of *Bacillus thuringiensis*. Toxicological tests show that *Btk* causes significant mortality rates against *D. melanogaster* larvae. Sublethal effects studies show that *Btk* has effects on olfaction and feeding behaviour. Thus it significantly decreased the rates of successful mating of *D.melanogaster*.

Managing insect resistance to insecticides is considered key to the successful efficacy and sustainability of these products. We evaluated the phenomenon of resistance over 24 generations, with three different concentrations for each type of extract tested. Regardless of the intensity of the concentration used, it did not prevent *Drosophila* individuals from developing resistance. We were able to select different resistant strains.

Behavioural resistance refers to all the changes induced in the affected individuals compared to their normal behaviour. The study of the sexual behaviour of the adults resulting from the different treatments applied showed that the tested adults show adaptations to the treatments according to the evolution of the generations

**Key words:** Bioinsecticides, *Citrullus colosynthis* , *Bacillus thuringiensis var kurstaki*, *Drosophila melanogaster*, Mortality, Sublethal effects, Behaviour, Resistance.

## ملخص:

يتزايد استخدام المبيدات الحشرية الحيوية لمكافحة الآفات الحشرية. يعد فهم كيفية تعامل الحشرات مع هذه الأمور ضروريًا لتصميم استراتيجيات مكافحة عقلانية.

بهدف تقييم المركبات الثانوية للنباتات، قمنا بتقييم إمكانات مبيدات الحشرات من *Citrullus colosynthis* ضد *Drosophila melanogaster* (أفضل نموذج لدراسة نشاط مبيدات الحشرات) من خلال اختبارات بيولوجية مختلفة. تكشف التأثيرات المباشرة للمستخلصات المائية والإيثانولية من *C. colosynthis* على معدل الوفيات أن *C. colosynthis* يسبب معدلات وفيات ملحوظة.

يمكن أن يوفر التعرض غير المميت للمبيدات الحشرية معلومات بيولوجية إضافية تصف كيفية تأثير المبيدات الحشرية على الحشرة. أظهر تقييم التأثيرات شبه المميتة لـ *C. colosynthis* على السلوكيات المختلفة لـ *D. melanogaster*، أنها تؤثر على الشم وسلوك التغذية بطريقة مثيرة للاشمئزاز، وكذلك تسبب اضطرابات في السلوك الجنسي.

تعد *Bacillus thuringiensis var kurstaki* واحدة من أكثر الأنواع الفرعية تداولاً من *Bacillus thuringiensis*. تظهر اختبارات السموم أن *Btk* يسبب معدلات وفيات كبيرة ضد يرقات *D. melanogaster*. تظهر دراسة التأثيرات غير المميتة أن *Btk* لها تأثيرات على حاسة الشم وسلوك الأكل. وبالتالي فقد قلل بشكل كبير من معدلات التزاوج الناجحة لـ *D. melanogaster*.

تعتبر إدارة مقاومة الحشرات للمبيدات الحشرية مفتاحًا لنجاح فعالية واستدامة هذه المنتجات. قمنا بتقييم ظاهرة المقاومة على مدى 24 جيلًا، بثلاثة تراكيز مختلفة لكل نوع من المستخلصات المختبرة. بغض النظر عن شدة التركيز المستخدم، فإنه لم يمنع ذبابة الفاكهة من تطوير المقاومة. تمكنا من اختيار سلالات مقاومة مختلفة. تتعلق المقاومة السلوكية بجميع التعديلات التي تحدث في الأفراد المصابين مقارنة بسلوكهم الطبيعي.

أظهرت دراسة السلوك الجنسي للبالغين الناتجة عن العلاجات المختلفة المطبقة أن البالغين اختبروا التكيفات الحالية مع العلاجات وفقًا لتطور الأجيال.

**الكلمات المفتاحية:** المبيدات الحشرية الحيوية، *Citrullus colosynthis*، *Bacillus thuringiensis var kurstaki*، *Drosophila melanogaster*، الوفيات، التأثيرات غير المميتة، السلوكيات، المقاومة

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

A	Attiré
<i>Bt</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i>
<i>Btk</i>	<i>Bacillus thuringiensis var krustaki</i>
<i>C.colocynthis</i>	<i>Citrillus colocynthis</i>
CL	Concentration létale
<i>D.melanogaster</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>
DDT	Dichlorodiphényltrichloroéthane
F	Femelle
H	Humidité
IR	Indice de réponse
L1	Larve de premier stade
L2	Larve de deuxième stade
L3	Larve de troisième stade
M	Mâle
Max	Maximum
Min	Minimum
Moy	Moyenne
NA	Non attiré
OMS	Organisation mondiale de la santé
RR	Rapport de résistance
TL	Temps létal
Tm	Témoin
Tr	Traité
$\chi^2$	Test de Chi-deux
°C	Degré Celsius

## Liste des Figures

Figure 1: Dimorphisme sexuel chez les adultes de <i>D.melanogaster</i> .....	6
Figure 2: Cycle de vie de <i>D.melanogaster</i> .....	6
Figure 3: Schéma d'œuf de <i>D.melanogaster</i> .....	7
Figure 4: Schéma d'une larve de troisième stade de <i>D.melanogaster</i> .....	8
Figure 5: Schéma d'une puppe de <i>D.melanogaster</i> .....	8
Figure 6: Système chimiosensoriel de la larve de drosophile .....	10
Figure 7: Distribution des organes gustatifs sur le corps de la Drosophile.....	10
Figure 8: La parade sexuelle de <i>D.melanogaster</i> .....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 9: Les fruits de <i>C.colocynthis</i> . .....	13
Figure 10: Evaporateur rotatif de type Buchi R-210.....	14
Figure 11: Cycle de vie de <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	16
Figure 12: Bouteilles d'élevage de <i>D.melanogaster</i> . .....	16
Figure 13: Test olfactif des L3 de <i>D.melanogaster</i> .....	Erreur ! Signet non défini.
Figure 14: Evolution de la mortalité en fonction des différentes concentrations et temps d'exposition.....	20
Figure 15: La fréquence d'accouplement selon les différents croisements effectués. ....	22
Figure 16: La durée d'accouplement selon les différents croisements effectués.....	23
Figure 17: Indice de réponse olfactive des larves témoins.....	24
Figure 18: Indice de réponse olfactive des larves traitées.....	24
Figure 19: Evolution de la mortalité en fonction des différentes concentrations et temps d'exposition.....	27
Figure 20: La fréquence d'accouplement selon les différents croisements effectués. ....	29
Figure 21: La durée d'accouplement selon les différents croisements effectués.....	30
Figure 22: Indice de réponse olfactive des larves témoins.....	31
Figure 23: Indice de réponse olfactive des larves traitées.....	31
Figure 24: Evolution de mortalité en fonction des différentes concentrations de <i>Btk</i> et temps d'exposition.....	33
Figure 25: La fréquence d'accouplement selon les différents croisements effectués. ....	35
Figure 26: La durée d'accouplement selon les différents croisements effectués.....	36
Figure 27: Indice de réponse olfactive des larves témoins.....	37
Figure 28: Indice de réponse olfactive des larves traitées.....	37
Figure 29: Evolution de la mortalité en fonction des différentes concentrations des extraits aqueux au fil des générations. ....	39
Figure 30: Evolution de mortalité en fonction des différentes concentrations des extraits éthanolique au fil des générations.....	43
Figure 31: Evolution de la mortalité en fonction des différentes concentrations de <i>Btk</i> au fil des générations.....	46



## Liste des tableaux

Tableau 1: Les paramètres toxicologiques des extrait aqueux de <i>C.colocynthis</i> . .....	21
Tableau 2: Les taux de réussite des séquences de la parade. ....	21
Tableau 3: Les latences de différentes séquences de la parade. ....	23
Tableau 4: Les nombres de répétition des séquences de la parade. ....	23
Tableau 5: Les taux d'attractivité des larves aux différents milieux testés. ....	25
Tableau 6: Les temps de détection des larves les différents milieux testés. ....	26
Tableau 7: Les paramètres toxicologiques des extraits éthanoliques de <i>C.colocynthis</i> . ....	28
Tableau 8: Les taux de réussites des séquences de la parade. ....	28
Tableau 9: Les latences de différentes de la parade. ....	29
Tableau 10: Le nombre de répétition des séquences de la parade. ....	30
Tableau 11: Les taux d'attractivité des larves aux différents milieux testés. ....	32
Tableau 12: Les temps de détection des larves les différents milieux testés. ....	33
Tableau 13: Les paramètres toxicologiques de <i>Btk</i> . ....	34
Tableau 14: Les taux de réussite des séquences de la parade. ....	34
Tableau 15: Les latences des différentes séquences de la parade. ....	35
Tableau 16 : Les nombres de répétition des séquences de la parade. ....	36
Tableau 17: Les taux d'attractivité des larves aux différents milieux testés. ....	38
Tableau 18: Les temps de détection des larves les différents milieux testés. ....	39
Tableau 19: Les effets de la résistance sur la toxicité des extraits aqueux de <i>C.colocynthis</i> . ..	40
Tableau 20: Les fréquences d'accouplement au fil des générations. ....	41
Tableau 21: Les latences d'accouplement au fil des générations. ....	41
Tableau 22: Les temps de la durée d'accouplement au fil des générations. ....	42
Tableau 23: Les effets de la résistance sur la toxicité des extraits éthanoliques de <i>C.colocynthis</i> . ....	43
Tableau 24: La fréquence d'accouplement au fil des générations. ....	44
Tableau 25: Les latences d'accouplement au fil des générations. ....	45
Tableau 26: Les temps de la durée d'accouplement au fil des générations. ....	45
Tableau 27: Les effets de la résistance sur la toxicité de <i>Btk</i> . ....	47
Tableau 28: Les fréquences d'accouplement au fil des générations. ....	48
Tableau 29: Les latences d'accouplement au fil des générations. ....	48
Tableau 30: Les temps de la durée d'accouplement au fil des générations. ....	49

# Sommaire

<b>1. Introduction :</b>	<b>1</b>
<b>2. Matériel et méthodes :</b>	<b>5</b>
<b>2.1 Présentation de <i>Drosophila melanogaster</i>:</b>	<b>5</b>
2.1.1 Morphologie générale :	5
2.1.2 Cycle de vie :	6
2.1.3 Régime alimentaire :	9
2.1.4 Système chimiosensorielle de <i>Drosophila melanogaster</i> :	9
2.1.4.1 Système gustatif :	9
2.1.4.2 Système olfactif :	10
2.1.5 Comportement sexuel :	11
<b>2.2 Présentation de <i>Citrullus colocynthis</i> :</b>	<b>13</b>
2.2.1 Préparation des extraits de <i>Citrullus colocynthis</i> :	13
2.2.1.1 Extraction aqueuse :	13
2.2.1.2 Extraction éthanolique :	14
<b>2.3 Présentation du <i>Bacillus thuringiensis</i>:</b>	<b>15</b>
<b>2.4 Essais biologiques et entretien des stocks :</b>	<b>16</b>
2.4.1.1 Elevage de l'insecte :	16
2.4.2 Tests toxicologiques :	17
2.4.3 Tests comportementaux et traitement :	17
2.4.3.1 Préparation des larves :	17
2.4.3.2 Préparation des adultes :	17
2.4.3.3 Test de comportement sexuel :	17
2.4.3.4 Tests olfactifs :	18
2.4.3.5 Tests de comportement alimentaire :	18
2.4.4 Etude de la résistance :	19
<b>2.5 Analyse statistique :</b>	<b>19</b>
<b>3. Résultats :</b>	<b>20</b>
<b>3.1 Les effets directs et différés des extraits aqueux du <i>Citrullus colocynthis</i> sur <i>D.melanogaster</i> :</b>	<b>20</b>
3.1.1 Les effets directs des extraits aqueux de <i>Citrillus colosynthis</i> sur la mortalité :	20
3.1.2 Les effets sublétaux des extraits aqueux de <i>Citrillus colosynthis</i> sur le comportement sexuel :	21
3.1.2.1 Effets du traitement sur le déroulement de la parade :	21
3.1.2.2 Effets du traitement sur la latence de la parade.	22
3.1.2.3 Effets du traitement sur la durée de l'accouplement :	23
3.1.2.4 Effets du traitement sur le nombre de répétition des séquences de la parade:	23
3.1.3 Les effets sublétaux de l'extrait aqueux de <i>Citrillus colosynthis</i> sur olfaction et le comportement alimentaire :	24
3.1.3.1 Réponse olfactive des larves testées :	24

3.1.3.2	Effet du traitement sur l'attractivité des larves aux différents milieux testés :	25
3.1.3.3	Effet du traitement sur le temps de détections des larves les milieux testés :	26
<b>3.2</b>	<b>Les effets directs et différés des extraits éthanoliques du <i>Citrullus colocynthis</i> sur <i>D.melanogaster</i> :</b>	<b>27</b>
3.2.1	Les effets directs des extraits éthanoliques du <i>Citrullus colocynthis</i> sur la mortalité :	27
3.2.2	Les effets sublétaux des extraits éthanoliques de <i>Citrillus colosynthis</i> sur le comportement sexuel :	28
3.2.2.1	Effet du traitement sur le déroulement de la parade :	28
3.2.2.2	Effet du traitement sur la latence de la parade :	29
3.2.2.3	Effet du traitement sur la durée d'accouplement :	29
3.2.2.4	Effet du traitement sur le nombre de répétition des séquences de la parade :	30
3.2.3	Les effets du traitement sur l'olfaction et le comportement alimentaire :	30
3.2.3.1	Réponse olfactive des larves testées :	30
3.2.3.2	Effet du traitement sur l'attractivité des larves aux différents milieux testés :	31
3.2.3.3	Effet du traitement sur le temps de détection des larves les différents milieux testés :	32
<b>3.3</b>	<b>Les effets directs et différés du <i>Bacillus thuringiensis var krustaki</i> sur <i>Drosophila melanogaster</i> :</b>	<b>33</b>
3.3.1	Les effets directs de <i>Bacillus thuringiensis var krustaki</i> sur la mortalité :	33
3.3.2	Les effets sublétaux de <i>Bacillus thuringiensis var krustaki</i> le comportement sexuel :	34
3.3.2.1	Effet du traitement sur le déroulement de la parade :	34
3.3.2.2	Effet du traitement sur la latence de la parade sexuelle :	35
3.3.2.3	Effet du traitement sur la durée d'accouplement :	36
3.3.2.4	Effet du traitement sur le nombre de répétition des séquences de la parade:	36
3.3.3	Les effets sublétaux de <i>Bacillus thuringiensis var krustaki</i> sur l'olfaction et le comportement alimentaire :	36
3.3.3.1	Réponse olfactive des larves testées :	36
3.3.3.2	Effet du traitement sur l'attractivité des larves aux différents milieux testés :	37
3.3.3.3	Effet du traitement sur le temps de détection des larves les différents milieux testés :	38
<b>3.4</b>	<b>Évaluation de la résistance de <i>Drosophila melanogaster</i> aux extraits aqueux de <i>Citrullus colosynthis</i> :</b>	<b>39</b>
3.4.1	Effet de la résistance aux extraits aqueux de <i>Citrullus colosynthis</i> sur la mortalité :	39
3.4.2	Evaluation des effets de la résistance aux extraits aqueux de <i>Citrullus colosynthis</i> sur le comportement sexuelle :	40
3.4.2.1	Effet de la résistance sur la fréquence d'accouplement :	40

3.4.2.2	Effet de la résistance sur la latence d'accouplement : .....	41
3.4.2.3	Effet de la résistance sur la durée d'accouplement : .....	42
<b>3.5</b>	<b>Évaluation de la résistance de <i>Drosophila melanogaster</i> aux extraits éthanoliques de <i>Citrullus colosynthis</i> : .....</b>	<b>42</b>
3.5.1	Effet de la résistance aux extraits éthanoliques de <i>Citrullus colosynthis</i> sur la mortalité : .....	42
3.5.2	Effet de la résistance aux extraits éthanoliques de <i>Citrullus colosynthis</i> sur le comportement sexuelle : .....	44
3.5.2.1	Effet de la résistance sur la fréquence d'accouplement : .....	44
3.5.2.2	Effet de la résistance sur la latence d'accouplement : .....	44
3.5.2.3	Effet de la résistance sur la durée d'accouplement : .....	45
<b>3.6</b>	<b>Évaluation de la résistance de <i>Drosophila melanogaster</i> au <i>Bacillus thuringiensis var krustaki</i>: .....</b>	<b>46</b>
3.6.1	Effet de la résistance au <i>Btk</i> sur la mortalité : .....	46
3.6.2	Effet de la résistance au <i>Btk</i> sur le comportement sexuelle : .....	47
3.6.2.1	Effet sur la fréquence d'accouplement : .....	47
3.6.2.2	Effet de la résistance sur la latence de la parade : .....	48
3.6.2.3	Effet de la résistance sur la durée d'accouplement : .....	49
<b>4.</b>	<b>Discussion : .....</b>	<b>50</b>
<b>5.</b>	<b>Conclusion : .....</b>	<b>63</b>
<b>6.</b>	<b>Référence : .....</b>	<b>64</b>

## **1. Introduction :**

La lutte contre les insectes nuisibles est un défi depuis que l'homme cultive des plantes. Les insecticides sont souvent utilisés pour lutter contre les insectes nuisibles qui imposent des pertes de production massives et des coûts de contrôle dans l'agriculture (**Denecke, 2017**).

Les insecticides sont utilisés sous une forme ou une autre depuis des milliers d'années, leur première utilisation était enregistrée en 2000 avant J.-C. comme le soufre (**Fishel, 2009**) mais ce n'est qu'au cours du dernier siècle que les composés synthétiques sont devenus la source dominante d'insecticides (**Fishel, 2009**). Ils ont considérablement réduit les pertes de récoltes et ils ont connu un succès commercial. L'un des premiers insecticides de synthèse a été le DDT en 1939, suivi de près par d'autres composés d'hydrocarbures chlorés, les hexachlorocyclohexanes et le lindane en 1942 (**Casida et Quistand, 1998**). Malheureusement, l'utilisation excessive de ces composés chimiques qui manquent de toxicité spécifique a provoqué une série de problèmes environnementaux et de santé publique en raison de leur persistance et de leur bioaccumulation (**Casida et Quistand, 1998**). Pour ces raisons, une tendance à réduire l'utilisation des insecticides chimiques est observée ces dernières années, l'intérêt de la recherche de nouveaux moyens de lutte naturels avec de nouveaux modes d'actions vise à un meilleur équilibre entre l'efficacité des insecticides et la réduction des méfaits possibles pour l'environnement et les humains (**Xiubin, 2016**).

Il existe plusieurs alternatives efficaces pour lutter contre les insectes nuisibles. Une de ces alternatives consiste à utiliser les métabolites secondaires produits par les plantes et les microbes pour leur défense (**Denecke, 2017**). Les plantes ont la capacité de produire diverses substances bioactives et des métabolites tributaires tels que les alcaloïdes, les glycosides, les glucides, les terpénoïdes, les tanins, les phénols, les flavonoïdes et les sitostérols (**Georges et al., 2008**). Certains extraits de plantes contiennent des métabolites secondaires et des huiles essentielles qui ont des effets répulsifs ou inhibiteurs de croissance sur les insectes nuisibles (**Georges et al., 2008**).

Dès l'Antiquité, les Chinois, les Grecs et les Romains utilisent des plantes ou extraits de plantes avec du soufre et de l'arsenic (**Tschirley, 1979**). Les Romains utilisaient des poudres préparées à partir de *Veratrum* sp comme insecticides et rodenticides (**Jacobson, 1983**) tandis que des extraits d'ifs (*Taxus baccata*) ont été utilisés par certains peuples de l'hémisphère nord (**Schmutterer, 1992**). Plus récemment, la nicotine extraite des plantes de tabac a été pulvérisée sur les cultures du 18<sup>ème</sup> au 20<sup>ème</sup> siècle comme un puissant pesticide, efficace pour éliminer de nombreux parasites agricoles (**Roberto et O'Hair, 2015**).

Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées (**Grainje et Ahmed, 1988**). Parmi ces espèces le melon amer ou *Citrullus colocynthis*, qui présente des effets insecticides, antinourrissants, larvicides et anti-oviposition contre les insectes nuisibles (**Gulzar et al., 2017**). Le *C.colocynthis* a attiré l'attention des chercheurs en tant que plante à effet insecticide alternatif, cette espèce contient des composés de cucurbitacine; qui sont classés dans la catégorie des saponines stéroïdiennes (**Natio et coll, 1989**). Ces composés, appelés métabolites secondaires, sont essentiels à la survie des cellules végétales, mais ils sont utiles pour la réaction des organismes contre l'environnement. Ils jouent un rôle majeur dans la défense des plantes contre les insectes herbivores et agissent comme des composés répulsifs, dissuasifs nutritionnels, reproducteurs ou toxiques, et protègent les plantes contre les insectes à différents stades de croissance (**Isman, 1997 ; Mollashahi et al., 2017**). Étant donné l'utilisation indispensable de pesticides par l'homme, les insecticides botaniques pourraient être en partie une solution de rechange aux insecticides synthétiques en raison de caractéristiques telles que l'impact minimal sur les ennemis naturels, l'absence de phytotoxicité, toxicité minimale sur les vertébrés et dégradation rapide dans l'environnement, ce qui est l'un des avantages les plus importants de ce type d'insecticides (**Isman, 1997**).

D'autre part, les macro-organismes comme les nématodes entomopathogènes, les insectes prédateurs mais aussi les micro-organismes naturels comme les bactéries entomopathogènes, les virus et les champignons sont des agents de lutte biologique importants (**Eilenberg et al., 2001**). Des toxines d'origine naturelle développées plus récemment sont parmi les plus efficaces dans la boîte à outils de la lutte antiparasitaire. Un puissant insecticide connu sous le nom de *Bacillus thuringiensis* est une protéine produite par l'espèce bactérienne *Bacillus thuringiensis*, et peut être exprimée par transgénèse dans les plantes pour décourager les espèces nuisibles de les manger (**Heckel, 2012**).

Le *Bacillus thuringiensis* a été découvert pour la première fois par Shigetane Ishiwatari en 1901. Il a été isolé comme agent causal de la mort d'un grand nombre de vers à soie (**Ishiwatari, 1901**). En 1911, la bactérie a été redécouverte dans une teigne de la farine méditerranéenne et nommée d'après la province allemande voisine de Thuringe (**Berliner, 1911**). La bactérie *Bacillus thuringiensis* était isolée une fois du lépidoptère ravageur de stockage, *Ephestia kuehniella* (**Berliner, 1915**). Depuis lors, des centaines de nouveaux isolats et souches de *B. thuringiensis*, omniprésent, efficaces contre les lépidoptères, les coléoptères et les diptères, ont été découverts (**Norris, 1964 ; De Barjac et Bonnefoi, 1968**). La production commerciale de *Bt* sous forme de spray a commencé en France en 1938 et a été introduite aux Etats-Unis en 1958 (**Lambert et Peferoen, 1992**).

Les insecticides sont souvent utilisés comme une arme de choix pour contrôler ou éliminer les nuisibles. Si les insecticides sont efficaces à court terme, leur efficacité à long terme est souvent entravée par l'évolution et la propagation de la résistance ce qui les rend inefficaces.

La résistance est apparue peu après l'introduction d'insecticides de synthèse largement utilisés. Dans les années 1940, des ravageurs résistants au DDT, aux cyclodiènes et aux organophosphorés se sont développés (**Sparks et Nauen, 2015**). La résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens est un phénomène qui se développe d'une façon inquiétante. Les connaissances déjà anciennes sur les mécanismes de résistance et celles acquises très récemment par la biologie moléculaire laissent entrevoir des possibilités de gestion de la résistance (**Haubruge et Amichot, 1998**).

Il existe plusieurs types de mécanismes impliqués dans la résistance aux insecticides. Ces mécanismes peuvent être comportementaux, différents comportements peuvent être altérés comme la mobilité, la recherche de nourriture ou d'hôtes mais aussi le comportement alimentaire, physiologiques par des modifications au niveau de la cuticule ou modifications du métabolisme ou encore par modifications au niveau des cibles de l'insecticide. Ces dernières années, l'utilisation indiscriminée d'insecticides a conduit au développement de la résistance, un grand défi pour la lutte chimique chez les insectes (**Bisset *et al.*, 1997 ; Liu et Yue, 2000 ; Gulzar et Wright, 2015 ; Ahmad *et al.*, 2019**).

Les insecticides exercent une pression de sélection sur la population de ravageurs. Si un individu présente une mutation ou une régulation ascendante de gènes métaboliques, cela lui procure un avantage en termes de fitness par rapport au reste de la population. Par conséquent, cet insecte est plus susceptible de se reproduire et de transmettre ses gènes de résistance. Ce problème est souvent exacerbé par les agriculteurs qui augmentent la fréquence ou la dose d'insecticide appliquée (**Biezla, 2008**). Pour prévenir l'apparition de la résistance aux insecticides, il est nécessaire d'utiliser une série de tactiques visant à empêcher l'émergence de ce phénomène. Cela peut inclure le développement de nouveaux insecticides ayant des modes d'action différents et leur utilisation en alternance est crucial pour combattre la résistance et minimiser l'impact sur l'environnement.

Lorsqu'un nouveau composé est développé comme insecticide potentiel, son mode d'action doit être vérifié. Cela nécessite des modèles d'insectes bien caractérisés. Les insectes, dont la drosophile, réagissent facilement aux toxines telles que les phytotoxines, les ions métalliques et les insecticides présents dans leur environnement en développant une résistance. La drosophile en tant qu'organisme modèle d'insecte a de nombreux mérites (**Cash, 2015**)

*Drosophila melanogaster* est originaire des environnements boisés du centre-sud de l'Afrique, puis s'est répandue dans toute l'Afrique il y a environ 13 000 ans (**Sprenghelmeyer et al., 2020**). Elle était introduite comme modèle décisif en biologie il y a environ un siècle. Cette mouche présente plusieurs similitudes fondamentales avec les mammifères sur le plan biologique, biochimique, neurologique et physiologique (**Biondi et al., 2013**). La drosophile a été classiquement utilisée comme modèle de génotoxicité, ensuite elle a été incluse comme modèle potentiel pour l'étude de la toxicologie (**Dean 1985 ; Barale 1991 ; Brusick et al., 1998 ; Cummings et Kavlock, 2005 ; Whitworth et al., 2006 ; Rand 2010 ; Paula et al., 2013**). Ce qui il l'a permis de devenir un puissant système modèle d'insecte pour répondre aux questions relatives à la physiologie et à la toxicologie des insectes (**Scott et Buchon, 2019**) y compris les tentatives d'aide au dépistage d'insecticides efficaces (**Schneider, 2000**).

Cette thèse vise à étudier les effets directs et différés à court et à long terme de l'utilisation des insecticides naturels *C.colocynthis* et *B.thuringiensis* sur un organisme modèle *D.melanogaster*.

Tout d'abord, Nous avons procédé à évaluer la toxicité des extraits aqueux et éthanoliques de *C.colocynthis* ainsi que de la toxicité de *B.thuringiensis*, afin de déterminer les concentrations sublétales.

Ensuite, nous avons étudié les effets sublétaux des traitements sur l'olfaction et le comportement alimentaire des larves de troisième stade ainsi que sur le comportement sexuel des adultes de *D.melanogaster*.

Afin de d'obtenir des informations complémentaires aux différents traitements étudiés. Nous avons évalué le phénomène de la résistance chez *D.melanogaster* en utilisant une approche d'exposition à long terme. Nous avons suivi l'évolution de la résistance sur 24 générations. En étudiant ses effets toxiques sur la mortalité et son impact sur le comportement sexuel.



## **2. Matériel et méthodes :**

### **2.1 Présentation de *Drosophila melanogaster*:**

*Drosophila melanogaster* est un insecte qui appartient à la famille Drosophilidae de l'ordre des Diptères. Elle a été découverte par **Meigen en 1830**, elle est présente sur tous les continents et la plupart des îles. Elle est originaire d'Afrique subsaharienne (**David et Capy, 1988**). *D.melanogaster* démontre une grande capacité d'adaptation et de plasticité phénotypique (**Chippindale et al., 1993; Gibert et al., 2000**).

Après son introduction comme animal de laboratoire par Castle à l'Université de Harvard en 1901, elle est devenue l'un des organismes modèles les plus utilisés. Les travaux réalisés sur la drosophile ont apporté de nombreuses contributions précieuses à la compréhension du développement, le comportement et la physiologie des animaux, ainsi que des maladies humaines et de manière naissante pour les études toxicologiques (**Rand, 2010 ; Singh et al., 2011 ; Sharma et al., 2012**).

#### **2.1.1 Morphologie générale :**

Chez la drosophile, le sexe est déterminé par des gènes dont l'expression hiérarchique produit des phénotypes sexuellement dimorphique (**Cline et Meyer 1996**). Il existe un certain nombre de différences morphologiques entre les mâles et les femelles adultes qui se résument en suivant :

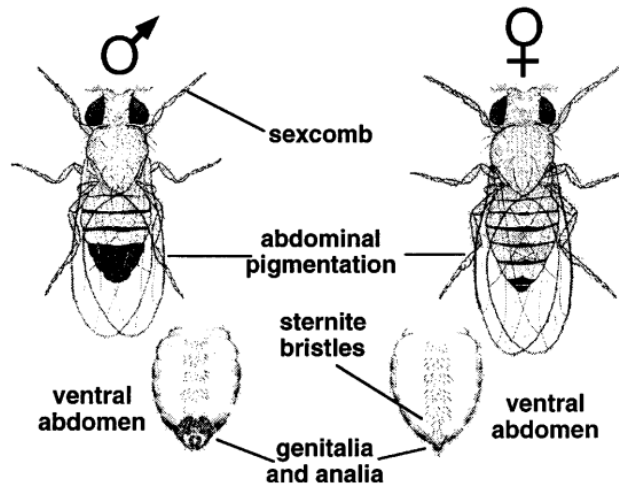
- **Taille du corps :** En général, les femelles sont plus grandes que les mâles. Mais ceci n'est pas absolu car la taille réelle des mouches adultes est fortement dépendante des conditions d'alimentation pendant la période larvaire (**Graf et al., 1992**).

- **Longueur des ailes :** Les ailes des femelles sont plus longues plus longues que celles des mâles, mais cette caractéristique ne permet pas le sexe des adultes (**Graf et al., 1992**).

- **Forme de l'abdomen :** La forme de l'abdomen, en particulier l'extrémité postérieure, est clairement différente chez les mâles et les femelles. Chez les mâles l'extrémité postérieure est arrondie, alors que chez les femelles, la région portant les plaques anales fait saillie, ce qui donne une forme pointue caractéristique (**Graf et al., 1992**).

- **Génitalia et coloration abdominale :** Les organes génitaux externes des deux sexes sont très différents. Les femelles ont 7 segments abdominaux. Le bord arrière sombre de chaque segment est visible en vue dorsale ou latérale. Les mâles n'ont que 5 segments. La partie postérieure de l'abdomen apparaît noire, car les derniers segments sont fortement pigmentés et noire (**Graf et al., 1992**).

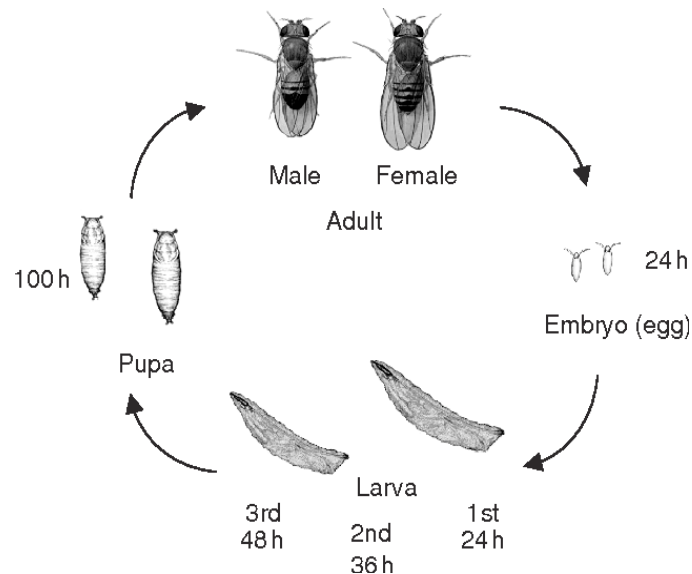
- **Peignes à sexe** : Le peigne sexuel est une rangée d'environ 10 poils noirs, courts et épais, situés près de l'extrémité distale du côté la face antérieure de la patte. Les femelles sont dépourvues d'une telle structure (Graf *et al.*, 1992).



**Figure 1:** Dimorphisme sexuel chez les adultes de *D.melanogaster* (Cline et Meyer, 1996).

### 2.1.2 Cycle de vie :

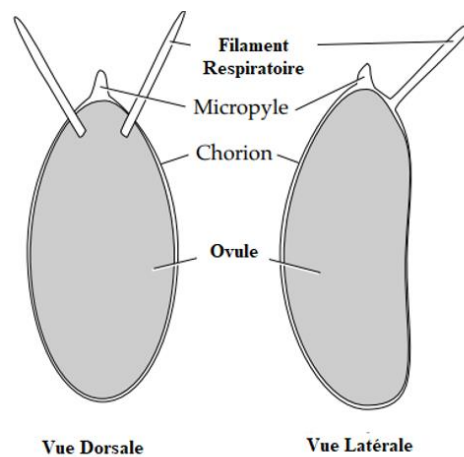
*Drosophila melanogaster* est un insecte holométabole, son cycle de vie est très court et ne dure qu'environ 2 semaines à 25°C (Flatt, 2020). Après la fécondation les femelles pondent environ 300 œufs, après éclosion elles donnent naissance à des larves. Après 5 ou 6 jours et 3 stades larvaires, elles vont se transformer en pupes. C'est à l'intérieur de ces pupes que la métamorphose aura lieu, donnant naissance à un insecte adulte ailé (Rivers et Dahlem, 2014).



**Figure 2:** Cycle de vie de *D.melanogaster* (Nishihara, 2017).

- **Œufs et embryons :**

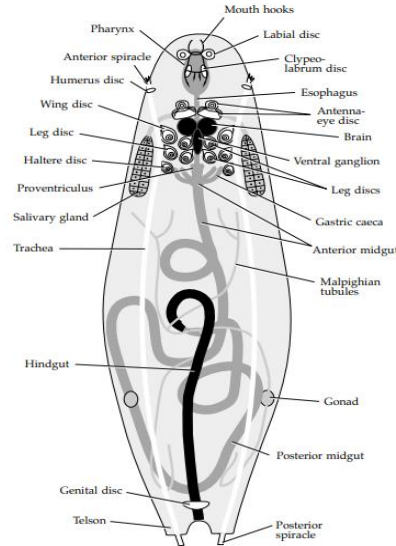
Les œufs ont une forme ovale, d'environ 0,5 mm de long et 0,2 mm de diamètre. Le côté dorsal est légèrement plus plat que le côté ventral concave. A l'extrémité antérieure de la face dorsale, il y a deux filaments. Ceux-ci empêchent les œufs de s'enfoncer dans un milieu humide et fournissent l'apport vital en oxygène. Les filaments sont des prolongements du chorion qui est la coquille protectrice qui recouvre l'ensemble de l'œuf. Le chorion et les filaments sont sécrétés par les cellules folliculaires qui entourent l'œuf pendant l'oogenèse. À l'intérieur du chorion se trouve une couche spongieuse remplie d'air. C'est la réflexion de la lumière sur cette couche qui donne à l'œuf son aspect blanc laiteux (Graf *et al.*, 1992).



**Figure 3:** Schéma d'œuf de *D.melanogaster* (Tyler, 2000).

- **Larves :**

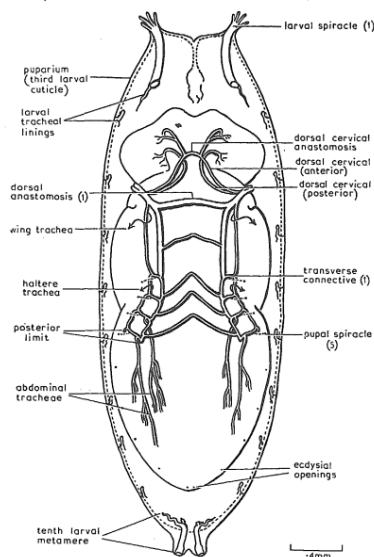
Les larves sont transparentes avec une minuscule tête externe, trois segments thoraciques, huit segments abdominaux, et un telson qui s'étend au-delà de l'anus. Ces segments sont délimités par des rangées ventrales de minuscules crochets, les ceintures de denticules qui empêchent la larve de glisser vers l'arrière lorsqu'elle avance par vagues d'extension et de contraction. Les gonades, transparentes et vésiculaires, sont encastrées dans le corps gras du cinquième segment abdominal. Le testicule étant plusieurs fois plus grand que l'ovaire, on peut déterminer le sexe des larves simplement sur la base de la taille des gonades (Bainbridge et Bownes, 1981).



**Figure 4:** Schéma d'une larve de troisième stade de *D.melanogaster* (Tyler, 2000).

- **Pupes :**

Lorsque la larve de troisième stade est prête à se transformer en puppe, elle quitte le milieu, ses spiracles antérieures s'inversent, son corps se raccourcit et cesse de bouger et elle se fixe à un substrat ferme. La cuticule se transforme alors en puparium, qui est d'abord mou et blanc mais qui durcit rapidement en devenant bronzé puis brun et cassant. Peu après la formation du puparium, la larve se détache de l'intérieur en muant une quatrième fois. La métamorphose a alors lieu. L'éclosion marque la fin de la nymphose et le début de la vie adulte (Whitten, 1957).



**Figure 5:** Schéma d'une puppe de *D.melanogaster* (Whitten, 1957).

### **2.1.3 Régime alimentaire :**

Dans la nature, *D.melanogaster* a une alimentation très variée, elle se nourrit des fruits et légumes mûrs, des végétaux et champignons en décomposition et des liquides fermentés et sucrés (Tracqui et Demongeot, 2003). Les levures sont essentielles au processus de pourriture, elles sont une source principale de protéines pour les mouches et colonisent la matière organique en décomposition de manière séquentielle (Fogleman *et al.*, 1981; Morais *et al.*, 1995).

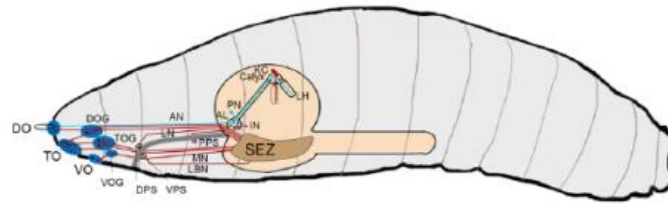
En laboratoire, *D.melanogaster* peut se développer sur des milieux artificiels très simples, composés principalement de levures et de sucre. La simplicité de ce substrat est extrêmement pratique, dans la mesure où il est possible de faire varier la disponibilité en levures ou en sucre, qui représentent respectivement les apports en protéines et en carbohydrates. De plus, ces deux composés possèdent des valeurs caloriques par unité de masse quasiment identiques (Min *et al.*, 2007).

### **2.1.4 Système chimiosensorielle de *Drosophila melanogaster* :**

#### **2.1.4.1 Système gustatif :**

- **La gustation chez les larves :**

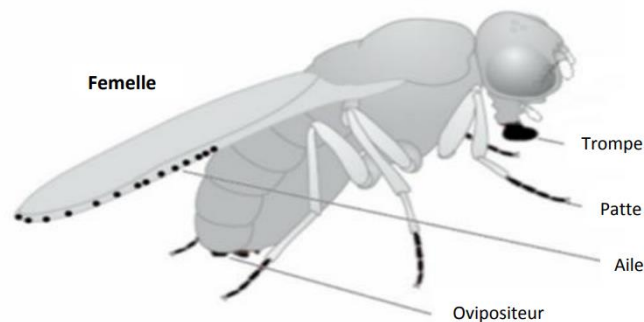
Les larves de drosophiles possèdent 3 organes leur permettant de goûter les molécules non-volatiles de leur environnement. Elles sont ainsi capables d'apprécier la qualité de la nourriture grâce au DO (Organe Dorsal), qui est un organe également impliqué dans la perception olfactive, le TO (Organe Terminal) et le VO (Organe Ventral) (Fougeron, 2011). Le DO est composé de 6 sensilles périphériques impliquées dans la gustation. Cet organe abrite 32 neurones dont 9 gustatifs, 2 mécanosensoriels et 21 olfactifs. Le TO comprend 11 sensilles distales et 3 dorso-latérales et totalise 33 neurones dont 25 gustatifs et 8 mécanosensoriels. Le VO quant à lui, comprend 5 sensilles et 8 neurones dont 4 gustatifs et 4 mécanosensoriels (Fougeron, 2011). Les larves possèdent également 3 organes sensoriels internes : l'organe dorsopharyngeal, l'organe ventro-pharyngeal et enfin l'organe pharyngeal postérieur. Ces organes internes possèdent également des sensilles comprenant de 1 à 9 neurones sensoriels. Les fonctions gustatives et mécanosensorielles de ces neurones sont suggérés par la présence de pores et de soies (Python et Stocker 2002, Gendre *et al.*, 2004). Les sensilles gustatives des larves possèdent des neurones qui expriment différents récepteur gustatif (Scott *et al.*, 2001).



**Figure 6:** Système chimiosensoriel de la larve de drosophile (Kaushik *et al.*, 2018).

- **La gustation Chez l'adulte :**

Les drosophiles possèdent de multiples organes impliqués dans la gustation. Les cellules gustatives sont insérées dans des unités sensorielles appelées sensilles, qui sont non seulement présentes sur les pièces buccales, mais aussi sur les pattes, les ailes (Stocker, 1994; Montell, 2009). De plus les femelles possèdent des sensilles gustatives sur l'ovipositeur. Cette adaptation pourrait s'expliquer par le choix d'un lieu de ponte adapté (Stocker 1994). C'est par le pore terminal que les molécules de l'extérieur pénètrent dans la sensille, et entrent en contact avec les dendrites des neurones gustatifs. Le corps cellulaire de ces neurones est inséré dans la couche de cellules épithéliales située sous la cuticule, et entouré de cellules accessoires qui participent à la mise en place de l'appareil cuticulaire de la sensille et ensuite se différencient en cellules sécrétrices (Ali Agha, 2016).



**Figure 7:** Distribution des organes gustatifs sur le corps de la Drosophile. La couleur noire représente les positions des sensilles gustatives (Raad, 2013).

#### 2.1.4.2 Système olfactif :

- **L'olfaction chez les larves :**

Les larves de drosophile possèdent sur leur partie antérieure, 3 organes sensoriels externes : l'organe dorsal (DO), l'organe terminal (TO) et l'organe ventral (VO). Ces organes comportent des sensilles sensorielles permettant à la larve de percevoir les molécules présentes dans son environnement. Seul le DO est impliqué dans la perception olfactive. C'est un organe

constitué d'un dôme, contenant 1 sensille avec plusieurs pores, et de 6 sensilles périphériques. Le dôme est innervé par 32 neurones dont 21 ORNs (Olfactory Receptor Neuron) (**Heimbeck et al., 1999; Kreher et al., 2005**). Lorsque l'on inhibe ces 21 neurones, les larves deviennent anosmiques, ce qui suggère que ce sont les seuls neurones olfactifs chez les larves (**Larsson et al., 2004 ; Fishilevich et al., 2005**).

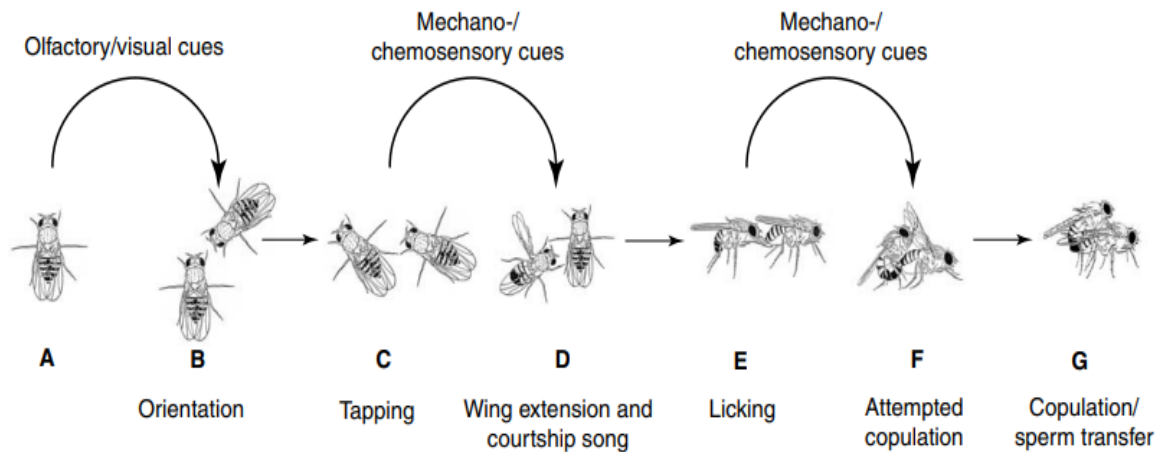
- **L'olfaction chez les adultes :**

Bien que plus complexe, le système olfactif des adultes est relativement similaire à celui des larves et implique un plus grand nombre de cellules. Les adultes possèdent des organes olfactifs localisés sur la tête, comme les vertébrés, représentés par les palpes maxillaires et le troisième segment antennaire. Ils abritent les ORNs qui sont contenus dans des sensilles olfactives dont le rôle est de les protéger. Chaque sensille peut abriter de 1 à 4 ORNs, supportés par des cellules spécialisées, appelés cellules de maintien. Elles vont sécréter la lymphe sensillaire et garder chaque sensille isolée de sa voisine. Il existe 3 types de sensilles olfactives classées selon leur taille, leur morphologie, et le type de molécule odorante détectée: les sensilles basiconiques, les sensilles coeloconiques et les sensilles trichoïdes (**Shanbhag et al., 1999**).

### **2.1.5 Comportement sexuel :**

Le comportement d'accouplement est l'un des comportements les plus complexes du répertoire des mouches à fruits. La parade nuptiale de la drosophile est stéréotypée et composée de six étapes essentielles (**Hall 1994**). La première étape de la parade nuptiale consiste que le mâle s'approche d'une femelle et la tape avec ses pattes antérieures. Ce faisant, il sent les phéromones de la femelle et il peut décider de continuer à la courtiser si c'est un objet approprié. Pendant l'approche et le tapotement, la femelle est très probablement encore mobile, marchant ou volant par intermittence. La détection des phéromones du mâle la rendra plus réceptive et ralentira ses mouvements (**Greenspan et Ferveur, 2000**). Le mâle peut alors commencer son chant de séduction, qui est produit par les vibrations des ailes et agit comme une stimulation auditive pour la femelle (**Bastock et Manning, 1955 ; Greenspan et Ferveur, 2000 ; Dickson, 2008**). Pendant qu'il "chante", il peut se déplacer d'avant en arrière autour de la femelle, le stimulant visuellement (**Bastock et Manning, 1955**). Après avoir émis son chant et s'être approché du postérieur de la femelle, le mâle essaiera de lécher ses organes génitaux, puis tentera la copulation (**Bastock et Manning, 1955**). À tout moment pendant que le mâle la courtise, une femelle peut exprimer son refus de s'accoupler en marchant ou en s'envolant, en battant des ailes, en donnant des coups de pied au mâle, en tordant son abdomen pour l'éloigner

du mâle, ou en extrudant complètement son ovipositeur (**Bastock et Manning, 1955 ; Lasbleiz et al., 2006; Dickson, 2008**). Inversement, lorsqu'une femelle est réceptive à la copulation, elle cesse de marcher, écarte ses plaques vaginales et peut extruder partiellement son ovipositeur (**Bastock et Manning, 1955; Lasbleiz et al., 2006; Dickson, 2008**). Un mâle ne tentera pas de monter et de copuler avec une femelle à moins qu'il ne détecte qu'elle a écarté ses plaques vaginales lorsqu'il lèche sa génitale (**Bastock et Manning, 1955**). Si la femelle signale qu'elle n'est pas réceptive, le mâle peut soit arrêter de courtiser, soit répéter le rituel. Les femelles rejettent généralement les mâles au moins une fois avant de leur permettre de copuler, ce qui leur laisse suffisamment de temps pour évaluer si le mâle est de la même espèce (**Bastock et Manning, 1955**). Les femelles les plus susceptibles d'être réceptives sont les vierges sexuellement matures et un mâle courtise sans discernement toute femelle qu'il perçoit comme étant réceptive (**Bastock et Manning, 1955 ; Dickson, 2008 ; McMillion, 2011**).



**Figure 8:** La parade sexuelle de *D.melanogaster* (**Billeter et al., 2006**).



## **2.2 Présentation de *Citrullus colocynthis* :**

*Citrullus colocynthis* appartient à la famille des cucurbitacées, cette plante est originaire des zones sableuses arides d'Asie occidentale, Afrique tropicale et de la Méditerranée (**Pravin et al., 2013**). C'est une plante pérenne avec des racines pérennes et des tiges anguleuses, coriaces, rugueuses et ressemblant à des vignes qui s'étalent sur le sol et peuvent grimper. Elles produisent une seule fleur jaune à l'aisselle des feuilles. Elles sont monoïques et possèdent de longs pédoncules et un rhizome tubéreux qui donne naissance à de longues tiges rampantes ou grimpantes (**Pravin et al., 2013**). Les fruits sont sphériques, lisses et ressemblent à de petites pastèques, de couleur vert foncé ou jaune (**Ozenda, 2004**).

- **Principaux métabolites secondaires de *Citrullus colocynthis* :**

Divers composés chimiques actifs incluant : alcaloïdes, flavonoïdes, saponines, tanins, carbohydrates, glycosides, acides gras et huiles ont été mis en évidence dans les différentes parties anatomiques du *C. colocynthis* (**Jayaraman et al., 2009**).

Les cucurbitacines semblent être les principaux composants des fruits du *C.colocynthis*. Les graines de coloquinte contiennent 26,6% d'huiles, 13,5% des protéines, 2,1% des cendres, 52,9% des fibres brutes, 4,9% d'azote libre et contient 322 mg/100g de potassium, 119 mg/100g de phosphore et 3,3 mg/100 g de fer (**Sawaya et al., 1986**). Elles contiennent 43 aussi la phytosteroline (ipurand), 2 phytostérols, 2 hydrocarbures, saponines, alcaloïdes, polysaccharides, glycosides, et des tanins, comme métabolites secondaires (**Duke, 1978**).



**Figure 9:** Les fruits de *C.colocynthis*.

### **2.2.1 Préparation des extraits de *Citrullus colocynthis* :**

#### **2.2.1.1 Extraction aqueuse :**

Les fruits de *C. colocynthis* ont été collectés dans la région de Laghouat (33° 48' 24" N, 2° 52' 56" E) (Algérie). Les fruits sont lavés à l'eau distillée puis séchés dans un four à 40°C pendant 48 à 72 heures. Ils sont ensuite broyés à l'aide d'un broyeur jusqu'à ce qu'ils soient

réduits en poudre. Une quantité de 150 g de poudre végétale a été diluée dans un litre d'eau distillée préalablement portée à ébullition, puis laissée à refroidir sous agitation magnétique pendant 30 minutes. Le mélange obtenu a été filtré sur papier Whatman (3 mm). Le filtrat récupéré constitue une solution mère initiale à 150 g par litre ou 10% (Merabti *et al.*, 2015).

### 2.2.1.2 Extraction éthanolique :

L'extraction éthanolique a été faite par évaporateur rotative qu'utilise une technique rapide et efficace de séparation, c'est un appareil basé sur la distillation simple sous vide, qui permet d'éliminer rapidement de grandes quantités de solvant, bien que partiellement, appelé souvent « rotavapor ». L'évaporateur rotatif utilisé lors de l'expérimentation est de type Buchi R-210.



**Figure 10:** Evaporateur rotatif de type Buchi R-210.

- **Le principe de l'évaporateur rotatif :**

Le mélange de solvant et de soluté est placé dans le ballon droit, celui-ci est plongé dans un bain-marie. Il est incliné et animé d'un mouvement de rotation de manière à créer un film de liquide et ainsi accroître la surface d'évaporation du solvant. La pression à l'intérieur du montage est abaissée au moyen d'une trompe à eau ce qui augmente la vitesse d'évaporation. Après condensation dans le réfrigérant, le solvant est récupéré dans le ballon de gauche (Ould Amar, 2013).

- **Le rendement d'extraction :**

Le rendement exprimé en pourcentage par rapport au poids du matériel de départ, est déterminé par la relation suivante :

$$\text{Rendement (R\%)} = \frac{\text{la masse de l'extrait après l'évaporation du solvant en g.}}{\text{la masse de l'échantillon végétal en g.}} \times 10$$

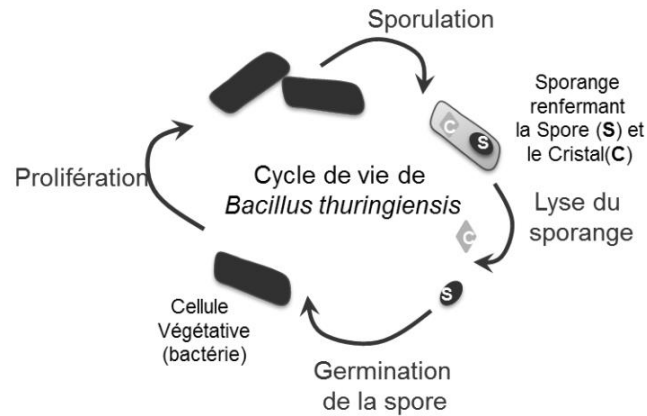
### **2.3 Présentation du *Bacillus thuringiensis*:**

*Bacillus thuringiensis* une bactérie gram-positive est caractérisée par la formation d'un cristal protéique composé principalement de protéines Cry (**Auger 2015**). Les protéines cristallines (Cry) produites pendant les phases de croissance et de sporulation de la bactérie *Bacillus thuringiensis* sont connues sous le nom d'endotoxines. Ces protéines sont activées par les protéases de l'intestin moyen, et les toxines activées interagissent avec l'épithélium de l'intestin moyen des larves, provoquant une perturbation de l'intégrité de la membrane et entraînant finalement la mort de l'insecte (**Gill et al., 1992**). Ces toxines sont utilisées dans le monde entier comme bioinsecticides (**Rubio-Infante et Moreno-Fierros ,2015**). Ces protéines sont activées par les protéases de l'intestin moyen, et les toxines activées interagissent avec l'épithélium de l'intestin moyen des larves, provoquant une perturbation de l'intégrité de la membrane et entraînant finalement la mort de l'insecte (**Gill et al., 1992**).

Le cycle de vie de *B.thuringiensis* se caractérise par deux phases principales qui comprennent la division cellulaire végétative et le développement des spores (**Bulla et al., 1980**). Ces deux étapes impliquent des changements à la fois dans la morphologie et dans la biochimie de la cellule. La bactérie de *Bt* fabrique un grand nombre de toxines et métabolites de toutes sortes. Durant la phase végétative, elle produit une toxine thermostable appelée Bêta-exotoxine. Cette toxine, grandement résistante à la chaleur. Il existe deux variétés de p-exotoxines, soit la p-exotoxine de type 1 et la p-exotoxine de type 2 (**Levinson et al., 1990**). Les gènes servant à coder les exotoxines sont de nature plasmidique. Ces mêmes plasmides peuvent aussi coder pour les deltaendotoxines (**Levinson et al., 1990**).

Actuellement, des milliers de souches de *Bt* ont été découvertes qui contiennent des toxines affectant de nombreux ordres d'insectes et de nématodes. Parmi les bioinsecticides *Bt* les plus utilisés, on trouve la souche *Bacillus thuringiensis var. kurstaki*.

*Btk* est composée de cristaux protéiques (deltaendotoxine) (**Hadjeb, 2017**), il produit six toxines Cry différentes (Cry1Aa, Cry1Ab, Cry1Ac, Cry2Aa, Cry2Ab, Cry2Ac), il est utilisé principalement pour lutter contre certains lépidoptères ravageurs (chenille processionnaire du pin, piéride du chou, sphinx de la tomate...). *Btk* est commercialisé sous plusieurs noms (Dipel, Bacivers, Bactura, Biobit ...). Il a une multiplicité d'usages : viticulture, sylviculture, maraîchage, forêt, horticulture, riz, maïs... (**Loudhaief, 2016**).



**Figure 11:** Cycle de vie de *Bacillus thuringiensis* (Loudhaief, 2016).

## 2.4 Essais biologiques et entretien des stocks :

### 2.4.1.1 Elevage de l'insecte :

Nous avons utilisé, la souche sauvage d'Annaba de *D.melanogaster*. Les mouches ont été récupérées à partir des pommes mures. L'élevage est réalisé dans des flacons bouchés par un tampon de mousse et contenant un milieu nutritif semi solide à base de semoule de maïs , levure alimentaire , l'agar-agar et un antifongique pour la conservation. Les mouches ont été transférées sur un milieu frais toutes les 2 semaines.

Les stocks ont été conservés à une température bien déterminée  $24\pm 1^{\circ}\text{C}$  et une humidité de 65 à 75% et selon un cycle lumière/obscurité de 12:12 pour que les cycles biologiques restent prévisibles.



**Figure 12:** Bouteilles d'élevage de *D.melanogaster*.

#### **2.4.2 Tests toxicologiques :**

L'un des moyens les plus courants d'évaluer la réponse aux insecticides consiste à mesurer la mortalité après une exposition à un produit (**Deneck *et al.*, 2015**). Il existe de nombreux types de tests de mortalité, qui varient en fonction de la méthode d'exposition, de la durée et de la dose, ainsi que du stade de vie exposé.

Les tests de toxicités réalisées dans notre travail, consistent à exposer L2 de *D.melanogaster* à différentes concentrations d'extraits utilisés dans le milieu nutritif, cette toxicité est par ingestion et contact.

Les tests toxicologiques ont été réalisés avec trois répétitions comportant chacune 20 larves pour chaque concentration ainsi que la série des témoins. Les larves traitées ont été exposées aux différentes concentrations utilisées pendant 15 jours. La variable quantifiée est le taux de mortalité en fonction du temps, ce qui nous a permis de calculer les différents paramètres toxicologiques (les concentrations létales et les temps létaux).

#### **2.4.3 Tests comportementaux et traitement :**

##### **2.4.3.1 Préparation des larves :**

Deux groupes de femelles adultes a été isolé pour pondre pendant 4 heures l'un sur un milieu nutritif témoin, l'autre sur un milieu nutritif traité par une concentration subléthale de l'extrait testé. 24 heures plus tard, les larves éclosent et commencent à se nourrir. Après 72 heures d'alimentation, les larves ont été testées dans le paradigme olfactif ou alimentaire. Avant les tests, les larves sont lavées à l'eau des restes de milieu nutritif, et isolées dans des boîtes de gélose propre pendant 4 à 5 heures. Un individu affamé s'approche des signaux alimentaires qu'un individu nourri éviterait (**Katrin Vogt *et al.*, 2021**).

##### **2.4.3.2 Préparation des adultes :**

Deux groupes de femelles adultes a été isolé pour pondre pendant 4 heures l'un sur un milieu nutritif témoin, l'autre sur un milieu nutritif traité par une concentration subléthale de l'extrait testé. Les adultes nouvellement émergés, sont collectés et séparés individuellement dans des tubes contenant le milieu nutritif. L'isolement permet de s'assurer que les adultes nouvellement émergés n'ont pas eu de contact entre eux.

##### **2.4.3.3 Test de comportement sexuel :**

Les expériences ont été réalisées par observation directe, une technique initialement conçue par **Elens et Wattiaux 1964 (Petit, 1976)**. Les tests de comportement sexuel consistent à noter le début et la fin de chaque séquence de parade du mâle envers la femelle pendant une

période d'observation de 30 minutes. Le mâle est d'abord introduit dans la cellule de comportement afin de s'habituer à son nouvel environnement, puis la femelle dix minutes plus tard. Le moment où la femelle est introduite dans la cellule correspond au temps de début du test ( $T_0$ ).

Les mouches testées sont vierges et âgées de 3 à 5 jours afin qu'elles soient sexuellement matures. Tous les tests sont réalisés dans une salle obscure, couvrant le maximum de bruit externe, dont les conditions de température et d'humidité sont stables.

Une série de croisements a été réalisé selon tableau en dessous :

Croisement	Mtm.Ftm	Mtm.Ftr	Mtr.Ftm	Mtr.F tr
Nombre	20	20	20	20

#### **2.4.3.4 Tests olfactifs :**

Une version modifiée de la méthode **d'Aceves-Piña et Quinn (1979)** a été utilisée, telle que décrite par **Cobb et al (1992)**. Les larves ont été placées au centre d'une boîte de Pétri recouverte de gélose à 2,5 %. Sur chaque côté de la boîte de Pétri, un cercle de 1 cm de papier filtre a été placé sur la gélose. L'odorant (milieu témoin ou traité) a été chargé sur l'un des papiers filtres, afin de créer la situation de choix souhaitée. Un indice de réponse simple (RI) a été calculé.



**Figure 13:** Test olfactif des L3 de *D.melanogaster*.

#### **2.4.3.5 Tests de comportement alimentaire :**

Le comportement alimentaire des larves a été étudié par des tests de choix. Chaque larve a été testée individuellement pour sa préférence alimentaire sur un test séparé, selon le tableau en dessous. La larve a été placée au centre de la boîte de Pétri, le couvercle a été fermé et la position de la larve a été notée pendant 30 min.

Zone Nombre	Témoin-Témoin	Témoin-Traité	Traité-Traité
Larve témoin	20	20	20
Larve traitée	20	20	20

**2.4.4 Etude de la résistance :**

Il existe de nombreux types de tests de mortalité qui peuvent différer dans leur capacité à détecter et à quantifier les différences de niveau de résistance. Dans notre travail nous avons effectué une évaluation rapide et précise de la résistance par le biais des tests de toxicité standard. La toxicité des différents traitements utilisés a été évaluée chaque 3 génération sur L2 de *D.melanogaster*, pendant 24 générations afin d’obtenir des souches résistantes à ces extraits.

Une partie des individus vivants issus des différents traitements durant les différentes générations, sont isolés et font l’objet des tests de comportement comme déjà décrit précédemment dans la partie test de comportement sexuel.

**2.5 Analyse statistique :**

Les paramètres toxicologiques ont été calculés par une analyses des probits pour déterminer les concentrations létales (CL) et les temps létaux (TL) avec des intervalles de confidences (CI 95%) à l’aide d’un spss v23.0 software (**IBM Corp., 2015**).

Les différents données des tests comportementaux ont été calculés et exprimé par la moyenne ± l’écart-type, le minimum et le maximum et comparés en utilisant une analyse de variance One-Way (ANOVA) et le test Chi2 de Pearson à l’aide d’un spss v23.0 software (**IBM Corp., 2015**).

Les résultats de test de choix alimentaire sont comparés en utilisant la simulation de Monté-Carlo, basé sur un test Chi2 au seuil alpha=0,05 (**Vaillant et Derrij, 1992**).

- **Les principales formules calculées :**

$$\text{Indice de réponse olfactive (IR)} = \frac{(N_{\text{traité}} - N_{\text{control}})}{N_{\text{total}}} \times 100$$

$$\text{La fréquence d'accouplement} = \frac{\text{Nombre d'accouplements réussis}}{\text{Nombre d'accouplements total}} \times 100$$

$$\text{Durée de l'accouplement} = (\text{Temps de fin d'accouplement}) - (\text{Temps de début d'accouplement})$$

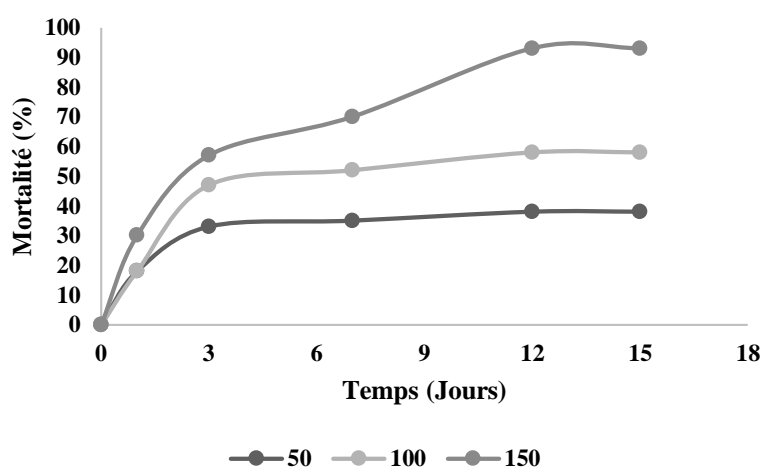
$$\text{Rapports de résistance (RR)} = \frac{CL_{50}}{CL_{50} \text{ de la souche susceptible}}$$

### 3. Résultats :

#### 3.1 Les effets directs et différés des extraits aqueux du *Citrullus colocynthis* sur *D.melanogater* :

##### 3.1.1 Les effets directs des extraits aqueux de *Citrullus colocynthis* sur la mortalité :

La mortalité est un effet toxique qui peut être observé après l'exposition d'un organisme à certains composés, elle dépend évidemment de la concentration et du temps d'exposition. L'exposition des larves de deuxième stade de *D. melanogaster* aux différentes concentrations des extraits aqueux du *C.colocynthis* a montré que le taux de mortalité augmente positivement avec l'augmentation des différentes concentrations utilisée et du temps d'exposition. Au bout de 12 jours d'exposition, la mortalité atteint sa valeur maximale (30%, 93%) respectivement aux différentes concentrations utilisées.



**Figure 14:** Evolution de la mortalité en fonction des différentes concentrations et temps d'exposition.

Le tableau ci-dessous présente les différents paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de *C.colocynthis* en fonction des différentes concentrations utilisées. Le traitement avec les extraits aqueux de *C.colocynthis* a permis d'éliminer 50% des individus de *D.melanogaster* avec une concentration de 112g /l seulement après 3 jours d'exposition, par contre, il faut 67 g/l et 12 jours pour éliminer le même taux. Pour la concentration 150 g/l, le temps nécessaire était de 2 jours pour éliminer 50% des individus. Il existe une forte corrélation entre le taux de mortalité et le temps d'exposition aux différentes concentrations utilisées.



**Tableau 1:** Les paramètres toxicologiques des extraits aqueux de *C.colocynthis*.

Jours	Régression linéaire	CL 25 (CI95%)	CL50 (CI95%)	CL90 (CI95%)
1	Y=-2,16+0,71X R <sup>2</sup> =0,61	123,29*	1000*	54061*
3	Y=-2,49+1,21X R <sup>2</sup> =0,99	32,31 (1,02-54,63)	112,27 (85,20-186,45)	1273,04 (461,84-72937)
7	Y=-3,57+1,85X R <sup>2</sup> =0,97	35,095 (12,80-50,70)	84,56 (68,24-102)	417,52 (262-1203)
12	Y= -6,46+3,54X R <sup>2</sup> =0,85	42,438 (15,703-58,88)	67,68 (47,21-84,16)	170,9 (126,95-363,42)
15	Y= -6,46+3,54X R <sup>2</sup> =0,85	42,438 (15,703-58,88)	67,68 (47,21-84,16)	170,9 (126,95-363,42)
Concentrations	Régression linéaire	TL 25 (CI95%)	TL50 (CI95%)	TL90 (CI95%)
50g/l	Y=-0,83+0,54X R <sup>2</sup> =0,87	1,853 (0,039-3,88)	36,09 (19,21-127,63)	10171 (1276-819565)
100g/l	Y=-0,79+1,01X R <sup>2</sup> =0,77	1,21 (0,41-2,01)	6,04 (4,16-10,09)	2,31 (1,62-3,03)
150g/l	Y=-0,63+1,75X R <sup>2</sup> =0,86	0,87 (0,478-1,28)	127,4 (45,10-1436)	14,56 (9,72-28,72)

\*CI n'pas pu être calculé.

### 3.1.2 Les effets sublétaux des extraits aqueux de *Citrillus colosynthis* sur le comportement sexuel :

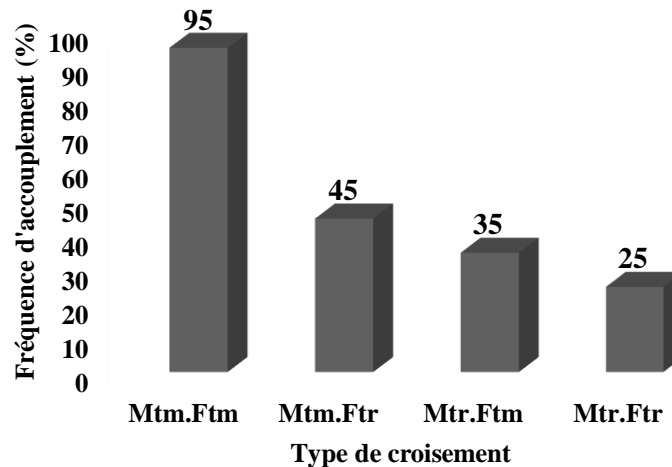
#### 3.1.2.1 Effets du traitement sur le déroulement de la parade :

Les adultes issus du traitement présentent de grandes perturbations de leurs parades sexuelles par rapport à leurs homologues témoins et cela quel que soit le type de croisement effectué. Les deux premières séquences sont réussies par tous les couples testés, la perturbation apparait lors de la vibration ou nous avons enregistré certains mâles qui sont incapables de vibrer leurs ailes et ils sont aussi incapables d'assurer un léchage ou une tentative d'accouplement.

**Tableau 2:** Les taux de réussite des séquences de la parade.

Croisement	Orientation	contact	vibration	léchage	tentative
Mtm.Ftm	100%	100%	100%	100%	100%
Mtm.Ftr	100%	100%	85%	65%	60%
Mtr.Ftm	100%	100%	85%	75%	55%
Mtr.Ftr	100%	100%	80%	70%	60%

La fréquence d'accouplement chez les couples traités varie et diminue en fonction des croisements effectués par rapport aux couples témoins qui montrent une fréquence significativement supérieure (95%). Les fréquences d'accouplement chez les croisements où l'un des deux partenaires est traité ont enregistré une fréquence (45% et 35%), alors que les croisements où les deux partenaires sont traités présentent des fréquences très inférieures (25%).



**Figure 15:** La fréquence d'accouplement selon les différents croisements effectués.

### 3.1.2.2 Effets du traitement sur la latence de la parade.

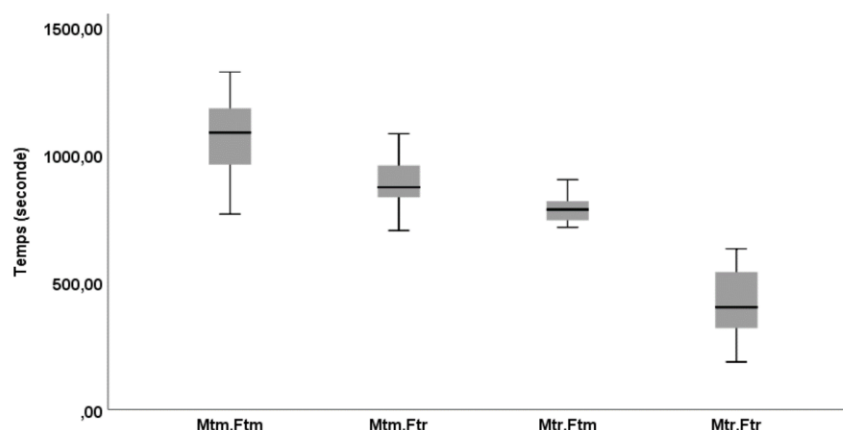
Les résultats présentés dans le tableau ci-dessous révèlent que les latences de la parade varient en fonction des croisements effectués. Chez les couples témoins, il faut une moyenne de  $(6,90 \pm 2,10s)$  pour initier la parade sexuelle, alors que dans les autres types de croisements, il faut une moyenne de  $(10,65 \pm 2,18s)$  ou plus pour initier la parade sexuelle. Pour enregistrer la première vibration, le léchage ou la première tentative d'accouplement, il faut plus de temps chez les couples traités que chez les couples témoins. Les couples traités ont pratiquement le double de temps pour réussir un accouplement par rapport aux couples témoins. L'analyse statistique montre qu'il existe des différences significatives entre les temps de latence des couples témoins et les couples traités.

**Tableau 3:** Les latences de différentes séquences de la parade.

Séquences	Mtm.Ftm	Mtm.Ftr	Mtr.Ftm	Mtr.Ftr	F	P
<b>Orientation</b>	6,90±2,10	10,65±2,18	12,55±2,96	13,55±3,18	1,74	0,16
<b>Contact</b>	9±2,15	12,95±2,87	15,20±3,03	17,55±3,45	1,05	0,37
<b>Vibration</b>	60,4±29,13	157,58±93,78	161,52±76,38	210,75±84,31	5,4828	0,002
<b>Léchage</b>	74±29,77	141,15±74,87	173,93±63,48	242±87,93	3,8873	0,013
<b>Tentative</b>	86,3±35,60	167,75±82,50	202,90±92,87	287,25±61,25	4,8335	0,004
<b>Accouplement</b>	109,63±44,66	185,77±48,00	210,42±44,91	337,4±106,70	2,576	0,06

### 3.1.2.3 Effets du traitement sur la durée de l'accouplement :

La durée d'accouplement est le délai entre le début de la copulation et le désengagement des deux partenaires. Les couples traités enregistrent une diminution significative surtout dans le croisement ou les deux partenaires sont traités (416,20±175,98s) par rapport aux couples témoins qui présentent la durée d'accouplement la plus longue (1086,52±152,63s).



**Figure 16:** La durée d'accouplement selon les différents croisements effectués.

### 3.1.2.4 Effets du traitement sur le nombre de répétition des séquences de la parade:

Le nombre de répétition des séquences varie selon les différents croisements appliqués d'une séquence à une autre. Les couples traités enregistrent un nombre élevé par rapport aux témoins. Le croisement (Mtm.Ftr) enregistre le nombre de répétitions le plus élevés de tous les croisements effectués.

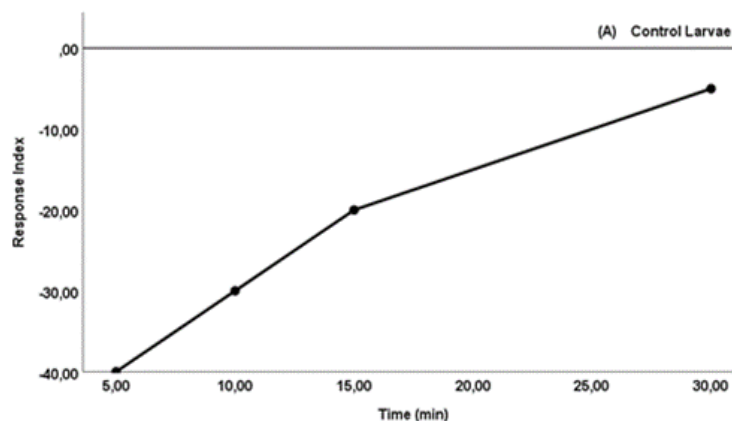
**Tableau 4:** Les nombres de répétition des séquences de la parade.

Séquence	Mtm.Ftm	Mtm.Ftr	Mtr.Ftm	Mtr.F tr	F	P
<b>Orientation</b>	6±1,58	11,8±2,11	6,85±2,10	7,65±1,79	0,67	0,57
<b>Contact</b>	4±1,07	9,2±2,37	4,95±1,39	6,9±1,20	7,18	0,0003
<b>Vibration</b>	3,7±1,17	8,35±2,05	5,23±1,34	4,12±1,02	3,59	0,01
<b>Léchage</b>	3,15±1,03	7,69±2,46	4,93±1,83	4,35±1,15	2,67	0,05
<b>Tentative</b>	3,25±2,02	6±3,61	4,18±1,47	4±1,27	3,32	0,02

### 3.1.3 Les effets sublétaux de l'extrait aqueux de *Citrillus colosynthis* sur olfaction et le comportement alimentaire :

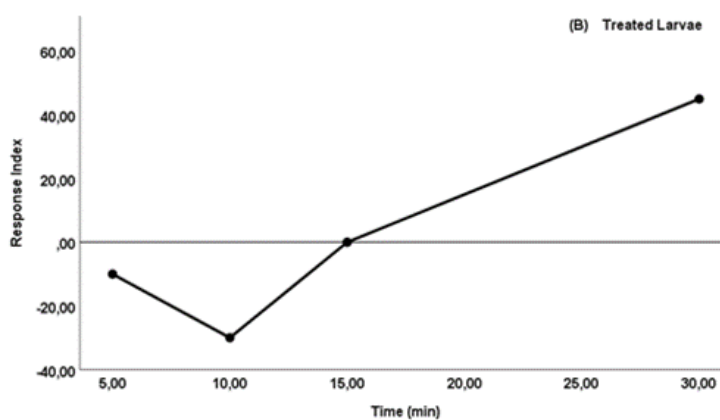
#### 3.1.3.1 Réponse olfactive des larves testées :

Les larves témoins testées dans le comportement olfactif présentent une forte répulsion aux odeurs du milieu traité (-40), cette répulsion persiste jusqu'à 30 min bien que la diminution de IR à (-5).



**Figure 17:** Indice de réponse olfactive des larves témoins.

Les larves traitées montrent une répulsion au début du test RI (-30), cet indice tend à augmenter en fonction du temps pour que les larves changent de comportement à une attractivité vis-à-vis milieu traité IR (45), au bout de 15 min du test la répulsion s'inverse à une attraction.



**Figure 18:** Indice de réponse olfactive des larves traitées.

**3.1.3.2 Effet du traitement sur l’attractivité des larves aux différents milieux testés :**

Le tableau en dessous présente les résultats du comportement alimentaires des larves attirées et non attirées aux zones de choix alimentaire. La majorité des larves témoins font un choix d’attraction pour les zones témoins, 90% des larves témoins sont attirées pour les zones témoins au bout de 30min. Pour les tests des milieux (traités-traités), un faible taux des larves témoins 15% qui s’attirent aux zones traités au premiers 5min mais ce taux change à 15min et augment jusqu’à 60 % ensuite il diminue jusqu’à 30% au bout de 30 min. Face à un choix entre les zones témoins et traités, 50 % des larves témoins font un choix d’attraction pour les milieux témoins et 10% des larves qui choisissent les milieux traités, les larves témoins ont une préférence pour les milieux témoins.

Un faible nombre des larves traitées entre 5% et 35% qui présentent une attraction pour les différents milieux testés aux premiers 5min des tests. Avec le temps le nombre des larves traitées attirées augmente à 50% pour les milieux traités. Face à un choix entre les milieux témoins et traités, seulement 15% des larves traitées choisissent les milieux témoin au bout de 30 min. Pour les tests des milieux (témoins-témoins) 70 % des larves traitées ne font aucun choix d’attraction. Le taux des larves traitées attirées aux différents milieux testés a diminué par rapport à leurs homologues témoins.

**Tableau 5:** Les taux d’attractivité des larves aux différents milieux testés.

		Larves témoins				Larves traitées			
Temps	Test	Témoin-Témoin	Traitée-Traitée	Témoin-Traité		Témoin-Témoin	Traitée-Traitée	Témoin-Traité	
				Témoin	Traité			Témoin	Traité
5min	A	65%	15 %	50%	10%	5 %	25 %	35 %	25 %
	NA	35 %	85%	40%		40 %	75 %	40 %	
	P	0,968	< 0,930	0,930		< 0,930	< 0,930	0,930	
15min	A	85%	60%	45%	15%	40 %	65 %	25 %	15 %
	NA	25%	40%	40 %		60 %	35 %	60 %	
	P	1	0,930	0,930		< 0,930	< 0,930	< 0,930	
30min	A	90 %	30%	35%	30%	30 %	50 %	15 %	55 %
	NA	10%	70%	35 %		70 %	50 %	30 %	
	P	1	< 0,930	1		< 0,930	< 0,930	< 0,930	

A attiré ; NA non attiré ;  $P \leq 0,930$  est non significatif

**3.1.3.3 Effet du traitement sur le temps de détections des larves les milieux testés :**

Les larves témoins mettent moins de temps à détecter les milieux témoins (105,050±74,323s) que pour détecter les milieux traités (467,56 ±391,68s)

Face à un choix entre un milieu traité et un milieu témoin, les larves détectent les milieux témoins plus rapidement (123,77 ±97,64s) que les milieux traités (580,50 ±338,70s). L'analyse statistique montrent qu'il y a une différence significatif entre les temps de détections mesurés et les différents milieux testées (F= 8,013 ; P=0,0001).

Les larves traitées mettent (314,31±169,22s) pour détecter les milieux témoins et (409,00±253,78s) pour détecter les milieux traités. Face à un choix entre un milieu traité et un milieu témoin, les larves traitées détectent les milieux traités plus rapidement (572,30±530,97s) que les milieux traités (606,89±498,84s). L'analyse statistique montrent qu'il y a une différence significatif entre les temps de détections mesurés et les différents milieux testées (F= 2,798 ; P=0,002). Les larves traitées mettent plus de temps par rapport à leurs homologues témoins pour détecter les différents milieux testés.

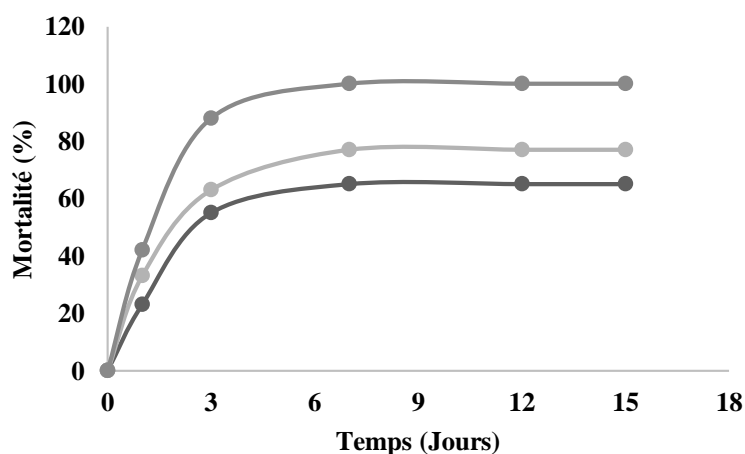
**Tableau 6:** Les temps de détection des larves les différents milieux testés.

Larves	Zone de choix	Moy ±SEM	max	min	F	P	
témoins	Témoin-Témoin	105,05 ±74,32	318	14	8,013	0,0001	
	Traitée-Traitée	467,56 ±391,68	1656	77			
	Témoin-Traité	Témoin	123,77 ±97,64	391			31
		Traité	580,50 ±338,70	820			341
traitées	Témoin-Témoin	314,31 ±169,22	582	64	2,798	0,002	
	Traitée-Traitée	409,00 ±253,78	783	61			
	Témoin-Traité	Témoin	606,89 ±498,84	1782			175
		Traité	572,30±530,97	1550			113

### 3.2 Les effets directs et différés des extraits éthanoliques du *Citrullus colocynthis* sur *D.melanogaster* :

#### 3.2.1 Les effets directs des extraits éthanoliques du *Citrullus colocynthis* sur la mortalité :

L'exposition des larves de deuxième stade de *D.melanogaster* aux différentes concentrations des extraits éthanoliques du *C.colocynthis* a montré que la mortalité augmente positivement avec l'augmentation des différentes concentrations utilisée et du temps d'exposition. Le taux de mortalité étant de 55% au 3ème jour pour la concentration la plus faible 1g/l, 63% pour la concentration 3g/l et 88% pour la concentration la plus élevée 5g/l. Au bout 7ème jour d'exposition, la mortalité atteint sa valeur maximale (65%, 77%, 100%) respectivement aux différentes concentrations utilisées.



**Figure 19:** Evolution de la mortalité en fonction des différentes concentrations et temps d'exposition.

Le tableau en dessous présente les différents paramètres toxicologiques de l'extrait éthanolique de *C.colocynthis* en fonction des différentes concentrations utilisées. Le traitement effectué a permis d'éliminer 50% des individus de *D.melanogaster* avec une concentration presque de 0,92g /l seulement après 3 jours d'exposition et pour éliminer 90% des individus, il faut 5g/l et 3 jours d'exposition. Le taux de mortalité est significativement variable avec les différentes concentrations utilisées et le temps d'exposition.

**Tableau 7:** Les paramètres toxicologiques des extraits éthanoliques de *C.colocynthis*.

Jours	Régression linéaire	CL 25 (CI95%)	CL50 (CI95%)	CL90 (CI95%)
1	Y=-0,72+0,74X R <sup>2</sup> =0,726	1,23 (0-2,29)	10,50*	613,31 (42,84- 433,103)
3	Y=-0,72+0,74X R <sup>2</sup> =0,726	0,26 (0,019-0,59)	0,92 (0,28-1,44)	10,08 (5,49-65,19)
7	Y=-0,4+0,7X R <sup>2</sup> =0,499	0,28 (0,003-0,68)	0,69 (0,05-1,21)	3,64 (2,2-20,47)
12	Y=-0,4+0,7X R <sup>2</sup> =0,499	0,28 (0,003-0,68)	0,69 (0,05-1,21)	3,64 (2,266-20,47)
15	Y=-0,4+0,7X R <sup>2</sup> =0,499	0,28 (0,003-0,68)	0,69 (0,05-1,21)	3,64 (2,26-20,47)
Concentration	Régression linéaire	TL 25 (CI95%)	TL50 (CI95%)	TL90 (CI95%)
1g/l	Y=-0,59+1,07X R <sup>2</sup> =0,779	0,79 (0,25-1,39)	3,56 (2,33-5,19)	61,18 (26,69-384,15)
3g/l	Y=-0,33+1,12X R <sup>2</sup> =0,896	0,49 (0,14-0,92)	1,97 (1,13-2,81)	26,80 (14,58-91,34)
5g/l	Y=-0,21+3,08X R <sup>2</sup> =0,890	0,73 (0,50-0,92)	1,18 (0,93-1,42)	2,96 (2,40-4,08)

\*CI n'a pas pu être calculé

### 3.2.2 Les effets sublétaux des extraits éthanoliques de *Citrillus colosynthis* sur le comportement sexuel :

#### 3.2.2.1 Effet du traitement sur le déroulement de la parade :

Les adultes traités présentent une grande perturbation de leur parade sexuelle par rapport à leurs homologues témoins. Les deux premières séquences (orientation, contact) sont réalisées par tous les couples testés. Les deux premières séquences sont réussies par tous les couples testés, la perturbation apparaît lors de la vibration ou nous avons enregistré certains mâles qui sont incapables de vibrer leurs ailes et ils sont aussi incapables d'assurer un léchage, une tentative d'accouplement.

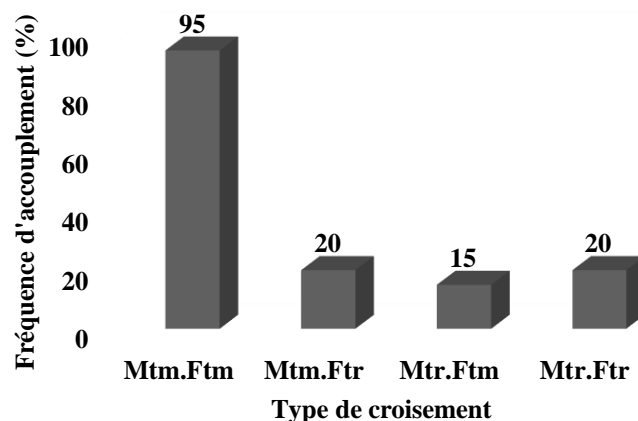
**Tableau 8:** Les taux de réussites des séquences de la parade.

Croisement	Orientation	contact	vibration	léchage	tentative
Mtm.Ftm	100%	100%	100%	100%	100%
Mtm.Ftr	100%	100%	80%	55%	30%
Mtr.Ftm	100%	100%	75%	60%	55%
Mtr.Ftr	100%	100%	60%	55%	35%

La fréquence d'accouplement chez les couples traités varie et diminue en fonction des croisements effectués par rapport aux couples témoins qui montrent une fréquence significativement supérieure (95%). Les croisements (Mtm.Ftr), (Mtr.Ftr) présentent des



fréquences d'accouplement similaire (20%) alors que les croisements (Mtr.Ftm) présentent la fréquence la plus inférieure (15%).



**Figure 20:** La fréquence d'accouplement selon les différents croisements effectués.

### 3.2.2.2 Effet du traitement sur la latence de la parade :

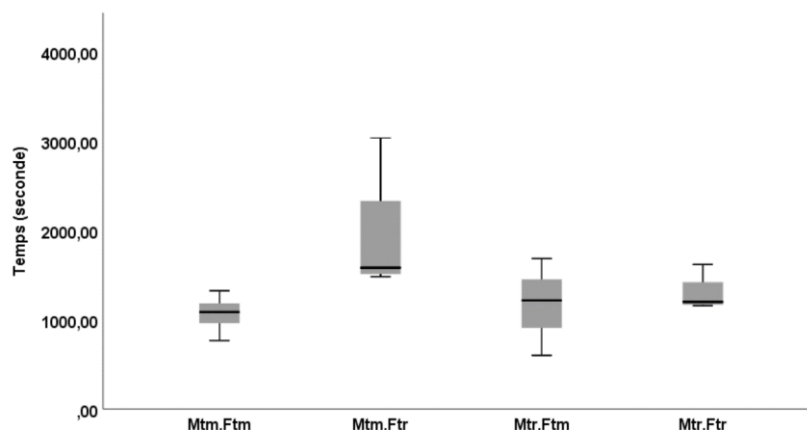
Le tableau en dessous résume les latences des différentes séquences de la parade sexuelle des mâles en fonction des différents croisements effectués. Dans les couples témoins, il faut en moyenne ( $6,90 \pm 2,10$ s) pour commencer leur parade sexuelle, alors que dans les autres types de croisements, il faut en moyenne ( $12,80 \pm 5,00$ s) ou plus pour commencer leur parade. Pour enregistrer la première vibration, le léchage ou la première tentative d'accouplement, il a fallu plus de temps chez les couples traités que chez les couples témoins. Les couples traités ont beaucoup plus de temps pour réussir un accouplement par rapport aux couples témoins. L'analyse de la variance a montré que les résultats sont hautement significatifs.

**Tableau 9:** Les latences de différentes de la parade.

Séquences	Mtm.Ftm	Mtm.Ftr	Mtr.Ftm	Mtr.Ftr	F	P
<b>Orientation</b>	6,90±2,10	11,50±6,04	12,80±5,00	15,80±8,38	6,679	0,0004
<b>Contact</b>	9±2,15	16,2±5,24	19,8±6,33	21,8±11,35	16,296	< 0,0001
<b>Vibration</b>	60,4±29,13	217,93±150,51	110,46±62,35	155,69±93,36	5,377	0,0024
<b>Léchage</b>	74±29,77	352,72±221,85	188,66±111,82	477,55 ±184,55	8,530	0,0001
<b>Tentative</b>	86,3±35,60	310,0±157,81	439,54±300,04	922,00 ±463,85	10,831	< 0,0001
<b>Accouplement</b>	109,63±44,66	801,50±698,83	567±295,13	1020,00±477,60	31,427	< 0,0001

### 3.2.2.3 Effet du traitement sur la durée d'accouplement :

La durée d'accouplement est le temps entre le début de la copulation et le désengagement des deux partenaires, chez les couples témoins elle est de ( $1086,52 \pm 152,63$ s). Les couples traités ont la durée d'accouplement la plus longue, contrairement aux couples témoins. La durée la plus longue est enregistrée chez les couples (Mâle témoin. Femelle traitée) ( $1923,50 \pm 746,68$ ).



**Figure 21:** La durée d'accouplement selon les différents croisements effectués.

### 3.2.2.4 Effet du traitement sur le nombre de répétition des séquences de la parade :

Le nombre de répétitions varie entre les différents croisements appliqués d'une séquence à l'autre de la parade nuptiale. Les couples traités ont un nombre élevé de répétitions par rapport aux témoins. Le croisement (Mtm.Ftr) enregistre le plus grand nombre de répétitions dans tous les croisements réalisés à partir de la séquence de vibration. Il existe une différence significative entre le nombre de répétitions et les différents croisements appliqués.

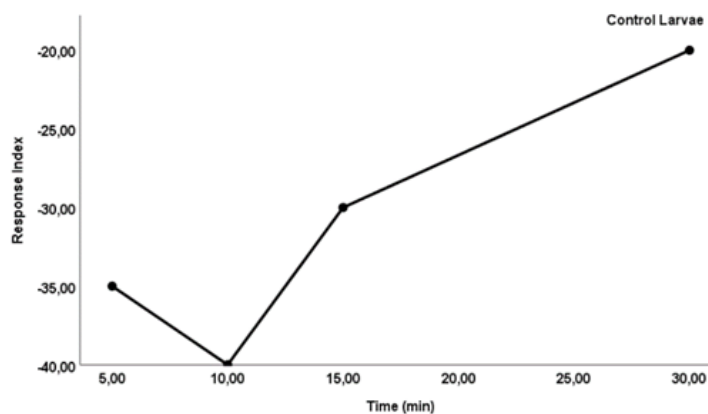
**Tableau 10:** Le nombre de répétitions des séquences de la parade.

Séquences	Mtm.Ftm	Mtm.Ftr	Mtr.Ftm	Mtr.Ftr	F	P
<b>Orientation</b>	6±1,58	12,85±5,90	22,20±17,21	17,90±10,95	7,043	0,0003
<b>Contact</b>	4±1,07	6,30±3,52	12,15±7,55	10,65±5,33	7,622	0,0001
<b>Vibration</b>	3,7±1,17	18,58±11,88	7,06±3,32	13,00±9,15	7,306	0,0002
<b>Léchage</b>	3,15±1,03	15,63±15,71	3,83±2,21	11,00±6,96	10,433	< 0,0001
<b>Tentative</b>	3,25±2,02	7,83±4,35	3,81±2,31	5,71±3,49	2,404	0,0817

### 3.2.3 Les effets du traitement sur l'olfaction et le comportement alimentaire :

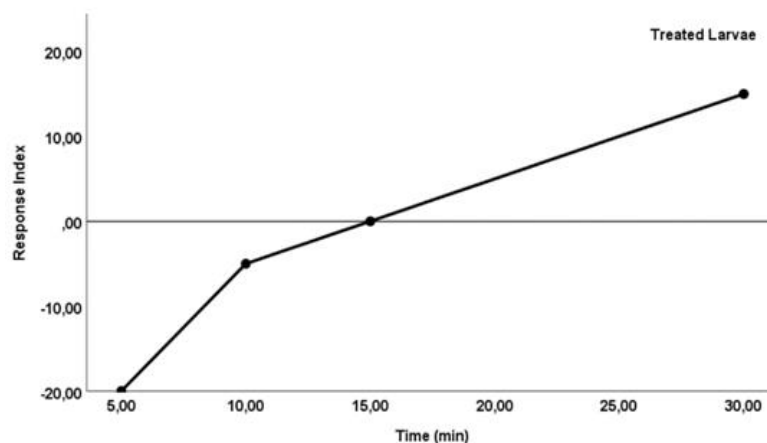
#### 3.2.3.1 Réponse olfactive des larves testées :

Les larves témoins testés dans le comportement olfactif présentent une répulsion aux odeurs du milieu traité (-35) au bout de 5 min, en suite elle augmente à (-40) au bout de 10 min, cette répulsion persiste jusqu'à 30 min bien que la diminution de IR à (-20).



**Figure 22:** Indice de réponse olfactive des larves témoins.

Les larves traités soumissent au test de comportement olfactif montrent une répulsion au début du test IR (-20), cette indice tant à augmenter en fonction du temps pour que les larves changent de comportement à une attractivité vis-à-vis milieu traité IR (15), au bout de 15 min du test la répulsion s'inverse à une attraction.



**Figure 23:** Indice de réponse olfactive des larves traitées.

### 3.2.3.2 Effet du traitement sur l'attractivité des larves aux différents milieux testés :

Le tableau en dessous présente le taux des larves attirés aux milieux de nourriture. Un grand taux des larves témoins qui fait un choix d'attraction pour les zones témoins qui peut aller jusqu'à 90% au bout de 30min. un taux de 10% des larves témoins qui s'attirent aux zones traités au premiers 5min dans les tests des milieux (témoins-traitée) et un taux de 50% dans les tests des milieux (traités-traités). Le nombre des larves attirées aux milieux traités au bout de 30 min est 25%.

Un faible nombre des larves traitées entre 5% et 45% qui présentent une attractivité pour les différents milieux testés aux premiers 5min du test. Avec le temps le nombre des larves traitées attirées augmente jusqu'à 50% pour les milieux (traité-traité).

**Tableau 11:** Les taux d'attractivité des larves aux différents milieux testés.

		Larves témoins				Larves traitées			
Temps	Test	Témoin-Témoin	Traité-Traité	Témoin-Traité		Témoin-Témoin	Traité-Traité	Témoin-Traité	
				Témoin	Traité			Témoin	Traité
5min	A	65%	50 %	45%	10%	45 %	35 %	25 %	5 %
	NA	35 %	50%	45%		55 %	75 %	70 %	
	P	0,968	< 0,930	0,930		< 0,930	< 0,930	0,930	
15min	A	85%	30%	50%	20%	65 %	55 %	25 %	25 %
	NA	25%	70%	30 %		70 %	45 %	50 %	
	P	1	0,930	0,930		< 0,930	< 0,930	< 0,930	
30min	A	90 %	25%	45%	25%	40 %	50 %	15 %	30 %
	NA	10%	75%	30 %		70 %	60 %	70 %	
	P	1	< 0,930	0,930		< 0,930	< 0,930	< 0,930	

A attiré ; NA n'est pas attiré ;  $P \leq 0,930$  est non significatif.

### 3.2.3.3 Effet du traitement sur le temps de détection des larves les différents milieux testés :

Les larves témoins mettent moins de temps à détecter les milieux témoins ( $105,050 \pm 74,323s$ ) que pour détecter les milieux traités ( $384,31 \pm 239,22s$ ). Face à un choix entre un milieu traité et un milieu témoin, les larves détectent les milieux témoins plus rapidement ( $246,11 \pm 138,08s$ ) que les milieux traités ( $334,00 \pm 258,69s$ ). L'analyse statistique montrent qu'il y a une différence significatif entre les temps de détections mesurés et les différents milieux testés ( $F= 7,299$  ;  $P=0,0003$ ).

Les larves traitées mettent plus de temps que les larves témoins pour détecter les différents milieux testés. Les larves détectent les milieux témoins à partir ( $318,58 \pm 152,08$ ) et les milieux traités à partir de ( $407,42 \pm 309,66$ ). L'analyse statistique montrent qu'il y a une différence significatif entre les temps de détections mesurés et les différents milieux testés ( $F= 2,243$  ;  $P=0,094$ ).

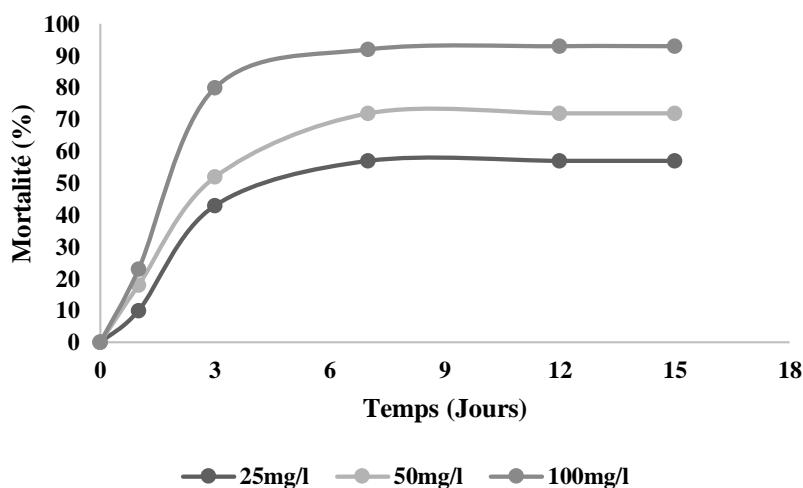
**Tableau 12:** Les temps de détection des larves les différents milieux testés.

Larves	Zone de choix	Moy ±SEM	max	min	F	P	
témoins	Témoin-Témoin	105,05 ±74,32	321	14	7,299	0,0003	
	Traitée-Traitée	384,31±239,22	897	132			
	Témoin-Traité	Témoin	246,11±138,08	452			30
		Traité	334,00±258,69	878			95
traitées	Témoin-Témoin	318,58±152,08	725	142	2,243	0,094	
	Traitée-Traitée	407,42±309,66	1119	72			
	Témoin-Traité	Témoin	415,25±287,94	937			66
		Traité	448,83±296,03	1007			140

### 3.3 Les effets directs et différés du *Bacillus thuringiensis var krustaki* sur *Drosophila melanogaster* :

#### 3.3.1 Les effets directs de *Bacillus thuringiensis var krustaki* sur la mortalité :

Les résultats de la mortalité enregistrée pour les larves de deuxième stade ont montré que la mortalité se change positivement avec l'augmentation des concentrations utilisées et du temps d'exposition. La mortalité atteint sa valeur maximale (57%, 72%, 93%) au bout du 7ème jour d'exposition pour les concentrations (25mg/l, 50mg/l, 100mg/l) respectivement.



**Figure 24:** Evolution de mortalité en fonction des différentes concentrations de *Btk* et temps d'exposition.

Le tableau ci-dessous présente les différents paramètres toxicologiques de *Btk* en fonction des différentes concentrations utilisées. Le traitement a permis d'éliminer 50% des individus avec une concentration de 36 mg/l seulement après 3 jours d'exposition. La mortalité atteint sa valeur maximale au bout de 7 jours. Il existe une forte corrélation entre le taux de

mortalité et le temps d'exposition des individus aux différentes concentrations du traitement utilisé.

**Tableau 13:** Les paramètres toxicologiques de *Btk* sur *D.melanogaster*.

Jours	Régression linéaire	CL 25 (CI95%)	CL50 (CI95%)	CL90 (CI95%)
1	$Y=-2,01+0,64X$ $R^2=0,727$	119,290*	1384,96*	146102,44*
3	$Y=-2,62+1,68X$ $R^2=0,826$	14,01 (4,20- 22,15)	36,18 (23,36-47,28)	219,42 (127,49-951,05)
7	$Y=-3,06+2,25X$ $R^2=0,893$	10,60 (3,47- 16,88)	22,365 (12,48-29,61)	92,391 (68,07-179,11)
12	$Y=-3,06+2,25X$ $R^2=0,893$	10,60 (3,477-16,88)	22,36 (12,481-29,61)	92,39 (68,072-179,11)
15	$Y=-3,06+2,25X$ $R^2=0,893$	10,60 (3,477-16,88)	22,365 (12,481-29,61)	92,391 (68,072-179,11)
Concentration	Régression linéaire	TL 25 (CI95%)	TL50 (CI95%)	TL90 (CI95%)
25mg/l	$Y=-1,05+1,55X$ $R^2=0,899$	1,70 (0,98-2,34)	4,79 (3,53-7,65)	34,46 (16,60-176,40)
50mg/l	$Y=-0,87+1,76X$ $R^2=0,960$	1,28 (0,76-1,74)	3,10 (2,38-4,12)	16,77 (10,21-43,10)
100mg/l	$Y=-0,64+2,7X$ $R^2=0,965$	0,98 (0,70-1,24)	1,72 (1,38-2,07)	4,96 (3,92-7,01)

\*CI n'a pas pu être calculé.

### 3.3.2 Les effets sublétaux de *Bacillus thuringiensis var krustaki* le comportement sexuel :

#### 3.3.2.1 Effet du traitement sur le déroulement de la parade :

Les résultats montrent que tous les couples testés ont tous passé les deux premières séquences de la parade (orientation et contact), par contre les couples traités ont été incapables de réaliser les séquences suivantes (vibration, léchage, tentative d'accouplement) par rapport aux témoins. Les résultats montrent que le traitement entraîne une perturbation significative de déroulement de la parade sexuelle.

**Tableau 14:** Les taux de réussite des séquences de la parade.

Croisement	Orientation	contact	vibration	léchage	tentative
Mtm.Ftm	100%	100%	100%	100%	100%
Mtm.Ftr	100%	100%	80%	70%	65%
Mtr.Ftm	100%	100%	90%	85%	70%
Mtr.Ftr	100%	100%	80%	65%	60%

La fréquence d'accouplement chez les couples traités varie et diminue en fonction des croisements effectués par rapport aux couples témoins qui montrent une fréquence significativement supérieure (95%). Les fréquences d'accouplement chez les croisements où l'un des deux partenaires est traité ont enregistré une fréquence (45% et 55%), alors que les croisements où les deux partenaires sont traités présentent des fréquences inférieures (35%).

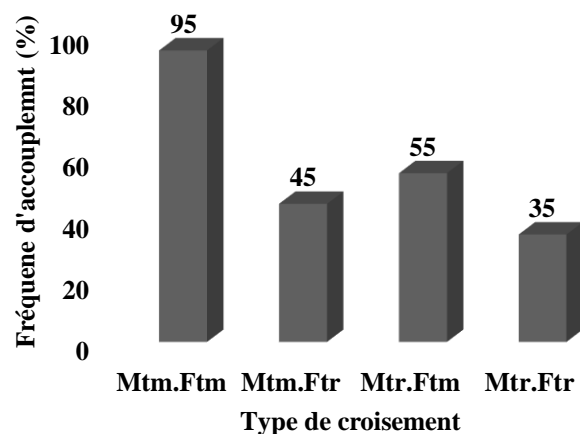


Figure 25: La fréquence d'accouplement selon les différents croisements effectués.

### 3.3.2.2 Effet du traitement sur la latence de la parade sexuelle :

Le tableau ci-dessous présente les résultats de latence de la parade selon les différents croisements effectués. Les couples témoins mettent environ (6,90±2,10s) pour débiter leur parade, tandis que dans les autres types de croisements, cela prend environ (16,90±6,28s) ou plus. Les couples traités prennent plus de temps pour enregistrer la première vibration, le léchage ou la première tentative d'accouplement par rapport aux couples témoins.

L'analyse de la variance a montré que les résultats sont hautement significatifs. Les couples traités ont eu presque 10 fois plus de temps pour réussir un accouplement par rapport aux couples témoins.

Tableau 15: Les latences des différentes séquences de la parade.

Séquences	Mtm.Ftm	Mtm.Ftr	Mtr.Ftm	Mtr.Ftr	F	P
Orientation	6,90±2,10	16,90±6,28	20,90±11,22	19,30±7,96	13,386	<0,0001
Contact	9±2,15	24,00±6,56	26,10±11,39	25,15±8,80	10,422	<0,0001
Vibration	60,4±29,13	297,25±228,07	175,33±104,10	437,62±353,67	15,972	< 0,0001
Léchage	74±29,77	366,21±245,04	256,82±190,88	559,30±441,28	12,624	< 0,0001
Tentative	86,3±35,60	434,23±294,11	282,78±130,01	585,66±469,90	12,177	< 0,0001
Accouplement	109,63±44,66	513,44±243,32	431,72±171,37	923,71±551,217	20,557	< 0,0001

### 3.3.2.3 Effet du traitement sur la durée d'accouplement :

Les couples traités ont la durée d'accouplement la plus longue (1648,14±210,49s), qui montrent une augmentation significative surtout dans le croisement où les deux partenaires sont traités (1648,14±210,49s) contrairement aux couples témoins, (1086,52 ± 152,63s).

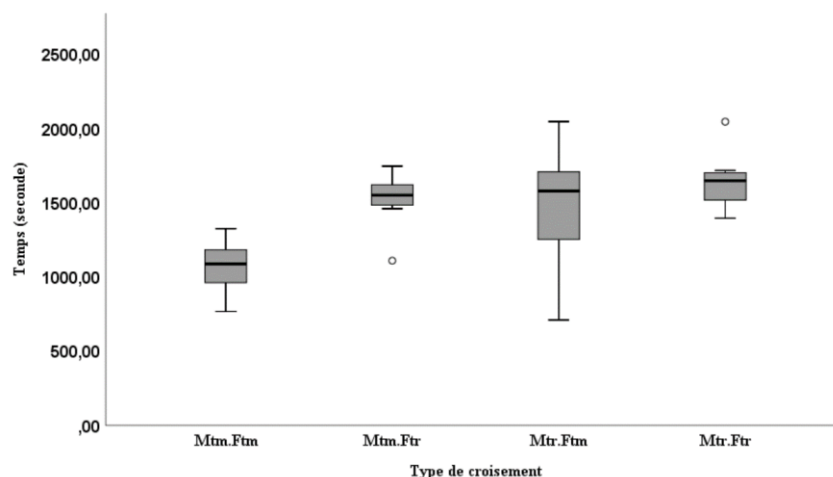


Figure 26: La durée d'accouplement selon les différents croisements effectués.

### 3.3.2.4 Effet du traitement sur le nombre de répétition des séquences de la parade:

Le nombre de répétitions varie entre les différents croisements appliqués d'une séquence à une autre. Les couples traités ont un nombre plus élevé de répétitions que les couples témoins. Le croisement (Mtm.Ftr) a le plus grand nombre de répétitions parmi tous les croisements réalisés depuis la première séquence d'orientation. Il y a une différence significative entre le nombre de répétitions et les croisements utilisés.

Tableau 16 : Les nombres de répétition des séquences de la parade.

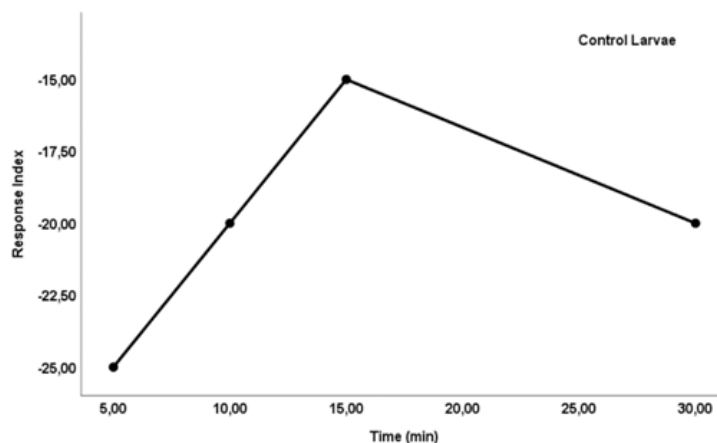
Séquences	Mtm.Ftm	Mtm.Ftr	Mtr.Ftm	Mtr.Ftr	F	P
Orientation	6±1,58	17,45±5,07	10,85±3,06	12,45±3,98	5,911	0,001
Contact	4±1,07	9,70±2,31	8,85±2,05	13,25±4,26	10,483	< 0,0001
Vibration	3,7±1,17	7,50±2,03	7,44±2,30	4,12±1,54	4,405	0,007
Léchage	3,15±1,03	4,50±1,22	6,47±2,03	4,69±2,05	5,702	0,002
Tentative	3,25±2,02	5,69±3,56	4,35±2,17	3,50±2,27	1,194	0,321

### 3.3.3 Les effets sublétaux de *Bacillus thuringiensis var krustaki* sur l'olfaction et le comportement alimentaire :

#### 3.3.3.1 Réponse olfactive des larves testées :

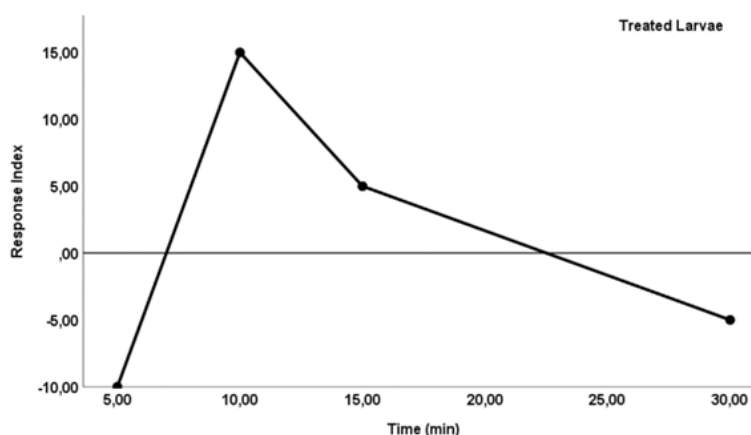
Les larves témoins testés dans le comportement olfactif présentent une répulsion aux odeurs traitées (-15, -25), cette répulsion persiste jusqu'à 30 min.





**Figure 27:** Indice de réponse olfactive des larves témoins.

Les larves traitées montrent une répulsion au début du test IR (-10), cet indice tant à augmenter en fonction du temps pour que les larves changent de comportement à une attractivité vis-à-vis milieu traité IR (15) au bout de 10 min du test la répulsion s'inverse à une attraction qui se change à une répulsion.



**Figure 28:** Indice de réponse olfactive des larves traitées.

### 3.3.3.2 Effet du traitement sur l'attractivité des larves aux différents milieux testés :

Le tableau en dessous présente le taux des larves attirés aux zones de nourriture. Un grand taux des larves témoins qui fait un choix d'attraction pour les zones témoins qui peut aller jusqu'à 90% au bout de 30min. Un faible taux des larves témoins 20% qui s'attirent aux zones traités au premiers 5min mais ce taux change avec le temps et augment jusqu'à 75% dans les milieux (traités-traités).

Un faible nombre des larves traitées entre 15% et 25% qui présentent une attractivité pour les différents milieux testés aux premiers 5min du test. Avec le temps le nombre des larves traitées attirées augmente jusqu'à 60% pour les milieux (témoin-témoin).

**Tableau 17:** Les taux d'attractivité des larves aux différents milieux testés.

		Larves témoins				Larves traitées			
Temps	Test	Témoin-Témoin	Traitée-Traitée	Témoin-Traité		Témoin-Témoin	Traitée-Traitée	Témoin-Traité	
				Témoin	Traité			Témoin	Traité
5min	A	65%	20 %	45%	20%	15 %	25 %	25 %	15 %
	NA	35 %	80%	35%		85 %	75 %	65 %	
	P	0,968	< 0,930	< 0,930		< 0,930	< 0,930	< 0,930	
15min	A	85%	30%	40%	25%	40 %	55 %	20 %	25 %
	NA	25%	70%	35 %		60 %	45 %	55 %	
	P	1	< 0,930	< 0,930		< 0,930	< 0,930	< 0,930	
30min	A	90 %	75%	50%	30%	60 %	55 %	25 %	20 %
	NA	10%	15%	20 %		40 %	45 %	55 %	
	P	1	1	1		0,930	< 0,930	< 0,930	

A attiré ; NA n'est pas attiré ;  $P \leq 0,930$  est non significatif

### 3.3.3.3 Effet du traitement sur le temps de détection des larves les différents milieux testés :

Les larves témoins mettent moins de temps à détecter les milieux témoins ( $105,05 \pm 74,32s$ ) que pour détecter les milieux traités ( $495,78 \pm 405,20s$ )

Face à un choix entre un milieu traité et un milieu témoin, les larves détectent les milieux témoins ( $296,38 \pm 269,69$ ) et les milieux traités ( $277,57 \pm 368,08s$ ). L'analyse statistique montrent qu'il y a une différence significatif entre les temps de détections mesurés et les différents milieux testés ( $F= 3,906$  ;  $P=0,015$ ).

Les larves traités mettent beaucoup de temps pour détecter les milieux témoins ( $569,46 \pm 473,26s$ ) et ( $502,07 \pm 330,33s$ ) pour les milieux traités. Face à un choix entre un milieu traité et un milieu témoin, les larves détectent les milieux traités plus rapidement ( $224,20 \pm 204,31$ ) que les milieux témoins ( $440,75 \pm 495,21s$ ).

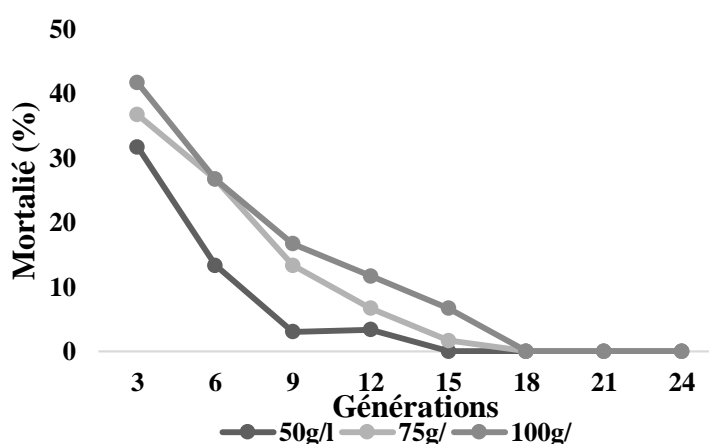
**Tableau 18:** Les temps de détection des larves les différents milieux testés.

	Zone de choix		Moy ±SD	max	min	F	P
Larves témoins	Témoin-Témoin		105,05 ±74,32	318	14	3,906	0,015
	Traitée-Traitée		495,78 ±405,20	1440	109		
	Témoin-Traité	Témoin	296,38 ±269,69	1058	15		
		Traité	277,57 ±368,08	1080	31		
Larves traitées	Témoin-Témoin		569,46±473,26	1485	144	1,627	0,200
	Traitée-Traitée		502,07±330,33	1127	175		
	Témoin-Traité	Témoin	440,75±495,21	1411	104		
		Traité	224,20±204,31	543	35		

### 3.4 Évaluation de la résistance de *Drosophila melanogaster* aux extraits aqueux de *Citrullus colosynthis* :

#### 3.4.1 Effet de la résistance aux extraits aqueux de *Citrullus colosynthis* sur la mortalité :

Les résultats montrent que la résistance augmente au fil du temps quel que soit la concentration utilisée. La mortalité a diminué progressivement d'une génération à l'autre jusqu'à devenir nulle à partir de la 15<sup>ème</sup> génération pour une concentration de 50g/l et à partir de la 18<sup>ème</sup> génération pour les concentrations de 75g/l et 100g/l.



**Figure 29:** Evolution de la mortalité en fonction des différentes concentrations des extraits aqueux au fil des générations.

Le tableau ci-dessous résume les résultats de l'étude de la résistance aux différentes concentrations testées sur la mortalité. La résistance des individus augmente avec les générations. Cela est confirmé par l'augmentation des valeurs de CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> au fil des générations, le RR est plus élevé chez les générations plus récentes, ce qui signifie

qu'il faut des concentrations plus élevées pour éliminer les individus des générations les plus récentes.

**Tableau 19:** Les effets de la résistance sur la toxicité des extraits aqueux de *C.colocynthis*.

Génération	Slope	CL50 (CI95%)	CL90 (CI95%)	$\chi^2$	RR
3	9,37 (4,57)	139,28 (61,11-716,53)	379,69 (196,85-36,09.10 <sup>13</sup> )	6,50	3,28
6	6,618 (3,38)	159,352 (131,21-533,68)	298,202*	14	3,75
9	12,22 (5,57)	216,51*	373,84*	11	5,10
12	20,08 (5,33)	344,68*	916,84*	6,80	8,12
15	23,68 (6,83)	360,60*	1411,35*	8,00	8,49
18	-	-	-	-	-
21	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-

\*CI n'a pas pu être calculé

### 3.4.2 Evaluation des effets de la résistance aux extraits aqueux de *Citrullus colosynthis* sur le comportement sexuelle :

#### 3.4.2.1 Effet de la résistance sur la fréquence d'accouplement :

Les résultats présentés ci-dessous montrent l'évolution de la résistance comportementale de *D.melanogaster* traités par différentes concentrations (50g/l, 75g/l, et 100g/l) au fil des générations. Au début (F1), la fréquence d'accouplement est faible pour toutes les concentrations testées entre 10% et 15%. Cependant, au fil des générations, la fréquence d'accouplement augmente pour toutes les concentrations testées, atteignant des valeurs de 95% pour la génération 24. Il est important de noter que la fréquence d'accouplement augmente plus rapidement pour les concentrations les plus faibles (50g/l) par rapport aux concentrations plus élevées (100g/l).

**Tableau 20:** Les fréquences d'accouplement au fil des générations.

Génération	50g/l	75g/l	100g/l
1	15%	10%	10%
3	25%	15%	15%
6	80%	60%	60%
9	70%	70%	70%
12	85%	80%	80%
15	95%	80%	80%
18	95%	95%	95%
21	95%	95%	95%
24	95%	95%	95%

### 3.4.2.2 Effet de la résistance sur la latence d'accouplement :

La latence d'accouplement est le temps qui s'écoule entre le moment où un mâle rencontre une femelle et le début de l'accouplement. Les latences varient en fonction de l'intensité des concentrations testées au niveau de la même génération. Les couples traités avec une faible concentration peuvent avoir des temps de latence plus courts que les autres couples. Ainsi que la latence varie est diminué chez les générations avancés.

**Tableau 21:** Les latences d'accouplement au fil des générations.

Génération	50g/l	75g/l	100g/l
1	748±468,82	349,5±101,12	353,5±219,91
3	324,40±87,48	510,67±317,05	294,67 ±87,64
6	243,94±147,84	413,67±381,70	383,83±123,63
9	200,29±115,00	161,21±82,30	220,07±151,27
12	170,59±68,14	169,25±74,61	124,00±38,99
15	132,32 ±77,18	132,19 ±65,21	158,81±81,53
18	126,76 ±50,34	115,11±54,37	112,37 ±43,42
21	113,71 ±56,06	113,29 ±44,04	143,12 ±69,41
24	98,11±31,50	110,05±48,81	140,89±74,74

### 3.4.2.3 Effet de la résistance sur la durée d'accouplement :

Au cours des premières générations, la durée d'accouplement est plus élevée pour les individus traités avec une concentration de 50 g/l, avec une moyenne  $1126,67 \pm 411,09$  à F1. Cependant, cette durée d'accouplement diminue au fil des générations, atteignant un minimum de  $912,27 \pm 163,49$  à F24. La durée d'accouplement des individus traités avec une concentration de 75 g/l est plus stable au cours des générations, avec une moyenne de  $1025,31 \pm 158,48$  à F12 et de  $937,21 \pm 188,74$  à F24. Une concentration de 100 g/l présentent une durée d'accouplement avec une moyenne de  $1021,00 \pm 149,71$  à F15 et de  $955,77 \pm 401,61$  à F24.

Les résultats montrent qu'il y a une tendance générale à une réduction de la durée d'accouplement au fil des générations et la durée d'accouplement devient presque similaire chez les générations avancées.

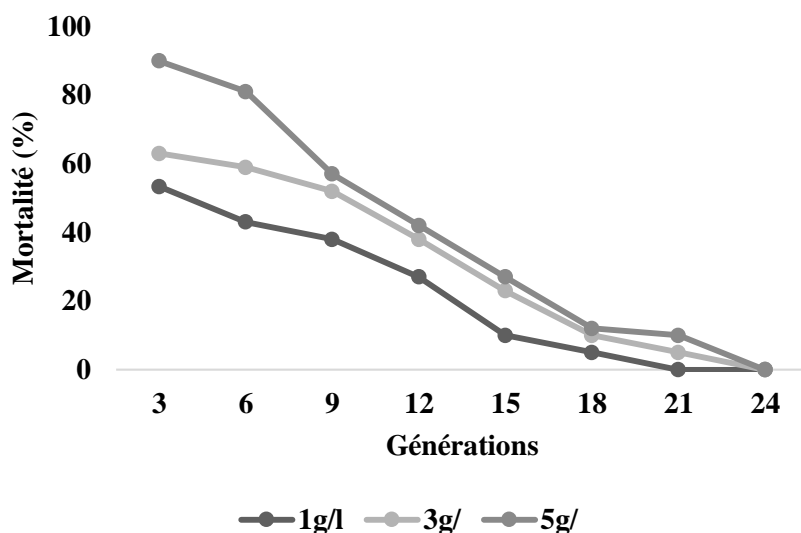
**Tableau 22:** Les temps de la durée d'accouplement au fil des générations.

Génération	50g/l	75g/l	100g/l
1	$1126,67 \pm 411,09$	$1302,50 \pm 850,65$	$1427,50 \pm 180,31$
3	$1079,80 \pm 240,95$	$1019,00 \pm 266,27$	$1392,66 \pm 66,12$
6	$1606,63 \pm 206,20$	$1494,33 \pm 180,67$	$1468,92 \pm 230,95$
9	$1355,50 \pm 226,39$	$939,50 \pm 206,64$	$1395,00 \pm 346,93$
12	$1101,47 \pm 189,22$	$1025,31 \pm 158,48$	$1084,93 \pm 106,66$
15	$1087,84 \pm 165,39$	$1023,75 \pm 108,92$	$1021,00 \pm 149,71$
18	$1022,47 \pm 396,02$	$982,63 \pm 111,71$	$987,37 \pm 92,11$
21	$888,29 \pm 125,65$	$1081,47 \pm 193,31$	$973,65 \pm 159,50$
24	$912,27 \pm 163,49$	$937,21 \pm 188,74$	$955,77 \pm 401,61$

### 3.5 Évaluation de la résistance de *Drosophila melanogaster* aux extraits éthanoliques de *Citrullus colosynthis* :

#### 3.5.1 Effet de la résistance aux extraits éthanoliques de *Citrullus colosynthis* sur la mortalité :

La comparaison entre les taux de mortalité des différentes concentrations utilisées pendant 24 générations a montré que la résistance est corrélée positivement avec le temps d'exposition. La mortalité a diminué d'une génération à l'autre jusqu' elle est devenue nulle à partir de F21 pour la concentration la plus faible 1g/l et au F24 pour les concentrations (3g/l, 5g/l).



**Figure 30:** Evolution de mortalité en fonction des différentes concentrations des extraits éthanoliques au fil des générations.

Le tableau ci-dessous résume les principaux paramètres de l'évaluation de la résistance la mortalité aux différentes concentrations. Les valeurs de CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> augmentent au fil des générations, le RR est plus élevé chez les générations plus récentes, ce qui signifie qu'il faut des concentrations plus élevées pour tuer les individus des générations les plus récentes.

**Tableau 23:** Les effets de la résistance sur la toxicité des extraits éthanoliques de *C.colocynthis*.

Génération	Slope	CL50 (CI95%)	CL90 (CI95%)	$\chi^2$	RR
3	0,47 (0,07)	1,01 (0,41-1,49)	8,62 (5,10-34,65)	18	3,50
6	0,49 (0,04)	1,48 (0,80-2,05)	12,81 (6,94-65,79)	18	5,12
9	0,86 (0,16)	2,72 (0,72-48,80)	22,21 (23,75-33,37)	14	9,42
12	0,95 (0,22)	10,38*	85,27*	15	35,93
15	0,76 (0,21)	20,229 (7,69-97,97)	41,07 (44,23-55,10)	12	69,99
18	0,81 (0,43)	29,226 (10,12-141,10)	84,09*	7,50	86,39
21	1,25 (0,45)	24,96*	124,40*	12	101,12
24	-	-	-	-	-

\*CI n'a pas pu être calculé

### 3.5.2 Effet de la résistance aux extraits éthanoliques de *Citrullus colosynthis* sur le comportement sexuelle :

#### 3.5.2.1 Effet de la résistance sur la fréquence d'accouplement :

Les résultats indiquent que la fréquence d'accouplement varie en fonction de la concentration d'insecticide utilisée et de la génération. Pour la F1, la plus élevée est à 25% à une pour la concentration (1g/l). Pour les générations suivantes, il y a une augmentation de la fréquence d'accouplement, mais cela varie en fonction de la concentration utilisée, il y a une fréquence d'accouplement plus élevée pour les concentrations de 1g/l par rapport aux concentrations de 3g/l et 5g/l. L'utilisation d'une concentration faible peut entraîner moins d'interférence avec l'accouplement au fil des générations.

**Tableau 24:** La fréquence d'accouplement au fil des générations.

Génération	1g/l	3g/l	5g/
<b>1</b>	25%	15%	10%
<b>3</b>	20%	40%	10%
<b>6</b>	55%	60%	25%
<b>9</b>	65%	60%	30%
<b>12</b>	75%	40%	45%
<b>15</b>	75%	45%	45%
<b>18</b>	95%	55%	55%
<b>21</b>	100%	60%	55%
<b>24</b>	100%	75%	65%

#### 3.5.2.2 Effet de la résistance sur la latence d'accouplement :

Les résultats indiquent que la latence d'accouplement (temps entre la présentation des mâles et des femelles et le début de l'accouplement) et la durée d'accouplement (temps total de l'accouplement) varient en fonction de la concentration d'insecticide utilisée. Pour la latence d'accouplement, il y a un délai plus court à une concentration de 1g/l par rapport aux concentrations de 3g/l et 5g/l. Pour la durée d'accouplement, il y a une durée plus courte à une concentration de 1g/l par rapport aux concentrations de 3g/l et 5g/l. La latence d'accouplement est la durée d'accouplement varie et diminue en fonction des générations et les concentrations testées.



**Tableau 25:** Les latences d'accouplement au fil des générations.

Génération	1g/l	3g/l	5g/
1	609,40±347	517,70±278	613,00±251,70
3	322,53±151,66	586,00±632,31	524,71±349,96
6	312,94±133,53	357,81±191,09	447,58±174,30
9	224,93±123,76	325,62±93,18	215,00±139,99
12	272,18±197,83	298,59±98,64	209,25±99,72
15	130,89±42,68	275,25±190,63	204,67±81,09
18	185,64±34,55	198,22±97,45	212,14±76,26
21	115,88 ±57,06	124,67 ±54,67	206,98 ±86,94
24	112,23± 45,65	133,13±76,45	193,589±76,16

### 3.5.2.3 Effet de la résistance sur la durée d'accouplement :

Les résultats montrent que la durée d'accouplement est élevée avec l'augmentation de la concentration testée au sein de la même génération. Au fil des générations la durée d'accouplement diminue quel que soit la concentration testée jusqu'à elle devient presque similaire chez les générations avancées.

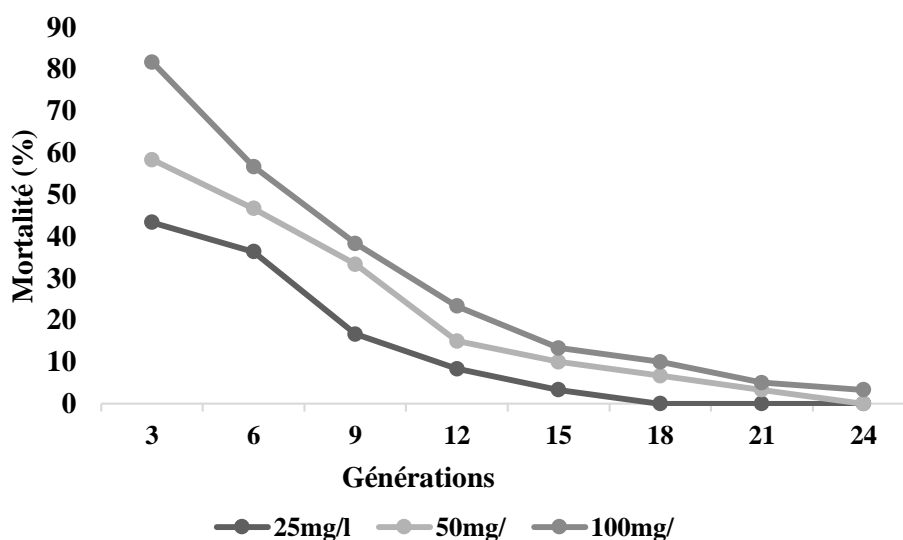
**Tableau 26:** Les temps de la durée d'accouplement au fil des générations.

Génération	1g/l	3g/l	5g/l
1	1089,52±152,63	1372,60±282,80	1508,66±201,34
3	1277,94±311,55	1343,25±162,32	1551,33±72,45
6	1284,86±191,89	1351,33±281,51	1427,00±253,76
9	1266,71±273,69	1121,28±321,10	1408,80±334,05
12	1135,75±98,96	1192,71±243,17	1270,67±372,87
15	1120,00±118,45	1255,67±192,43	1116,00±75,54
18	1162,40±77,44	1107,33±68,28	1172,25±85,73
21	1054,67±28,10	1088,00±62,10	1134,00±150,57
24	1006,67±209,56	1068,60±172,89	1092,50±136,91

### 3.6 Évaluation de la résistance de *Drosophila melanogaster* au *Bacillus thuringiensis* var *krustaki*:

#### 3.6.1 Effet de la résistance au *Btk* sur la mortalité :

La comparaison entre les taux de mortalité des différentes concentrations utilisées sur 24 générations pour ont montré que la résistance est corrélée positivement avec le temps. La mortalité a diminué d'une génération à l'autre jusqu' elle est devenue nulle à partir F18 pour la concentration la plus faible 25mg/l et F24 pour la concentration 25mg/l. Par contre la mortalité est 3% pour la concentration la plus élevée.



**Figure 31:** Evolution de la mortalité en fonction des différentes concentrations de *Btk* au fil des générations.

Le tableau ci-dessous résume les principaux paramètres de l'évaluation de la résistance la mortalité aux différentes concentrations. Les valeurs de CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> augmentent au fil des générations, le RR est plus élevé chez les générations plus récentes, ce qui signifie qu'il faut des concentrations plus élevées pour tuer les individus des générations les plus récentes.

**Tableau 27:** Les effets de la résistance sur la toxicité de *Btk*.

Génération	Slope	CL50 (CI95%)	CL90 (CI95%)	$\chi^2$	RR
3	9,44 (0,79)	33,26 (21,38-42,98)	179,19 (112,09-579,88)	15,00	3,13
6	11,84 (3,58)	63,11 (34,32-693,81)	2076,46 (345,60-78,05.10 <sup>15</sup> )	18,00	5,95
9	13,93 (3,20)	165,31 (92,00-5615,93)	2550,77 (470,70-3182915334)	14,00	15,59
12	5,89 (14,07)	374,65 (152,35-615557)	4574,74 (636,42-12,18.10 <sup>10</sup> )	7,50	35,34
15	7,35 (13,85)	450,21*	1244,89*	13,50	42,47
18	42,16 (12,45)	457,90 (182,08-26988022)	1329,75 (448,32-15,85.10 <sup>11</sup> )	9,60	43,19
21	48,66 (12,55)	917,32*	13232,40*	4,00	86,54
24	53,125 (11,017)	982,045*	6305,69*	2,25	92,64

CI\* n'a pas pu être calculé

### 3.6.2 Effet de la résistance au Btk sur le comportement sexuelle :

#### 3.6.2.1 Effet sur la fréquence d'accouplement :

Les résultats présentés dans le tableau ci-dessous montrent que la résistance de *D.melanogaster* augmente au fil des générations. Cela est visible par la progression de la fréquence d'accouplement à chaque génération quel que soit la concentration testées (25mg/l, 50mg/l, 100mg/l). À F1, la fréquence d'accouplement est de 25%, 40%, 20% respectivement pour ces concentrations et à F24, elle est augmentée à 100%, 100%, 95% respectivement pour ces concentrations. Cela indique que les individus de *D.melanogaster* ont développé une résistance accrue aux concentrations testées au fil des générations.

**Tableau 28:** Les fréquences d'accouplement au fil des générations.

Génération	25mg/l	50mg/l	100mg/l
<b>1</b>	25%	25%	20%
<b>3</b>	45%	40%	25%
<b>6</b>	65%	70%	45%
<b>9</b>	80%	80%	40%
<b>12</b>	80%	85%	65%
<b>15</b>	90%	95%	80%
<b>18</b>	95%	95%	80%
<b>21</b>	95%	95%	80%
<b>24</b>	100%	100%	95%

### 3.6.2.2 Effet de la résistance sur la latence de la parade :

Les résultats indiquent que la latence d'accouplement varie en fonction des concentrations et des générations étudiée. La latence d'accouplement diminue généralement pour toutes les concentrations testées, indiquant que la résistance augmente avec chaque génération. Cependant, il y a des fluctuations dans les résultats, en particulier pour les concentrations 3g/l et 5g/l, où la latence d'accouplement augmente parfois avant de diminuer de nouveau. Il est également remarquable que la latence d'accouplement est généralement plus basse pour la concentration de 1g/l.

**Tableau 29:** Les latences d'accouplement au fil des générations.

Génération	25mg/l	50mg/l	100mg/l
<b>1</b>	264,06±117,06	289,82±191,80	316,00±133,09
<b>3</b>	259,67 ±96,37	192,13 ±53,44	348,11 ±179,00
<b>6</b>	277,63 ±200,90	204,53 ±97,20	548,23 ±327,00
<b>9</b>	140,00±134,25	227,50±104,13	233,75±82,93
<b>12</b>	124,67 ±105,71	135,41±81,14	143,68±65,94
<b>15</b>	118,00 ±62,18	124,68 ±60,44	249,65±78,88
<b>18</b>	101,44 ±61,74	128,00±64,08	121,75±62,81
<b>21</b>	111,33±63,05	133,75±103,39	134,11 ±61,93
<b>24</b>	108,67±39,10	114,89 ± 46,70	124,94±87,76

**3.6.2.3 Effet de la résistance sur la durée d'accouplement :**

La durée d'accouplement varie aux différentes concentrations et au fil des générations. Au départ, chez les premières générations, la durée d'accouplement est plus longue pour les individus traités avec des concentrations plus élevées, mais au fil des générations, cette durée diminue pour toutes les concentrations. On peut observer une diminution de la durée d'accouplement pour toutes les concentrations testées. La durée d'accouplement diminue au fil des générations quel que soit l'intensité de la concentration utilisée.

**Tableau 30:** Les temps de la durée d'accouplement au fil des générations.

<b>Génération</b>	<b>25mg/l</b>	<b>50mg/l</b>	<b>100mg/l</b>
<b>1</b>	1402,32 ±503,34	2207,20 ±905,86	1923,50±746,68
<b>3</b>	1269,13±545,18	1387,58±153,76	1483,00±226,36
<b>6</b>	1196,53±164,32	1421,17±300,32	1502,67 ±249,48
<b>9</b>	1225,50±435,63	1245,00±303,42	1244,22± 393,92
<b>12</b>	1116,50±66,82	1104,67±74,23	1186,57±324,20
<b>15</b>	1253,00±306,49	1212,80±226,12	1202,75±140,25
<b>18</b>	1186,80±126,59	1123,00±150,12	1114,78±95,10
<b>21</b>	1080,00±225,36	1074,33± 42,34	1137,75±43,29
<b>24</b>	1041,00±106,80	1092,56±59,81	1097,67±26,31

#### **4. Discussion :**

Les insectes constituent le groupe d'organisme animal le plus abondant et le plus diversifié de la planète (**Hamilton et al., 2010**). Ils sont essentiels au fonctionnement de tous les écosystèmes. Sans leurs travaux minutieux, notre monde s'écroulerait, il nous convient de souligner leurs bienfaits et l'importance de leurs rôles écologiques dans la biodiversité.

Les insectes sont un maillon important des réseaux alimentaires, ils sont le premier maillon des réseaux alimentaires après les plantes, pour de nombreuses espèces de poissons, d'amphibiens, de reptiles, d'oiseaux et de mammifères (**Boyle et al., 2021**).

Les insectes jouent un grand rôle dans les différents cycles de la matière, ils sont considérés comme des composeurs et des recycleurs. Les termites sont sans doute les plus importants ingénieurs de l'écosystème du sol (**Delvare et Aberlenc, 1989**).

Les insectes apportent une aide précieuse à l'agriculture. Il y a ceux qui sont considérés en tant que des auxiliaires précieux, car ils mangent des insectes considérés comme nuisibles (**Brodeur et Caron, 2006**). De plus sans les insectes pollinisateurs la plupart des plantes à fleurs disparaîtraient de la surface de la terre. En effet celles-ci ont besoin des insectes pour leur fécondation (**Tasei, 1976**).

Pour l'homme les insectes ne sont pas toujours beaux et ils paraissent parfois nuisibles. Les insectes nuisibles ce sont les insectes jugé par l'homme de causer du tort à lui-même, à ses cultures, à ses animaux ou à ses biens, comme les insectes hématophages qui sont souvent vecteurs de graves maladies humaines ou du bétail, d'autres sont des ectoparasites de mammifères ou d'oiseaux ; outre les irritations et plaies qu'ils provoquent, ils sont la source d'infections ou de maladies (**Delvare et Aberlenc, 1989**). Ainsi il existe une myriade de façons dont les insectes causent des dommages depuis des millénaires et les efforts de l'homme pour les contrôler ont une longue histoire.

Le siècle dernier a enregistré des progrès significatifs dans la synthèse des pesticides. Cependant, les insecticides synthétiques ont vite montré leur agressivité envers des organismes non visés dont les insectes utiles, les mammifères et l'homme, en plus de leur persistance dans la nature qui perturbe les équilibres écologiques (**Ouakid, 2006**). C'est pourquoi une nouvelle approche est apparue qui consiste à développer de nouveaux insecticides d'origine biologique, qui ont de nombreux avantages tels que spécificité d'action, réduction des risques de résistance et maintien de la biodiversité, à cette perspective nous avons évalué l'efficacité de deux bioinsecticide un d'origine végétale et l'autre microbien et déterminé leurs effets sur différents aspect sur un organisme modèle *D.melanogaster*.

#### 4.1 Etude toxicologique :

L'OMS a établi des processus pour évaluer l'efficacité des insecticides utilisés pour contrôler les ravageurs, permettant d'évaluer adéquatement la plupart des produits larvicides et adulticides utilisés actuellement. Les biotests servent à mesurer les effets doses-réponses de l'impact d'un insecticide sur une espèce et à identifier les cas de résistance (OMS, 2017).

Les résultats des tests toxicologiques que nous avons obtenus à travers l'utilisation des différentes concentrations de l'extraits aqueux de *C.colocynthis* (50g/l, 100g/l 150g/l) donnent des taux de mortalité qui varie d'une concentration à une autre et augmente par rapport au temps d'exposition. La mortalité atteint sa valeur maximale (30% à 93%) après le 12ème jour d'exposition. Les paramètres toxicologiques calculés montrent que les concentrations létales (CL<sub>25</sub>, CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>) diminuent en fonction de la durée du traitement ainsi que les temps létaux (TL<sub>25</sub>, TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub>) diminuent en fonction de l'augmentation de la concentration. Le traitement avec les extraits aqueux de *C. colocynthis* a permis d'éliminer 50% des individus de *D. melanogaster* avec une concentration de 67g /l et 12jours d'exposition ; par contre pour la concentration la plus élevée 150g/l, il faut 2jours pour éliminer 50% des individus.

Les effets toxiques des extraits aqueux de *C.colocynthis* ont été évalués sur plusieurs espèces d'insectes. Sur les diptères, ils ont des effets larvicides sur les larves L4 de *Culex pipiens* et de *Culiseta longiareolata* (Merabti et al., 2015) et sur *Culex quinquefasciatus*. (Mullai et Jebanesan, 2007 ; Rahuman et al., 2008). Sur les lépidoptères, Gulzar et al (2017) ont utilisé des différentes concentrations afin de déterminer ses toxicités sur *Helicoverpa armigera*. L'extrait aqueux de différentes parties de *C. colocynthis* réduit significativement la population de *Rhopalosiphum padi* (Asiry, 2015). Sur les hémiptères, Alanazi (2019) a étudié les effets toxiques des tiges et des feuilles de *C.colocynthis* contre *Acyrtosiphon pisum*.

Les résultats obtenus pour les différentes concentrations testées pour les extraits éthanoliques de la coloquinte (1g/l, 3g/l, 5g/l) ont montré que la mortalité varie et augmente respectivement avec les concentrations et le temps d'exposition, elle atteint sa valeur maximale (65% à 100%) après le 7ème jour d'exposition pour toutes les concentrations utilisées. Les paramètres toxicologiques, (CL, TL) changent significativement en fonction des concentrations et les temps d'expositions. Le traitement avec les extraits éthanolique a permis d'éliminer 50% des individus avec une concentration de 0,692 g /l et 7jours d'exposition ; par contre pour la concentration la plus élevée 5g/l, la mortalité est à 100% au bout de 7ème jour d'exposition.

De nombreux travaux montrent aussi les effets toxiques des extraits éthanolique de *C.colocynthis*. il a montré des effets insecticides contre *Aphis craccivora* (Torkey et al., 2009) ainsi que les larves *Helicoverpa armigera* (Gulzar et al., 2017). Alanazi (2019) a étudié les

effets toxiques des extraits des tiges et des feuilles de *C.colocynthis* contre *Acyrtosiphonaphids*. La toxicité des extraits éthanoliques des feuilles a révélé aussi une toxicité positive contre *Brevicoryne brassicae* (Ahmed et al., 2020).

Les deux extraits aqueux et éthanoliques de *C. colocynthis* ont montré une grande toxicité contre les larves de *D. melanogaster*, ce potentiel insecticide est dû à la présence d'alcaloïdes, de glycosides et de saponines (Torkey et al., 2009).

La plupart des bioinsecticides utilisés contre les insectes nuisibles sont des formulations microbiennes de spores viables et de toxines de la bactérie Gram-positive *Bacillus thuringiensis* (Sanchis et Bourguet 2008, Lacey et al., 2015 ; Babin et al., 2022). L'utilisation des insecticides des préparations de *Bt* a augmenté en raison de son efficacité contre les larves de certains insectes membres des ordres des Lépidoptères, des Diptères, des Hyménoptères, des Coléoptères, des Orthoptères, des Homoptère, et Phthiraptère (Pardo-Lopez et al., 2013) mais aussi protozoaires et nématodes (Palma et al., 2014 ; Mendoza et al., 2020).

*Btk* est l'une des sous-espèces de *Bt* les plus commercialisées qui produisent Cry1 et Cry2, efficaces contre les lépidoptères et les mouches noir (Babin et al., 2022).

Dans cette étude, nous avons optés d'évaluer les effets toxiques de *Btk*, contre *D.melanogaster* en tant que une espèce non cible afin de déterminer son activité larvicide.

Nos résultats montrent que la mortalité obtenus à travers les différentes concentrations testées (25mg/l, 50mg/l, 100mg/l) donnent des taux qui variés d'une concentration à une autre et augmente par rapport au temps d'exposition. La mortalité atteint sa valeur maximale (57%, 72%, 93%) au bout du 7ème jour d'exposition pour toutes les concentrations testées respectivement. Les paramètres toxicologiques de cette étude changent significativement en fonction de l'augmentation de la concentration et le temps d'exposition. Le traitement avec *Btk* a permis d'éliminer 50% des individus avec une concentration de 36mg/l seulement après 3 jours d'exposition. Bien que *D.melanogaster* n'est pas une espèce cible au *Btk*, cela n'a pas empêché de provoquer des taux de mortalité appréciables dans le cas d'utilisation des concentrations très élevés contre cette espèce. En effet il y'a un certain nombre de souches de *Bt* non activées peut provoquer une mortalité larvaire variable chez *D.melanogaster* (Al-Momani et Megdam 1998, Lonc et al. 2001, Saadoun et al. 2001, Khyami-Horani 2002, Khyami- Horani et al. 2003, Al-Momani et al. 2004, Obeidat 2008, Guz et al., 2009, Cossentine et al., 2016). Plus récemment des études s'intéressent d'étudier les effets de *Btk* contre *D.melanogaster* en tant que une espèce non cible (Babin et al., 2020, Nawrot-Esposito et al., 2020, Babin et al., 2022).



#### 4.2 Etude des effets sublétaux sur différents comportements :

Il est nécessaire de comprendre comment les insectes font face aux insecticides pour concevoir des stratégies rationnelles de lutte contre les ravageurs. Les expositions sublétales aux insecticides peuvent fournir des informations biologiques supplémentaires décrivant la manière dont un insecticide affecte l'insecte (**Denecke et al., 2015**). Alors qu'une concentration réduite d'insecticide n'entraîne pas nécessairement des niveaux de mortalité dramatiques, l'exposition sublétale à l'insecticide a été inculpée pour avoir altéré la physiologie, le comportement et l'aptitude de la population d'insectes (**Henry et al., 2012 ; Rundlöf et al., 2015 ; Mitchell et al., 2017**). La façon la plus courante d'évaluer les réponses sublétales est sans doute de procéder à des essais comportementaux pendant ou après une exposition aux insecticides (**Desneux et al., 2007**). Des tests expérimentaux approfondis de l'exposition sublétale aux insecticides ont été réalisés pour de multiples traits comportementaux (**Shi et al., 2011 ; Biondi et al., 2012 ; Gontijo et al., 2013 ; Guo et al., 2013 ; Guedes et al., 2016**). Il a été démontré que les expositions sublétales aux insecticides modifient de manière significative la fécondité (**Wei et al., 2010**), le comportement alimentaire (**Cameron et al., 2013**) et la locomotion (**Tomé et al., 2014**) des espèces nuisibles. Chacun de ces phénotypes a un coût d'adaptation et souvent déclenché par des concentrations bien inférieures à la valeur CL<sub>50</sub> d'un composé (**Hellou, 2011**).

Après la détermination des effets toxiques des différents extraits testés sur la mortalité, nous avons procédé à évaluer leurs effets sublétaux sur différents comportements de *D.melanogaster*. Cet insecte, apparaît comme un modèle adéquat pour l'étude du comportement (**Philippe, 2016**). Elle présente un large panel de comportements parfois bien complexes tel que le comportement de parade sexuelle, ce rituel est très précis et complet (**Yamamoto et al., 1997**), le comportement de choix de sites de ponte, dont les préférences peuvent être transmises entre les individus (**Ruizdubreuil et al., 1994 ; Battesti et al., 2012**) ou le comportements de recherche de nourriture (**Sokolowski 1998**).

La parade sexuelle chez *D. melanogaster* a fait l'objet d'un grand nombre de travaux depuis sa première description par **Sturtevant (1915)** jusqu' à nos jours. L'initiation et le déroulement du comportement sexuel chez cette espèce, est une forme de communication multimodale, impliquant des signaux sensorielles visuelles, auditifs et tactiles (**Greenspan et Ferveur, 2000**). Souvent, les signaux masculins sont plus visibles et facilement observables, et sont plus largement étudiés, les mâles produisent un chant de cour en faisant vibrer leurs ailes (**Borrero-Echeverry et al., 2021**). Un autre signal qui peut être facilement quantifié, et qui a été largement étudié, est la variation des phéromones chimiotactiques (**Pischedda et al., 2014**).

Les phéromones volatiles de *D. melanogaster*, sont produit par les femelles et spécifique à l'espèce, elles attirent les deux sexes à distance (**Borrero-Echeverry et al., 2021**). Le choix du partenaire est un processus complexe qui affecte l'aptitude et qui implique à la fois des facteurs génétiques (**Nobel, 2018**).

L'étude des effets sublétaux de *C.colocynthis* sur le comportement sexuel de *D.melanogaster* montrent que les adultes issues du traitement, présentent de grande perturbation de leur parade sexuelle et cela quel que soit le type de croisements effectué, Les deux premières séquences sont réussies par tous les couples testés, la perturbation apparaît lors de la vibration ou nous enregistrons certains couples sont incapables de vibrer leurs ailes et ils sont aussi incapables d'assurer un léchage ou une tentative d'accouplement. La parade sexuelle, fait intervenir une multitude d'informations sensorielles est également caractérisée par une constellation complexe de comportements ayant des propriétés qualitatives, quantitatives et séquentielles dont dépend sa réussite (**Markow et Hanson 1981**). Nous avons enregistré aussi une très grande diminution dans la fréquence d'accouplement, soit chez les couples traités par l'extrait aqueux (45%, 25%) ou l'extrait éthanolique (20 %,15%). Toute déviation de la structure ou déroulement de la parade mâle spécifique de l'espèce serait suivie, d'une façon ou d'une autre, par l'incapacité du mâle à stimuler convenablement la réceptivité de la femelle (**Bouhouche, 1992**). Le traitement par *C.colocynthis* a influencé aussi la latence de la parade, les couple traités ont du retard pour initier leur parade par rapport aux témoins. L'état physiologique du mâle augmente la durée de la latence de chaque séquence (**Eastwood et Burne, 1977**).

Les résultats de l'étude de comportement sexuel montrent que le traitement par les extraits aqueux et éthanolique de *C.colocynthis* à un impact sur le comportement sexuel des adultes issus du traitement, le traitement a affecté les mâles ainsi que les femelles de *D.melanogaster*. Les composés isolés de *C.colocynthis* ont montré diverses actions contre les insectes nuisibles, en particulier le composé cucurbitacine B qui est responsable de la réduction de l'oviposition (**Seenivasan et al., 2004 ; Tallamy et al., 1997**). **Hassam et al (2022)**, ont rapporté que la concentration sublétale de l'extrait de graines de *C. colocynthis* affecte significativement l'accouplement, la fécondité *Earias vittella* (lepidoptera).

La perturbation du comportement sexuel *D.melanogaster* fait intervenir la perception phéromonale, le mouvement et la vision. Cette peut perturbations être due aux cucurbitacines et à leurs glycosides présents dans toute la plante, particulièrement dans le fruit et les graines (**Darwish-Sayed et al., 1974 ; Segeret al., 2005**).

*Bt* est parmi les insecticides naturels les plus couramment utilisés comme alternatives aux insecticides synthétiques pour la gestion des ravageurs, Il existe de nombreux travaux sur ses effets directs comme moyen de lutte, mais ses effets sublétales ne sont pas beaucoup étudiés.

Dans cette étude nous avons évalué les effets sublétaux de *Btk* sur le comportement sexuel de *D.melanogaster*, le traitement a entraîné des perturbations dans le déroulement de la parade sexuelle des adultes traités, nous avons enregistré aussi une diminution dans la fréquence des accouplements réussis 35% chez les couples traités. Le nombre de répétition des différentes séquences de la parade par les mâles est élevé mais cela n'aboutit pas à un accouplement réussi, les femelles traitées ne sont pas réceptives. Lorsqu'un mâle rencontre une partenaire potentielle, il s'oriente face à elle et touche son abdomen avec l'une de ses pattes avant pour percevoir son identité phéromonale. En fonction de la réceptivité de la femelle, ce comportement peut être répété plusieurs fois avant d'aboutir à une copulation effective. La femelle transmet au mâle des signaux d'acceptation ou de rejet tout au long de la parade (**Sturtevant, 1915; Connolly et Cook, 1973**). Les phéromones sexuelles, impliquées dans la reproduction, constituent un signal de reconnaissance spécifique à chaque individu qui va permettre aux individus de son espèce de l'identifier comme un partenaire sexuel potentiel, de le choisir ou non parmi tous les partenaires disponibles, le cas échéant, de débiter et de mener à son terme une parade amoureuse (**Jallon et David, 1987; Krupp et al., 2008; Everaerts et al., 2010**). Ces phéromones peuvent dans certains cas défavoriser les accouplements entre des individus de populations différentes (**Bontonou et Wicker, 2014**). **Shen et al (2013)** ont montré que le traitement des larves *Helicoverpa armigera* avec le *Bt* a eu un effet sur le système de communication des phéromones sexuelles chez les papillons survivants de l'espèce, ce qui peut contribuer à l'accouplement assortatif. **Abedi et al (2014)** ont montré aussi que le traitement par une concentration sublétales de *Bt* a pu réduire d'une manière significative la fécondité des femelles *Helicoverpa armigera*.

L'olfaction est une modalité sensorielle cruciale chez les insectes, pour le contrôle de nombreux aspects du comportement, la sélection du partenaire, le choix de la nourriture et la navigation vers des sites de ponte appropriés dépendent tous d'un sens de l'odorat fonctionnel (**Vosshall, 2000**). Le stade larvaire chez l'insecte correspond généralement au stade le plus durable, le plus actif dans l'alimentation et relativement peu mobile, il est donc le plus susceptible d'être fortement exposé aux pesticides avec une capacité de fuite limitée. (**Chareonviriyaphap et al., 2013 ; Cordeiro et al., 2013 ; Nansen et al., 2016**).

Dans la plupart des tests de comportement larvaire, on présente à un asticot individuel ou un groupe des larves un stimulus gradué et leur comportement locomoteur en réponse à cette

stimulation, interprété en termes de préférence, est enregistré sur une brève période de temps (**Kaiser et Cobb, 2008**). Cette technique simple a été utilisée avec succès dans des études sur l'apprentissage, l'olfaction, la gustation, la phototaxie, l'adaptation et il est supposée être à la fois fiable et valide (**Aceves-Pina et Quinn 1979 ; Heimbeck et al., 1999 ; Scherer et al., 2003 ; Mazzoni et al., 2005 ; Colomb et al., 2007, Kaiser et Cobb ., 2008**).

Les résultats de notre étude montrent que les larves témoins testées dans le comportement olfactif présentent une forte répulsion aux odeurs des milieux traités par une concentration subléthale soit de l'extrait aqueux ou éthanolique de *C.colocynthis*, cette répulsion persiste durant toute la période du test, même les larves traitées présentent une répulsion. Les larves traitées mettent beaucoup plus de temps pour détecter les différents milieux par rapport aux témoins. La majorité des larves témoins sont attirées par le milieu témoin et elles détectent rapidement les milieux témoins que les milieux traitées. Les insectes naviguent dans des environnements odorants complexes contenant les odeurs des prédateurs et de la nourriture. Pendant la navigation, ils évaluent la direction de diverses sources d'odeurs avant de prendre des décisions de navigation (**Gershow et al., 2012; Odell et al., 2022**). Les larves de *D. melanogaster* recherchent de la nourriture en pelletant avec leurs crochets buccaux tout en se déplaçant le long de la surface du substrat d'alimentation (**Shaver et al., 1998**). La larve de drosophile balaie la tête pour évaluer le gradient d'odeurs environnant avant de se diriger vers la gauche ou la droite (**Gershow et al., 2012; Odell et al., 2022**). Les fruits de Cucurbitaceae amères contiennent en général de petites quantités de cucurbitacine C, mais de grandes quantités de cucurbitacine E, responsable de l'amertume (**Hutt et Herrington, 1985, Leber, 2019**), plusieurs études ont permis de montrer un comportement d'évitement lors de la présence d'une molécule amères sur le substrat nutritif (**Glendinning et al., 2001; Meunier et al., 2003 ; Colombi., 2021**).

Les extraits aqueux et éthanoliques de *C.colocynthis* ont des effets presque similaires pour les résultats du comportement alimentaires (choix de nourriture) des larves attirées et non attirées aux zones de choix, montrent qu'un faible taux des larves traitées peut faire un choix d'attraction aux différents milieux testés par rapport à leurs homologues témoins qui ont une grande attraction aux milieux témoins. **Tallamy et al k(1997)** ont révélé que le composé isolé cucurbitacin B a montré un effet antifeedant sur les insectes : *Popillia japonica* (Newman), *Cerotoma trifurcata* (Forster), *Leptinotarsa decemlineata* (Say), *Trichoplusia ni* (Hubner), *Tenebrio molitor* (L. ), *Nauphoeta cinerea* (Olivier), *Gargaphia solani* (Heidemann), *Corythucha ciliata* (Say), *Peregrinus maidis* (Ashmead) and *Acyrtosiphon pisum* (Harris). De plus, **Ponsankar et al (2020)** ont montré que la cucurbitacine E a modifié également la biologie

et le comportement alimentaire de *S. litura*. Les résultats de notre étude prouvent que le traitement par une concentration sublétales des extraits aqueux et éthanoliques de *C.colosynthis* a entraîné des perturbations dans le comportement alimentaire et olfactif des larves de *D.melanogaster*. *C.colosynthis* a des effets antiappétissants et des effets répulsifs sur les larves de *D.melanogaster*.

Les produits commerciaux de *Btk* sont largement utilisés. Leurs effets secondaires potentiels sur les insectes non ciblés dépendraient d'accumulation et l'exposition à ces formulations. L'endotoxine *Btk* pour être activée, elle doit être dissoute dans les sucs digestifs alcalins de l'intestin moyen des larves (**Percy et Fast, 1983**), puis se lier à des récepteurs hautement spécifiques sur les cellules épithéliales de l'intestin moyen (**Nakanishi et al., 1999**). La spécificité accordée par ce mode d'action est un avantage important de cet insecticide. L'endotoxine *Btk* doit être ingérée pour être efficace. La réponse comportementale des larves non cibles n'a reçu que peu d'attention dans les études portant sur l'application du *Bt*.

Dans notre étude les effets du *Btk* sur l'olfaction des larves de *D.melanogaster* montrent que les larves témoins testées présentent une répulsion aux odeurs des milieux traités, cette répulsion persiste toute la durée du test. Les larves traitées montrent aussi une répulsion au début du test, qui change en une attraction ensuite cette attraction s'inverse en une répulsion. Un comportement d'évitement ayant comme origine une aversion apprise par l'insecte ou une répulsion induite par la molécule à effet insecticide, aboutissant ainsi à limiter l'exposition de l'insecte à un insecticide (**Zalucki et Furlong, 2017**). La décision prise par l'insecte de se nourrir passe en premier lieu par la capacité à détecter visuellement, olfactivement ou par contact la présence d'un composé toxique (**Després et al., 2007**). La modification du comportement peut, dans certains cas, être corrélée à la modification d'éléments impliqués dans la détection de l'insecticide. Selon **Zalucki et Furlong (2017)**, le meilleur exemple de modification comportementale entraînant une diminution de l'efficacité d'un insecticide provient d'une étude réalisée sur des blattes germaniques (**Zalucki et Furlong, 2017**). Il a été montré que certaines blattes évitaient la consommation d'appâts intoxiqués à l'Imidaclopride

Dans les tests alimentaires, dans une situation de choix entre milieu témoin et traité 50% des larves témoins choisissent les milieux témoins et 30% choisissent les milieux traités, 20% ne manifestent aucun choix. Malgré que le *Bt* est l'un des biopesticide les plus utilisés, il y'a pas assez d'étude qui montre ses effets sublétaux sur l'olfaction et le comportement alimentaire. **Retnakaran et al (1983)** ont observé que les larves de sixième stade de la tordeuse des bourgeons de l'épinette étaient totalement incapables de distinguer les régimes avec et sans spores et cristaux de *Btk* pendant 24 heures. **Ramachandran et al (1993)** ont observé que les

larves de deuxième stade de la tordeuse des bourgeons de l'épinette commencent à manifester une préférence pour le régime non traité après 3 jours.

Pour les larves traitées par *Btk* 25% des larves montrent une préférence pour les milieux témoins, 20% pour les milieux traités et 55% ne manifestent aucun choix. (Moreau et Bauce, 2003) ont signalé que les formulations de *Btk* peuvent induire une abstention alimentaire chez les larves avant l'ingestion d'un aliment contaminé par le *Btk*. L'abstention alimentaire confère à l'insecte un avantage significatif en présence de *Btk* car les effets létaux et sublétaux résultant de l'ingestion de *Btk* sont évités. Le terme abstention alimentaire est utilisé pour différencier ce comportement de l'évitement et de l'inhibition alimentaire. L'évitement implique généralement que l'insecte s'éloigne de la ressource alimentaire (comportement de fuite) et son utilisation est inappropriée dans des conditions de non-choix. L'inhibition de l'alimentation est un état physiologique résultant de l'ingestion de *Btk* (Retnakaran *et al.*, 1983).

#### **4. 3. Etude de la résistance :**

L'utilisation importante et non raisonnée des insecticides en agriculture a fait émerger des mécanismes de résistances aux insecticides chez les insectes ravageurs de culture. En effet, les insecticides amènent une pression de sélection extrêmement forte sur les insectes exposés (Borel, 2017). Il a été signalé que de nombreuses espèces d'insectes ont développé une résistance contre divers insecticides (Whalon, 2008). La résistance d'une espèce cible peut être définie comme une diminution héréditaire de la sensibilité à un insecticide (Nauen, 2007). C'est un phénomène évolutif (Tabashnik, 1994). Au plan fondamental, il s'agit d'une adaptation au nouvel environnement sélectionnée par la pression exercée par un ou plusieurs insecticides, selon un processus de sélection naturelle. Les individus résistants sont porteurs d'une ou plusieurs mutations géniques codant pour des protéines qui interagissent avec l'insecticide. (Baldet *et al.* , 2014). Les insecticides ne provoquent pas l'apparition de ces mutations directement, mais sélectionnent les individus qui les portent car ils sont aptes à survivre et se reproduire en présence de ces insecticides. En conséquence, la fréquence du ou des allèles de résistance augmente dans les populations exposées à l'insecticide au fur et à mesure des générations (Baldet *et al.* , 2014). Pour étudier la résistance, il faut montrer que des traitements répétés avec un insecticide ont provoqué une augmentation significative de la quantité nécessaire pour tuer une certaine proportion d'une population (la concentration qui tue 50 % de la population) ou une diminution significative du pourcentage de mortalité causé par une quantité fixe d'insecticide (Tabashnik, 1994). On peut démontrer la résistance directement en montrant une diminution de la sensibilité au fil du temps au sein d'une population, ou indirectement en montrant qu'une population ayant un historique d'exposition relativement

élevée à un insecticide est moins sensible que les populations qui ont été moins exposées (**Tabashnik, 1994**).

La drosophile est un outil précieux pour l'étude de la résistance aux insecticides, l'utilisation de la drosophile comme espèce modèle dans l'étude de la résistance aux insecticides repose sur la présence d'homologues des gènes identifiés chez la drosophile dans l'espèce nuisible (**Mccart, 2006**). La résistance *D. melanogaster* aux insecticides, a été identifiée en utilisant des évaluations en laboratoire de la sensibilité des mouches aux insecticides. Par exemple, la résistance au DDT, la zéta-cyperméthrine, malathion et l'acétamipride a déjà été signalée chez cette espèce (**Pedra et al., 2004, Sun et al., 2019, Mertz et al., 2021, Hubhachen et al., 2022**).

Les préoccupations croissantes concernant le développement de la résistance et l'utilisation restreinte des insecticides ont encouragé l'application d'insecticides bio-rationnels et botaniques (**Akhtar et al., 2012 ; Tome et al., 2013**). Les substances phytochimiques extraites des parties de plantes en utilisant différentes solutions, agissent comme toxiques, répulsifs et régulateurs de croissance (**Amer et Mehlhorn, 2006 ; Choudhury et al., 2021**).

Dans ce travail, l'évaluation de l'exposition à long terme des effets toxiques extraits de *C.colocynthis*, a permis d'observer une résistance à ces extraits testés quel que soit la concentration utilisée. L'analyse statistique des données montrent que la résistance augmente avec le temps, et les taux de mortalité ont diminué au fil des générations, jusqu'à devenir nuls à partir de F15 pour une concentration de 50g/l et à partir de F18 génération pour des concentrations de 75g/l et 100g/l pour l'extrait aqueux de *C.colocynthis*. Le même phénomène est observé pour l'extrait éthanolique, la mortalité a diminué d'une génération à l'autre jusqu'à elle est devenue nulle à partir de F18 pour la concentration la plus faible 1g/l et à F24 pour les concentrations (3g/l, 5g/l). Cette résistance s'installe graduellement d'une génération à l'autre puisque nous avons enregistré une augmentation des paramètres toxicologiques (une augmentation des CL<sub>50</sub>, CL<sub>90</sub> et RR avec le temps) pour chaque type d'extrait testé. Lorsque la résistance est suspectée, le niveau de résistance de la population est évalué par des tests toxicologiques en laboratoire qui permettent d'établir des niveaux ou rapports de résistance (RR) par comparaison avec une souche sensible de référence de la même espèce (**Baldet et al., 2014**).

Certaines plantes ont évolué pour produire une gamme de composés toxiques entraînant l'évolution de nouvelles formes de résistance chez l'insecte cible à ces composés (**Feyereisen, 1999**). Il existe un certain nombre d'exemples de l'évolution de composés insecticides dans une plante, suivie de la capacité des insectes à survivre à l'exposition à ce composé, ce qui leur

permet de se nourrir de la plante et de dépasser leurs concurrents en étant capables de survivre dans un environnement de niche (**Mccart, 2006**). La résistance d'une population d'insectes donnée à un insecticide représente toute une augmentation, déterminée génétiquement, de sa tolérance à cet insecticide, en réponse à une pression de sélection. Notre expérimentation nous a permis de mettre en évidence ce phénomène, à la fin de notre étude nous avons pu sélectionner des souches résistantes de *D.melanogaster* aux extraits aqueux et éthanoliques de *C.colocynthis*.

Les biopesticides à base de *Bt* représentent environ 75 % des produits du marché mondial des biopesticides (**Daquila et al., 2022**). Les pulvérisations fréquentes pour lutter contre les ravageurs de la résistance à pratiquement toutes les catégories d'insecticides synthétiques, y compris le *Bt* dans les champs (**Sun et al., 1986 ; Miyata et al., 1986 ; Saito et al., 1995 ; Ferré et van Rie, 2002**). Par conséquent, la résistance au *Bt* s'est développée chez un certain nombre d'espèces de ravageurs, de nouveaux cas continuent à apparaître (**Tabashnik et Carrière, 2017**). Des expériences de sélection en laboratoire ont montré un fort potentiel de développement de la résistance au *Bt* chez diverses espèces d'insectes ce qui démontre l'existence d'un répertoire de mécanismes de résistance disponibles chez les insectes (**Huang, et al., 2002**). Les mécanismes de résistance caractérisés ont été largement attribués à des modifications des sites de liaison entraînant une réduction de la fixation de la toxine (**Pardo-Lopez et al., 2013**). Cependant, la cause de la mort de l'insecte lui-même suite à l'ingestion de *Bt* a été une question fortement débattue avec des incertitudes quant à la mesure dans laquelle les bactéries endogènes sont impliquées (**Broderick et al., 2009**). L'impact de la résistance aux *Bt* a fait l'objet d'une importante documentation (**Tabashnik et al., 1994 ; Ferré et Van Rie, 2002 ; Candas et al., 2002 ; Janmaat et Myers, 2003 ; Raymond et al., 2005 ; Tabashnik et al., 2008 ; Kruger et al., 2009 ; Dhurua et Gujar, 2011 ; Gassmann et al., 2011 ; Jurat-Fuentes et al., 2021**).

Les effets chroniques de Btk ont été étudiés sur 24 générations de *D. melanogaster* en utilisant des tests de toxicité standard. La résistance a été évaluée en mesurant la mortalité toutes les 3 générations. Les taux de mortalité étaient élevés pour les premières générations F3(82%) pour une concentration la plus élevée de (100 mg/l), mais ont diminué au fil des générations jusqu'à atteindre 3% pour la F24. L'utilisation de trois concentrations différentes dans l'intensité, cela n'a pas empêché la drosophile de développer une résistance. Une étude similaire a été conduite par (**Singh et Morton, 1981**) avec un insecticide différent le malathion a montré que quelle que soit l'intensité de la toxine utilisée dans le régime alimentaire, *D.melanogaster* a développé une résistance en huit générations.



Les insectes qui sont constamment en contact avec le *Bt* et ses toxines ont très probablement une défense cellulaire innée accrue, et par conséquent, ils subissent des adaptations physiologiques qui sont résistante à l'action insecticide du *Bt* (**Loseva et al., 2001**).

La gestion de la résistance des insectes à ces toxines a été considérée comme la clé du succès et de la durabilité de cette technologie. On distingue trois types de mécanisme de résistance qui se traduisent par des modifications biochimiques, physiologiques et comportementales. La résistance biochimique se situe au niveau cellulaire. La résistance physiologique s'exprime au niveau des tissus et organes. La résistance comportementale s'observe au niveau de l'insecte qui présente un comportement différent (**Haubruge et Amichot, 1998**). La résistance comportementale peut être définie comme l'ensemble des modifications comportementales induites chez les individus affectés par les pesticides par rapport à leur comportement normal qui constitue la première barrière ou mécanisme de détoxification pour eux (**Gómez et al., 2017**).

Depuis la mise en évidence de mécanismes comportementaux dans la résistance aux insecticides, en 1956 (**Lockwood et al., 1984**). Il est important d'étudier les schémas comportementaux des insectes afin d'élucider le mode d'action des insecticides nouveaux et conventionnels, et leur réponse dans l'environnement en minimisant leur contact avec la matière toxique (**VonKeyserlingk et al., 1985**).

Le comportement est l'action des individus en réponse à leurs environnements interne et externe est un phénotype très complexe. Cette variation phénotypique permet aux individus d'adapter leurs réponses comportementales face à un environnement variable et incertain (**Philippe, 2015**). La résistance comportementale aux insecticides, a souvent été démontré (**Lockwood, 1984 ; Sparks et al., 1989**), elle a été décrite chez les diptères affectés par les organochlorés, les organophosphates, les carbamates et les piréthroïdes (**Rolff et Reynolds, 2009**).

L'étude de comportement sexuel des adultes issus du traitements des extraits aqueux et éthanoliques de *C.colocynthis* a montré qu'il y a des perturbations dans le déroulement de la parade sexuelle et d'accouplement chez les premières générations, ce phénomène disparaît chez les générations avancées qui présentent des adaptations aux traitements utilisés. De nombreuses études ont montré que le succès de l'accouplement peut être influencé par de nombreux facteurs, notamment les caractéristiques morphologiques (taille, forme et symétrie de certains traits) (**Markow&Ricker, 1992 ; Vishalakshi, 2011 ; Menezes et al., 2013 ; Pavković-Lučić&Kekić, 2013 ; Snook et al, 2013 ; Trajković et al., 2013**), l'aptitude physiologique et les modèles comportementaux. L'enrichissement de l'environnement peut également améliorer

leur succès d'accouplement (**Dukas et Mooers, 2003**). En outre, l'expérience d'accouplement antérieure, l'expérience sociale avec d'autres mouches, ainsi que le rôle adaptatif de l'apprentissage dans le contexte de la sélection sexuelle, ont fait l'objet de nombreuses recherches (**Mehren et al., 2004 ; Dukas, 2005 ; Polejack et Tidon, 2007 ; Ellis et Carney, 2010**). La combinaison des actions comportementales et physiologiques des pesticides botaniques empêche le développement de la résistance (**Rice, 1993**). Les connaissances sur le mode d'action des insecticides disponibles aideront à déterminer les propriétés de nouveaux composés qui peuvent être idéalement adaptés pour modifier le comportement des insectes à des doses qui peuvent être utilisées de manière sûre et économique en agriculture (**Haynes, 1988**).

L'accumulation de *Bt* dans l'environnement, soulève la question rarement abordée des effets secondaires potentiels d'une exposition chronique (une dose d'exposition continue et croissante pendant une période prolongée) d'espèces non ciblées à des doses étonnamment supérieures à celles qui sont recommandées. Les diptères sont des insectes répartis dans le monde entier, dont la plupart ne sont pas des cibles des formulations commerciales de *Btk* peu de recherches ont été effectuées dans ce domaine. L'approche expérimentale d'une telle résistance chez les diptères n'est pas trop étudiée. Les preuves de la résistance comportementale aux toxines *Bt* ont été étudiées chez un certain nombre de lépidoptères (**Zalucki et Furlong 2017**).

L'évaluation de la résistance sur 24 générations de *D. melanogaster* nous a permis de mettre en évidence les effets secondaires chroniques des formulations commerciales de *Btk* sur les adultes. Il a été observé que les comportements sexuels étaient fortement perturbés, mais ces perturbations ont disparu chez les générations les plus avancées. Les études de comportement sexuel des dernières générations ont montré les mêmes résultats que les témoins. L'exposition à la formulation de *Btk* tout au long du développement a probablement sélectionné des individus résistants et/ou tolérants, (**Babin et al., 2020**).

L'utilisation excessive des biopesticides peut causer des effets secondaires chroniques sur les espèces non ciblées, comme observé chez *D. melanogaster*. Cependant, ces effets ont tendance à disparaître chez les générations les plus avancées, probablement en raison de la sélection d'individus résistants ou tolérants. Il est donc important de surveiller l'utilisation de ces produits et de prendre des mesures pour minimiser les effets secondaires potentiels.

## 5. Conclusion :

Au cours de cette thèse, nous avons pu mettre en évidence les effets directs et différés de *Citrullus colocynthis* sur un organisme modèle *Drosophila melanogaster*. Nous avons observé des taux de mortalité significatifs lors de l'utilisation d'extraits aqueux et éthanoliques de *C. colocynthis*. De plus, les concentrations sublétales de *C. colocynthis* ont eu des effets sur l'olfaction et le comportement alimentaire des larves, ainsi que des perturbations du comportement sexuel des adultes.

D'autre part nous avons évalué les effets toxiques du *Btk* contre *D.melanogaster* en tant que une espèce non cible. Les résultats des tests toxicologiques ont révélé que *Btk* peut provoquer des taux de mortalité appréciable contre les larves de *D.melanogaster*. L'étude des effets sublétaux montrent que *Btk* a des répercussions sur l'olfaction et comportement alimentaires des larves ainsi que il a diminué significativement le taux de réussite des accouplements.

En outre, nous avons évalué le phénomène de la résistance sur 24 générations, avec trois concentrations différentes pour chaque type d'extraits testés. Quelle que soit l'intensité de la concentration utilisée, cela n'a pas empêché les individus de drosophile de développer une résistance. L'étude du comportement sexuel des adultes issus des différents traitements appliqués a montré que les adultes testés présentent des adaptations aux traitements en fonction de l'évolution des générations. Ce qui nous a permis de sélectionner différentes souches résistantes. Il est possible que cette résistance soit le résultat d'une adaptation génétique au fil des générations, mais des recherches supplémentaires seraient nécessaires pour le confirmer.

Enfin, cette étude pourrait également être développée pour explorer d'autres aspects tels que :

- L'analyse de la composition chimique des extraits de *C. colocynthis* pour identifier les composants responsables des effets observés.
- L'étude des mécanismes moléculaires impliqués dans la résistance au *C. colocynthis*, cela pourrait inclure l'analyse des gènes impliqués dans la résistance et la régulation de ces gènes chez *D. melanogaster*.
- L'étude de l'effet de *C. colocynthis* dans la nature, pour évaluer si cette plante peut avoir des conséquences écologiques réelles
- L'étude des mécanismes d'action de *Btk* sur les gènes et les protéines impliqués des effets observés.

**6. Référence :**

- Abedi, Z., Saber, M., Vojoudi, S., Mahdavi, V., Parsaeyan, E., & Ottea, J. (2014). Acute, sublethal, and combination effects of azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* on the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *Journal of Insect Science*, 14(1).
- Aceves-Piña, E. O., & Quinn, W. G. (1979). Learning in normal and mutant *Drosophila* larvae. *Science*, 206(4414), 93-96.
- Ahmed, M., Peiwen, Q., Gu, Z., Liu, Y., Sikandar, A., Hussain, D., ... & Ji, M. (2020). Insecticidal activity and biochemical composition of *Citrullus colocynthis*, *Cannabis indica* and *Artemisia argyi* extracts against cabbage aphid (*Brevicoryne brassicae* L.). *Scientific reports*, 10(1), 1-10.
- Akhtar Y, Isman MB. Plant natural products for pest management: the magic of mixtures. In: Ishaaya I, et al., editors. *Advanced technologies for managing insect pests*. Springer Science and Business Media Dordrecht; 2012. p. 231-47.
- Alanazi Naimah Asid, Insecticidal Activity of Diverse Extracts of the *Citrullus colocynthis* (L.) Against the Blue Green Aphid *Acyrtosiphon Kondoi* Shinji. *JKAU: Met., Env. & Arid Land Agric. Sci.*, Vol. 28 No. 2, pp: 55 - 61 (1440 A.H. / 2019 A.D.).
- Ali Agha, M. (2016). *Physiologie des récepteurs gustatifs chez la mouche de vinaigre (Drosophila melanogaster)* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay (ComUE)).
- Al-Momani F, Obeidat M, Saadoun I, Meqdam M (2004). Serotyping of *Bacillus thuringiensis* isolates, their distribution in different Jordanian habitats and pathogenicity in *Drosophila melanogaster*. *W. J. Microbiol. Biotechnol.*, 20: 749-753.
- AMER, A. and MEHLHORN, H., 2006. Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles* and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). *Parasitology Research*, vol. 99, no. 4, pp. 466-472.
- Asiry, K. A. (2015). Aphidicidal activity of different aqueous extracts of bitter apple *Citrullus colocynthis* (L.) against the bird cherry-oat aphid, *Rhopalosiphum padi* (L.) (Homoptera: Aphididae) under laboratory conditions. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 25(2).
- Aurélie Babin, Séverine Lemauf, Christian Rebuf, Marylène Poirié, and Jean-Luc Gatti. 2022 .Effects of *Bacillus thuringiensis* kurstaki bioinsecticide on two non-target *Drosophila* larval endoparasitoid wasps. *Entomologia Generalis*, Vol. 42 (2022), Issue 4, 611–620.

- Babin, A., Nawrot-Esposito, M. P., Gallet, A., Gatti, J. L., & Poirié, M. (2020). Differential side-effects of *Bacillus thuringiensis* bioinsecticide on non-target *Drosophila* flies. *Scientific reports*, 10(1), 1-16.
- Bainbridge, S. P. and M. Bownes. 1981. Staging the metamorphosis of *Drosophila melanogaster*. *J. Embryol. Exp. Morph.* 66: 57–80. This well-illustrated paper gives detailed descriptions of each stage of metamorphosis.
- Bakker TCM. 1999. The study of intersexual selection using quantitative genetics. *Behaviour*. 136:1237–1265.
- Baldet, T., Darriet, F., David, J. M., Dusfour, I., Franc, M., Izri, A., & Lagneau, C. (2014). Utilisation des insecticides et gestion de la résistance. Centre national d'Expertise sur les Vecteurs., Rennes.
- Barale, R. (1991). The genetic toxicology of styrene and styrene oxide. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 257(2), 107-126.
- Baskar, K., Ignacimuthu, S. And Jayakumar, M., 2015. Toxic effects of *Couroupita guianensis* against *Spodoptera litura* (Fab.) (Lepidoptera: noctuidae). *Neotropical Entomology*, vol. 44, no. 1, pp. 84-91. <http://dx.doi.org/10.1007/s13744-014-0260-7>. PMID:26013016.
- Bastock, M., & Manning, A. (1955). The courtship of *Drosophila melanogaster*. *Behaviour*, 8(1), 85-110.
- Battesti M., Moreno C., Joly D., et Mery F. 2012. « Spread of Social Information and Dynamics of Social Transmission within *Drosophila* Groups ». *Current Biology* 22 (4): 309-13.
- Ben-Dov, E., Zaritsky, A., Dahan, E., Barak, Z. E., Sinai, R., Manasherob, R., ... & Margalith, Y. (1997). Extended screening by PCR for seven cry-group genes from field-collected strains of *Bacillus thuringiensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(12), 4883-4890.
- Berliner, E. (1915). Über die Schlafsucht der Mehlmotenraupe (*Ephestia kühniella* Zell.) und ihren Erreger *Bacillus*. *Journal of Applied Entomology*, 29.
- Bielza, P . (2008). Insecticide resistance management strategies against the western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Pest Management Science* 64: 1131-1138
- Billeter, J. C., Rideout, E. J., Dornan, A. J., & Goodwin, S. F. (2006). Control of male sexual behavior in *Drosophila* by the sex determination pathway. *Current biology*, 16(17), R766-R776.

- Biondi, A., Desneux, N., Siscaro, G., & Zappalà, L. (2012). Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere*, 87(7), 803-812.
- Bisset, J., Rodriguez, M., Soca, A., Pasteur, N., & Raymond, M. (1997). Cross-resistance to pyrethroid and organophosphorus insecticides in the southern house mosquito (Diptera: Culicidae) from Cuba. *Journal of medical entomology*, 34(2), 244-246.
- Bontonou, G., & Wicker-Thomas, C. (2014). Sexual communication in the *Drosophila* genus. *Insects*, 5(2), 439-458.
- Borrero-Echeverry, F., Solum, M., Trona, F., Becher, P. G., Wallin, E. A., Bengtsson, M., Witzgall, P. and Lebreton, S. 2022, *Journal of insect physiology*, 137, 104355.
- Bouhouche, A. (1992). Etude des mutants neurologiques minibrain [exposant] 3 et no-bridge [exposant] KS49: exemples de relations entre gènes, anomalies nerveuses, comportement et apprentissage chez *Drosophila melanogaster* (Doctoral dissertation, Toulouse 3).
- Boyle, N., Skvarla, M., McNeil, D. J., & Reagle, N. (2021). *Introduction to Insects*.
- Broderick NA, Robinson CJ, McMahon MD, et al. Contribution of gut bacteria to *Bacillus thuringiensis*-induced mortality vary across a range of Lepidoptera. *BMC Biol.* 2009;7:11.
- Brodeur, J., & Caron, J. (2006). Recherche et développement de biopesticides et pesticides naturels à faible toxicité pour les organismes non ciblés et respectueux de l'environnement–Rapport final–Volet Entomologie.
- Brusick, D., Albertini, R., McRee, D., Peterson, D., Williams, G., Hanawalt, P., & Preston, J. (1998). Genotoxicity of radiofrequency radiation. *Environmental and molecular mutagenesis*, 32(1), 1-16.
- Bulla, L. A., Bechtel, D. B., Kramer, K. J., Shethna, Y. I., Aronson, A. I., Fitz-James, P. C., 1980. Ultrastructure, physiology, and biochemistry of *Bacillus Thuringiensis*. *CRC Critical Reviews in Microbiology*. 8, 147-204.
- Burgerjon, A., and H. de Barjac. 1967. Another serotype (4:4a,4c) of *Bacillus thuringiensis* that produces thermostable toxin. *J. Invertebr. Pathol.* 9: 574–577.
- Cameron, R., Lang, E. B., Annan, I. B., Portillo, H. E., & Alvarez, J. M. (2013). Use of fluorescence, a novel technique to determine reduction in *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) nymph feeding when exposed to *Benevia* and other insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 106(2), 597-603.

- Candas M, Bulla LA. Microbial insecticides. In: Bitton G, ed Encyclopedia of Environmental Microbiology NY: John Wiley and Sons 2002; 1709-17.
- Carlberg, G., and R. Lindstrom. 1986. Testing fly resistance to thuringiensin produced By *Bacillus thuringiensis*, serotype H-1. *J. Invertebr. Pathol.* 49: 194–197.
- Casida, J. E., & Quistad, G. B. (1998). Golden age of insecticide research: past, present, or future?. *Annual review of entomology*, 43, 1.
- Chareonviriyaphap, T., Bangs, M. J., Suwonkerd, W., Kongmee, M., Corbel, V., & Ngoen-Klan, R. (2013). Review of insecticide resistance and behavioral avoidance of vectors of human diseases in Thailand. *Parasites & vectors*, 6(1), 1-28.
- Choudhury, M.A.R., Mondal, M.F., Khan, A.U., Hossain, M.S., Azad, M.O.K., Prodhon, M.D.H., Uddain, J., Rahman, M.S., Ahmed, N., Choi, K.Y. And Naznin, M.T., 2021. Evaluation of biological approaches for controlling shoot and fruit borer (*Earias vitella* F.) of okra grown in peri-urban area in Bangladesh. *Horticultrae*, vol. 7, no. 1, pp. 7.
- Clémence, R., Dongmo, M. (2009) : linique et pharmacologie Evaluation de l'activité antidermatophytique des extraits au méthanol et fraction d'*Acalyphaman niana*(Euphorbiacées) et *tristem mahirtum* (Mélastomatacées). Université de Dschang-Master en Biochimie.p34.
- Cline, T. W., & Meyer, B. J. (1996). Vive la difference: males vs females in flies vs worms. *Annual review of genetics*, 30(1), 637-702.
- Cobb, M., Bruneau, S., & Jallon, J. M. (1992). Genetic and developmental factors in the olfactory response of *Drosophila melanogaster* larvae to alcohols. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 248(1322), 103-109.
- Colomb, J., Grillenzoni, N., Ramaekers, A., & Stocker, R. F. (2007). Architecture of the primary taste center of *Drosophila melanogaster* larvae. *Journal of Comparative Neurology*, 502(5), 834-847.
- Colombi, P. (2021). Modulation de la prise de nourriture par des molécules amères chez *Drosophila melanogaster* (Doctoral dissertation, Université Paris-Saclay).
- Connolly, K., and Cook, K. (1973). Rejection responses by female *Drosophila melanogaster*: Their ontogeny, causality and effects upon behaviour of the courting males. *Behaviour* 44:122-146.
- Cordeiro, E. M. G., De Moura, I. L. T., Fadini, M. A. M., & Guedes, R. N. C. (2013). Beyond selectivity: are behavioral avoidance and hormesis likely causes of pyrethroid-

induced outbreaks of the southern red mite *Oligonychus ilicis*?. *Chemosphere*, 93(6), 1111-1116

- Cummings, A., & Kavlock, R. (2005). A systems biology approach to developmental toxicology. *Reproductive Toxicology*, 19(3), 281-290
- Daquila, B. V., Moi, D. A., Scudeler, E. L., dos Santos Oliveira, J. A., Polanczyk, R. A., & Conte, H. (2022). Selectivity of *Bacillus thuringiensis* (Bacillales: Bacillaceae) to the polyphagous predator *Ceraeochrysa claveri* (Navás, 1911)(Neuroptera: Chrysopidae).
- Darwish-Sayed, M., Balbaa, S.I., Afifi, M.S.A. (1974): The glycosidal content of the different organs of *Citrullus colocynthis*. *Planta Medica*, 26: 293-298. 35.
- David JR, Capy P. 1988. Genetic variation of *Drosophila melanogaster* natural populations. *Trends in Genetics* 4: 106–111.
- De Barjac, H., & Bonnefoi, A. (1968). A classification of strains of *Bacillus thuringiensis* Berliner with a key to their differentiation. *Journal of Invertebrate Pathology*, 11(3), 335-347.
- Dean, B. J. (1985). Recent findings on the genetic toxicology of benzene, toluene, xylenes and phenols. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 154(3), 153-181.
- Delazar, A., Gibbons, S., Kosari, A. R., Nazemiyeh, H., Modarresi, M., Nahar, L. U. T. F. U. N., & Sarker, S. D. (2006). Flavone C-glycosides and cucurbitacin glycosides from *Citrullus colocynthis*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(3), 109-114.
- Delvare, G., & Aberlenc, H. P. (1989). *Les insectes d'Afrique et d'Amérique tropicale: clés pour la reconnaissance des familles*. Editions Quae.
- Denecke, S. (2017). Probing Insecticide Biology Using *Drosophila melanogaster*.
- Denholm, I., G. J. Devine, and M. S. Williamson. 2002. Insecticide resistance on the move. *Science*. 297: 2222–2223.
- Desneux, N., Decourtye, A., & Delpuech, J. M. (2007). The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annual review of entomology*, 52(1), 81-106.
- Després, L., David, J.-P., and Gallet, C. (2007). The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals. *Trends Ecol. Evol.* 22, 298–307.
- Dhurua S, Gujar GT. 2011 Field-evolved resistance to Bt toxin Cry1Ac in the pink bollworm, *Pectinophora gossypiella* (Saunders) (Lepidoptera: Gelechiidae), from India. *Pest Manag. Sci.* 67, 898–903. (doi:10.1002/ps.2127).
- Dickson, B. J. (2008). Wired for sex: the neurobiology of *Drosophila* mating decisions. *Science*, 322(5903), 904-909.



- Dukas R, Mooers AØ. 2003. Environmental enrichment improves mating success in fruit flies. *Anim. Behav.*, 66: 741-749.
- Dukas R. 2005. Experience improves courtship in male fruit flies. *Anim. Behav.*, 69: 1203-1209.
- Duke J.A., 1978. The quest for tolerant germplasm. In: ASA Special Symposium 32, Crop tolerance to suboptimal land conditions. Am. Soc. Agron. Madison; WI: 1-61.
- Eastwood, L., & Burnet, B. (1977). Courtship latency in male *Drosophila melanogaster*. *Behavior genetics*, 7(5), 359-372.
- Elens, A., and J. M. Wattiaux, 1964 Direct observation of sexual isolation. *Drosophila Inform. Serv.* 39: 118-119.
- Ellis LL, Carney GE. 2010. Mating alters gene expression patterns in *Drosophila melanogaster* male heads. *BMC Genomics*, 11: 558.
- Everaerts C, Farine J-P, Cobb M, Ferveur J-F. 2010. *Drosophila* cuticular hydrocarbons revisited: mating status alters cuticular profiles.
- Ferré, J., & Van Rie, J. (2002). Biochemistry and genetics of insect resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Annual review of entomology*, 47(1), 501-533.
- Feyereisen R. Insect P450 Enzymes. *Annu. Rev. Entomol.* 44 (1999) 507-533.
- Ffrench-Constant, R.H., Aronstein, K., and Roush, R.T. 1992. Use of P-element mediated germline transformation to study the effect of gene dosage in insecticide-resistant *Drosophila melanogaster* (Meigen). *Pestic. Biochem. Physiol.* 43: 78-84
- Fishel, F. M. (2010). Pest management and pesticides: a historical perspective. *EDIS*, 2010(1).
- Fishilevich, E., Domingos, A.I., Asahina, K., Naef, F., Vosshall, L.B., and Louis, M. (2005). Chemotaxis behavior mediated by single larval olfactory neurons in *Drosophila*. *Curr Biol* 15, 2086–2096.
- Flatt, T. (2020). Life-history evolution and the genetics of fitness components in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 214(1), 3-48.
- Fogleman, J. C., Starmer, W. T. and Heed, W. B. (1981). Larval selectivity for yeast species by *Drosophila mojavensis* in natural substrates. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 78, 4435–4439.
- Fougeron, .AS.(2011) -Réponses comportementales et préférences envers les acides gras à longue chaîne chez *Drosophila melanogaster*. These de doctorat en UFR Sciences de la Vie, de la Terre et de l'Environnement.

- Gassmann, A.J., Petzold-Maxwell, J.L., Keweshan, R.S., and Dunbar, M.W. (2011) Field-evolved resistance to Bt maize by western corn rootworm. *PLoS ONE* 6: e22629.
- Gendre, N., Lüer, K., Friche, S., Grillenzoni, N., Ramaekers, A., Technau, G.M., and Stocker, R.F. (2004). Integration of complex larval chemosensory organs into the adult nervous system of *Drosophila*. *Development* 131, 83–92.
- Georges, K., Jayaprakasam, B., Dalavoy, S. S., & Nair, M. G. (2008). Pest-managing activities of plant extracts and anthraquinones from *Cassia nigricans* from Burkina Faso. *Bioresource technology*, 99(6), 2037-2045.
- Gershow M, Berck M, Mathew D, Luo L, Kane EA, Carlson JR, Samuel AD. 2012. Controlling airborne cues to study small animal navigation. *Nat Methods*. 9:290–296.
- Gibert, J. P., Dell, A. I., DeLong, J. P. and Pawar, S. (2015). Chapter One - Scaling-up Trait Variation from Individuals to Ecosystems. In *Advances in Ecological Research*, pp. 1–17. Academic Press.
- Gill, S. S., Cowles, E. A., & Pietrantonio, P. V. (1992). The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Annual review of entomology*, 37(1), 615-634.
- Glendinning, J. I., Brown, H., Capoor, M., Davis, A., Gbedemah, A., & Long, E. (2001). A peripheral mechanism for behavioral adaptation to specific “bitter” taste stimuli in an insect. *Journal of Neuroscience*, 21(10), 3688-3696.
- Gómez-Guzmán, J. A., García-Marín, F. J., Sáinz-Pérez, M., & González-Ruiz, R. (2017, December). Behavioural resistance in insects: its potential use as bio indicator of organic agriculture. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 95, No. 4, p. 042038). IOP Publishing.
- Gontijo, P. C., Moscardini, V. F., Michaud, J. P., & Carvalho, G. A. (2014). Non-target effects of chlorantraniliprole and thiamethoxam on *Chrysoperla carnea* when employed as sunflower seed treatments. *Journal of Pest Science*, 87(4), 711-719.
- Grainge, M., & Ahmed, S. (1988). *Handbook of plants with pest-control properties*. John Wiley & Sons Limited.
- Greenspan, RJ, Ferveur J-F. 2000. Courtship in *Drosophila*. *Ann. Rev. Genet.*, 34: 205-232.
- Guedes, R. N. C., Smagghe, G., Stark, J. D., & Desneux, N. (2016). Pesticide-induced stress in arthropod pests for optimized integrated pest management programs.

- Gulzar, A., & Wright, D. J. (2015). Sub-lethal effects of Vip3A toxin on survival, development and fecundity of *Heliothis virescens* and *Plutella xylostella*. *Ecotoxicology*, 24(9), 1815-1822.
- Gulzar, A., Maqsood, A., Munir, A., Tariq, M., Ali, M., & Qureshi, R. (2017). Toxicity, antifeedant and sub-lethal effects of *Citrullus colocynthis* extracts on cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pakistan Journal of Zoology*, 49(6).
- Guo, L., Desneux, N., Sonoda, S., Liang, P., Han, P., & Gao, X. W. (2013). Sublethal and transgenerational effects of chlorantraniliprole on biological traits of the diamondback moth, *Plutella xylostella* L. *Crop Protection*, 48, 29-34.
- Hadjeb, A. (2017). Étude bioécologique et répartition spatio-temporelle de la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller., 1839 (Lepidoptera, Pyralidae) dans des oasis de la wilaya de Biskra. Étude du comportement alimentaire et essai de lutte (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider-Biskra).
- Hall Jeffrey C. 1994. The Mating of a Fly. *SCIENCE* , VOL. 264 .
- Hamilton AJ, Basset Y, Benke KK, Grimbacher PS, Miller SE, Novotny V, Samuelson GA, Stork NE, Weiblen GD & Yen JDL (2010) Quantifying uncertainty in estimation of tropical arthropod species richness. *The American Naturalist* 176: 90-95.
- Hashmi, R. A. (1994). *Insect Pest Management, cereal and cash crops*. Pak. Agric. Res. Council, Islamabad, 317.
- Hassam, U. A., Gulzar, A., Rasool, B., Zafar, S., Younis, T., Shakeel, M., ... & Hafeez, M. (2022). Efficacy of *Citrullus colocynthis* seed extract on *Earias vittella*, Fabricius,(Lepidoptera: Noctuidae): environment sustainable approach. *Brazilian Journal of Biology*, 84.
- Haubruge, É., & Amichot, M. (1998). Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *BASE*.
- Haynes, K. F. (1988). Sublethal effects of neurotoxic insecticides on insect behavior. *Annual review of entomology*, 33(1), 149-168.
- Heckel, D. G. (2012). Learning the ABCs of Bt: ABC transporters and insect resistance to *Bacillus thuringiensis* provide clues to a crucial step in toxin mode of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104(2), 103-110.
- Heimbeck, G., Bugnon, V., Gendre, N., Häberlin, C., & Stocker, R. F. (1999). Smell and taste perception in *Drosophila melanogaster* Larva: toxin expression studies in chemosensory neurons. *Journal of Neuroscience*, 19(15), 6599-6609.

- Hellou, J. (2011). Behavioural ecotoxicology, an “early warning” signal to assess environmental quality. *Environmental Science and Pollution Research*, 18(1), 1-11.
- Henry, M., Beguin, M., Requier, F., Rollin O., et al., 2012. A common pesticide decreases foraging success and survival in honey bees: questioning the ecological relevance. *Science* 336, 348–350.
- Huang, F., Buschman, L. L., Higgins, R. A., & Li, H. (2002). Survival of Kansas Dipel-resistant European corn borer (Lepidoptera: Crambidae) on Bt and non-Bt corn hybrids. *Journal of Economic Entomology*, 95(3), 614-621.
- Hubhachen, Z., Pointon, H., Perkins, J. A., Van Timmeren, S., Pittendrigh, B., & Isaacs, R. (2022). Resistance to multiple insecticide classes in the vinegar fly *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) in Michigan vineyards. *Journal of Economic Entomology*, 115(6), 2020-2028.
- Hutt, T. F., & Herrington, M. E. (1985). The determination of bitter principles in zucchinis. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 36(11), 1107-1112.
- IBM SPSS Statistics for Windows, Version 23.0; IBM Corp.: Armonk, NY, USA, 2015.
- Ishiwata, S. (1901). On a kind of severe flacherie (sotto disease). *Dainihon Sanshi Kaiho*, 114, 1-5.
- Isman, M. B. (1997). Neem and other botanical insecticides: barriers to commercialization. *Phytoparasitica*, 25(4), 339-344.
- Jacobson, M. (1983, September). Insecticides, insect repellants, and attractants from arid/semiarid-land plants. In *Plants: The Potential for Extracting Protein, Medicines, and other Useful Chemicals Workshop Proceedings*, Congress, Office of Technology Assessment, Washington, DC, OTA-BP-F-23 September (pp. 138-146).
- Jallon, J.-M. & David, J. R. 1987. Variations in cuticular hydro- carbons among the eight species of the *Drosophila melanogaster* subgroup. *Evolution*, 41, 294–302.
- Jayaraman, R., Shivakumar, A., Anitha, T., Joshi, V.D., Palei, N.N. (2009): Antidiabetic effect of petroleum ether extract of *Citrullus colocynthis* fruits against streptozotocin-induced hyperglycemic rats. *ROM. J. Biol. Plant. Biol.*, 54(2): 127-134.
- Jurat-Fuentes, J. L., Heckel, D. G., & Ferré, J. (2021). Mechanisms of resistance to insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*. *Annu. Rev. Entomol*, 66, 121-140.
- Kaiser, M., & Cobb, M. (2008). The behaviour of *Drosophila melanogaster* maggots is affected by social, physiological and temporal factors. *Animal Behaviour*, 75(5), 1619-1628.

- Kaushik, S., Kumar, R., & Kain, P. (2018). Salt an essential nutrient: Advances in understanding salt taste detection using drosophila as a model system. *Journal of experimental neuroscience*, 12, 1179069518806894.
- Keller Andreas, 2007. *Drosophila melanogaster's* history as a human commensal, *Current Biology* Vol 17 No 3.
- Khyami-Horani, H. 2002. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* and *B. sphaericus* to laboratory populations of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Journal Basic Microbiology*,42(2): 105-110.
- Kreher SA, Kwon AY, Carlson JR (2005). The molecular basis of odor coding in the *Drosophila* larva. *Neuron* 46:445–456
- Kruger, M.J., van Rensburg, J.B.J. & van den Berg, J. Perspective on the development of stem borer resistance to Bt maize and refuge compliance at the vaalharts irrigation scheme in South Africa. *Crop Prot.* 28, 684–689 (2009).
- Krupp, J. J., Kent, C., Billeter, J.-C., Azanchi, R., So, A. K.-C., Schonfeld, J. A., Smith, B. P., Lucas, C., & Levine, J. D. (2008). Social experience modifies pheromone expression and mating behavior in male *Drosophila melanogaster*. *Current Biology*, 18, 1373–1383.
- Kumar, A. S., M. Moorthi, N. Ramakrishnan, P. Dhanapakiam, V. K. Ramasamy, and A. R. Rajeswari. 2009. Efficacy of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* in the control of two mosquito species (*Anopheles stephensi* and *Culex quinquefasciatus*). *J. Environ. Biol.* 30: 433–435.
- Lacey, L. A., D. Grzywacz, D. I. Shapiro-Ilan, R. Frutos, M. Brownbridge, and M. S. Goettel. 2015. Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *Journal of Invertebrate Pathology.* 132: 1–41.
- Lambert, B., & Peferoen, M. (1992). Insecticidal promise of *Bacillus thuringiensis*. Facts and mysteries about a successful biopesticide. *BioScience*, 42, 112–122
- Larsson MC, Domingos AI, Jones WD, Chiappe ME, Amrein H, Vosshall LB (2004) Or83b encodes a broadly expressed odorant receptor essential for *Drosophila* olfaction. *Neuron* 43:703–714.
- Lasbleiz C, Ferveur JF, Everaert C. 2006. Courtship behavior of *Drosophila melanogaster* revisited. *Anim Behav* 72: 1001–1012.
- Leber, M. (2019). Intoxications par les Cucurbitaceae (notamment *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad.). *Prise en charge à l'officine*.

- Levinson, B. L., K. J. Kasyan, et al. (1990). "Identification of beta-exotoxin production, plasmids encoding beta-exotoxin, and a new exotoxin in *Bacillus thuringiensis* by using high-performance liquid chromatography." *Journal of Bacteriology* 172(6): 3172-3179.
- Li, X. (2016). Synthesis of new dicinnamoyl quinic acid derivatives and analogs and the evaluation of their potential as biopesticides (Doctoral dissertation, Université de Lyon).
- Liu, N., & Yue, X. (2000). Insecticide resistance and cross-resistance in the house fly (Diptera: Muscidae). *Journal of economic entomology*, 93(4), 1269-1275.
- Lockwood, J. A., Sparks, T. C., & Story, R. N. (1984). Evolution of insect resistance to insecticides: a reevaluation of the roles of physiology and behavior. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 30(4), 41-51.
- Louat, F. (2013). Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophila melanogaster* (Doctoral dissertation, Université d'Orléans).
- Loudhaief, R. (2016). Effets des bioinsecticides à base de *Bacillus thuringiensis* sur la physiologie intestinale de la Drosophile (Doctoral dissertation, Université Côte d'Azur (ComUE)).
- Mann, J. (1978). *Secondary Metabolism: Oxford Chemistry Series*.
- Manning, A. (1959). The sexual isolation between *Drosophila melanogaster* and *Drosophila simulans*. *Animal Behaviour*, 7(1-2), 60-65.
- Marec, F., V. Mat'ha, and J. Wisser. 1989. Analysis of the genotoxic activity of *Bacillus thuringiensis* b-exotoxin by means of the *Drosophila* wing spot test. *J. Invertebr. Pathol.* 53: 347–353.
- Markow TA, Ricker JP. 1992. Male size, developmental stability, and mating success in natural populations of three *Drosophila* species. *Heredity*, 69: 122-127.
- Markow, T.A. & Hanson, S.J. 1981. Multivariate analysis of *Drosophila* courtship. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 78: 430–434.
- Mazzone, Esteban O., Claude Desplan, and Justin Blau. 2005. "Circadian Pacemaker Neurons Transmit and Modulate Visual Information to Control a Rapid Behavioral Response." *Neuron* 45(2): 293–300.
- McCart, C. (2006). Insecticide resistance in *Drosophila melanogaster* and *Ctenocephalides felis*. University of Bath (United Kingdom).
- McMillion, B. K. (2011). MOLECULAR CHARACTERIZATION OF AN ALTERED MATING BEHAVIOR IN *DROSOPHILA MELANOGASTER* VESTIGIAL MUTANTS (Doctoral dissertation, Appalachian State University).

- Mehren JE, Ejima A, Griffith LC. 2004. Unconventional sex: fresh approaches to courtship learning. *Curr. Opin. Neurobiol.*, 14: 745-750.
- Meigen J.W., 1830. Systematische Beschreibung der bekannten europäischen zweiflügeligen  
  - Insekten. 6. Hamm. pp. IV+1 - 401.
- Men, T. T., Phien, H. H., Ai, T. T. T., Van Ay, N., Hue, N. T. K., & Binh, T. D. (2022). The insecticidal capacity of ethanol extract from *Cascabela peruviana* (L.) Lippold against fruit fly. *Heliyon*, 8(4), e09313.
- Mendoza-Almanza, G., Esparza-Ibarra, E. L., Ayala-Luján, J. L., Mercado-Reyes, M., Godina-González, S., Hernández-Barrales, M., & Olmos-Soto, J. (2020). The cytotoxic spectrum of *Bacillus thuringiensis* toxins: from insects to human cancer cells. *Toxins*, 12(5), 301.
- Menezes BF, Vigodor FM, Peixoto AA, Varaldi J, Bitner-Mathè BC. 2013. The influence of male wing shape on mating success in *Drosophila melanogaster*. *Anim. Behav.*, 85: 1217-1223.
- Merabti, B., Lebouz, I., Adamou, A., & Ouakid, M. L. (2015). Effet toxique de l'extrait aqueux des fruits de *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad sur les larves des Culicidae. *Revue des Bio Ressources*, 5(2), 120-130.
- Merrell, D.J., 1960. Heterosis in Ddt Resistant and Susceptible Populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 45, 573–581.
- Merrell, D.J., Underhill, U.C., 1956. Selection for DDT resistance in inbred, laboratory and wild stocks of *Drosophila melanogaster*. *J. Econ. Entomol.* 49 (3), 300–306.
- Mertz, R. W., S. Hesler, L. J. Pfannenstiel, R. H. Norris, G. Loeb, and J. G. Scott. 2021. Insecticide resistance in *Drosophila melanogaster* in vineyards and evaluation of alternative insecticides. *Pest Manag. Sci.*
- Meunier, N., F. Marion-Poll, J. P. Rospars and T. Tanimura (2003). "Peripheral coding of bitter taste in *Drosophila*." *Journal of Neurobiology* 56(2): 139-152.
- Min, K.-J., Flatt, T., Kulaots, I. and Tatar, M. (2007). Counting calories in *Drosophila* diet restriction. *Experimental Gerontology* 42, 247–251.
- Miresmailli, S., & Isman, M. B. (2014). Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. *Trends in plant science*, 19(1), 29-35.
- Mitchell, E. A. D., Mulhauser, B., Mulot, M., Mutabazi, A., Glauser, G., & Aebi, A. (2017). A worldwide survey of neonicotinoids in honey. *Science*, 358(6359), 109–111.

- Miyata, T., Saito, T., Noppun, V., 1986. Studied on the mechanism of diamondback moth resistance to insecticide. In: Talekar, N.S., Griggs, T.D. (Eds.), *Diamondback Moth Management*. Asian Vegetable Research and Development Centre, Shanhua, Taiwan, pp. 347e357.
- Mollashahi M, Ganjali H and Fanaei H. 2013. Effect of different levels of nitrogen and potassium on yield, yield components and oil content of sunflower, *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2(S): 1237-1240.
- Mollashahi, H., Mirshekari, A., Ghorbani, M., & Tarrah, A. (2017). Insecticidal effect of the fruit extract bitter melon (*Citrullus colocynthis*) on locust *Chrotogonus trachypterus* (Orth: Pyrgomorphidae). *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 14(4), 1285-1289.
- Montell C (2009) A taste of the *Drosophila* gustatory receptors. *Curr Opin Neurobiol* 19:345–353.
- Morais, P. B., Martins, M. B., Klaczko, L. B., Mendonça-Hagler, L. C. and Hagler, A. N. (1995). Yeast succession in the Amazon fruit *Parahancornia amapa* as resource partitioning among *Drosophila* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 61, 4251–4257.
- Moreau, G., & Bauce, É. (2003). Feeding behavior of spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) larvae subjected to multiple exposures of *Bacillus thuringiensis* variety *kurstaki*. *Annals of the Entomological Society of America*, 96(3), 231-236.
- Morton, R.A., 1993. Evolution of *Drosophila* insecticide resistance. *Genome* 36, 1e7.
- MULLAI, K. and JEBANESAN, A., 2007. Larvicidal, ovicidal and repellent activities of the leaf extract of two cucurbitaceous plants against filarial vector *Culex quinquefasciatus* (S.) (Diptera: culicidae). *Tropical Biomedicine*, vol. 24, no. 1, pp. 1-6. PMID:17568371.
- Nakanishi, K., K. Yaoi, N. Shimada, T. Kadotani, and R. Sato. 1999. *Bacillusthuringiensis* insecticidal Cry1Aa toxin binds to a highly conserved region of aminopeptidase N in the host insect leading to its evolutionary success. *Bioch. Bioph. Acta* 1432: 57Ð63.
- Nansen, C., Baissac, O., Nansen, M., Powis, K., & Baker, G. (2016). Behavioral avoidance-will physiological insecticide resistance level of insect strains affect their oviposition and movement responses?. *PloS one*, 11(3), e0149994.
- Nauen, R. (2007). Insecticide resistance in disease vectors of public health importance. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 63(7), 628-633.



- Nawrot-Esposito, M. P., Babin, A., Pasco, M., Poirié, M., Gatti, J. L., & Gallet, A. (2020). *Bacillus thuringiensis* bioinsecticides induce developmental defects in non-target *Drosophila melanogaster* larvae. *Insects*, 11(10), 697.
- Nishihara, S. (2007). 4.05-*Drosophila* development, RNAi, and glycobiology. *Comprehensive Glycoscience* (ed. H. Kamerling), 49-79.
- Nöbel, S., Danchin, E., & Isabel, G. (2018). Mate-copying for a costly variant in *Drosophila melanogaster* females. *Behavioral Ecology*, 29(5), 1150-1156.
- Norris, J. R. (1964). The classification of *Bacillus thuringiensis*. *Journal of Applied Bacteriology*, 27(3), 439-447.
- Odell, S. R., Clark, D., Zito, N., Jain, R., Gong, H., Warnock, K., ... & Mathew, D. (2022). Internal state affects local neuron function in an early sensory processing center to shape olfactory behavior in *Drosophila* larvae. *Scientific Reports*, 12(1), 1-14.
- Organisation mondiale de la Santé. (2017). Procédures pour tester la résistance aux insecticides chez les moustiques vecteurs du paludisme.
- Ouakid, M. L. (2006). Bioécologie de *Lymantria dispar* L. (Lepidoptera, Lymantriidae) dans les subéraies d'El Tarf: comportement alimentaire et essais insecticides (Doctoral dissertation, Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Naturelles, mention Biologie Animale, Département de Biologie, Université d'Annaba).
- Ould Amar, B. (2013) : Investigation des taux de HAP dans les sols avoisinant les centres de Stockage et/ou de distribution des hydrocarbures. Mémoire de fin d'étude en Master II Chimie Université ABB Tlemcen.
- Ozenda, P. (2004). Flore et faune du Sahara. Centre Nati. de Rech. Sci.(CNRS).
- Palma, L., Muñoz, D., Berry, C., Murillo, J., and Caballero, P. (2014). *Bacillus thuringiensis* Toxins: An Overview of Their Biocidal Activity. *Toxins (Basel)*. 6, 3296–3325.
- Panayidou, S., and Apidianakis, Y. (2013). Regenerative Inflammation: Lessons from *Drosophila* Intestinal Epithelium in Health and Disease. *Pathog. (Basel, Switzerland)* 2, 209–231.
- Pardo-López, L., Soberón, M., and Bravo, A. (2013). *Bacillus thuringiensis* insecticidal three- domain Cry toxins: Mode of action, insect resistance and consequences for crop protection. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 3–22.
- Paula, M. T., Zemolin, A. P., Vargas, A. P., Golombieski, R. M., Loreto, E. L. S., Saidelles, A. P., ... & Posser, T. (2014). Effects of Hg (II) exposure on MAPK phosphorylation and antioxidant system in *D. melanogaster*. *Environmental Toxicology*, 29(6), 621-630.

- Paumard-Regal, S., and M. Rosengerg-Bourin. 1990. High temperature of development and selection of *Bacillus thuringiensis*-supernatant-resistant females in a *Drosophila melanogaster* Oregon R strain. *Genetic* 81: 215–228.
- Pavunraj, M., Baskar, K., Paulkumar, K., Janarthanan, S. and RAJENDRAN, P., 2016. Antifeedant activity of crude extracts and fractions isolated from *Catharanthus roseus* leaf against spotted bollworm. *Phytoparasitica*, vol. 44, no. 3, pp. 419-422.
- Pedra, J. H. F.; McIntyre, L. M.; Scharf, M. E.; Pittendrigh, B. R. Genome-wide transcription profile of field- and laboratory- selected dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT)-resistant *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 2004, 101, 7034-7039.
- Percy, J., and P. G. Fast. 1983. *Bacillus thuringiensis* crystal toxin: ultrastructural studies of its effect on silkworm midgut cells. *J. Invertebr. Pathol.* 41: 86–98.
- Perry, T., McKenzie, J.A., and Batterham, P. (2007). A  $D\alpha6D\alpha6$  knockout strain of *Drosophila melanogaster* confers a high level of resistance to spinosad. *Insect Biochem Mol Biol* 37, 184–188.
- Petit, C., Kitagawa, O., & Takamura, T. (1976). Mating system between Japanese and French geographic strains of *Drosophila melanogaster*. *The Japanese Journal of Genetics*, 51(2), 99-108.
- Philippe, A. S. (2015). Etude de la variation génétique et de la plasticité des comportements sociaux chez la drosophile (Doctoral dissertation, Paris 11).
- Pischedda, A., Shahandeh, M. P., Cochrane, W. G., Cochrane, V. A., & Turner, T. L. (2014). Natural variation in the strength and direction of male mating preferences for female pheromones in *Drosophila melanogaster*. *PLoS One*, 9(1), e87509.
- Polejack, A., & Tidon, R. (2007). Learning of courtship components in *Drosophila mercatorum* (Paterson & Wheller)(Diptera, Drosophilidae). *Revista Brasileira de Entomologia*, 51, 82-86.
- Ponsankar, A., Sahayaraj, K., Senthil-Nathan, S., Vasantha-Srinivasan, P., Karthi, S., Thanigaivel, A., ... & Hunter, W. B. (2020). Toxicity and developmental effect of cucurbitacin E from *Citrullus colocynthis* L.(Cucurbitales: Cucurbitaceae) against *Spodoptera litura* Fab. and a non-target earthworm *Eisenia fetida* Savigny. *Environmental Science and Pollution Research*, 27(19), 23390-23401.
- Pravin, B.; Tushar, D.; Vijay, P. and Kishanchnad, K. (2013) Review on *Citrullus colocynthis*. *IJRPC*. 3(1): 46- 53.

- Python, F.O., and Stocker, R.F. (2002). Adult-like complexity of the larval antennal lobe of *D. melanogaster* despite markedly low numbers of odorant receptor neurons. *J Comp Neurol* 445, 374–387.
- Raad, H. (2013). Rôle et fonctionnalité des récepteurs gustatifs dans les ailes de drosophiles (Doctoral dissertation, Université Nice Sophia Antipolis).
- Rahuman, A. A., & Venkatesan, P. (2008). Larvicidal efficacy of five cucurbitaceous plant leaf extracts against mosquito species. *Parasitology research*, 103(1), 133-139.
- Ramachandran, R., K. F. Raffa, M. J. Miller, D. D. Ellis, and B. H. McCown. 1993. Behavioral responses and sublethal effects of spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) and fall webworm (Lepidoptera: Arctiidae) larvae to *Bacillus thuringiensis* Cry1A(a) toxin in diet. *Environ. Entomol.* 22: 197–211.
- Rand, M. D. (2010). Drosophotoxicology: the growing potential for *Drosophila* in neurotoxicology. *Neurotoxicology and teratology*, 32(1), 74-83.
- Raymond B, Sayyed AH, Wright DJ. 2005 Genes and environment interact to determine the fitness costs of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Proc. R. Soc. B* 272, 1519–1524.

**Référence :**

- Retnakaran, A., H. Lauzon, and P. Fast. 1983. *Bacillus thuringiensis* induced anorexia in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Entomol. Exp. Appl.* 34: 233–239.
- Rolff J, and S. Reynolds, “Insect infection and immunity: evolution, ecology, and mechanisms”, Oxford university press, vol. 25 (12), pp. 86-105, 2009.
- Ruizdubreuil G., Burnet B., et Connolly K. 1994. « Behavioral-Correlates of Selection for Oviposition by *Drosophila-Melanogaster* Females in a Patchy Environment ». *Heredity* 73 (juillet): 103-110.
- Saadoun, I., Al-Moman, F., Obeidat, M., Meqdam, M., Elbetieha, A. 2001. Assessment of toxic potential of local Jordanian *Bacillus thuringiensis* strains on *Drosophila melanogaster* and *Culex* sp (Diptera). *Journal of Applied Microbiology*, 90: 866-872.
- Saito, T., Miyata, T., Sinchaisri, N., Vattanatangum, A., 1995. Management of Brown Plant Hopper and Resistance of Diamondback Moth. Nagoya University Cooperative Press, Nagoya, Japan.
- Sanchis, V., Bourguet, D. 2008. *Bacillus thuringiensis*: applications in agriculture and insect resistance management. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 28(1): 11–20.

- Savadogo, E. H., Shiomi, Y., Yasuda, J., Akino, T., Yamaguchi, M., Yoshida, H., ... & Kitajima, S. (2021). Gene expression of PLAT and ATS3 proteins increases plant resistance to insects. *Planta*, 253(2), 1-16.
- Savarit, F., Sureau, G., Cobb, M., & Ferveur, J. F. (1999). Genetic elimination of known pheromones reveals the fundamental chemical bases of mating and isolation in *Drosophila*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 96(16), 9015-9020.
- Sawaya W.N., Dagher N.J., Khalil J.K., 1986. *Citrullus colocynthis* seeds as a potential source of protein for food and feed. *Journal-of Agricultural and Food Chemistry*; 34 (2): 285-288.
- Scherer, S., Stocker, R. F., & Gerber, B. (2003). Olfactory learning in individually assayed *Drosophila* larvae. *Learning & Memory*, 10(3), 217-225.
- Schmutterer, H. (1992). Higher plants as sources of novel pesticides. *Andover Insecticides: Mechanisms of Action and Resistance*. Intercept Ltd, 3-15.
- Schneider, D. (2000). Using *Drosophila* as a model insect. *Nature Reviews Genetics*, 1(3), 218-226.
- Scott, J. G., & Buchon, N. (2019). *Drosophila melanogaster* as a powerful tool for studying insect toxicology. *Pesticide biochemistry and physiology*, 161, 95-103.
- Scott, K., Brady, R., Cravchik, A., Morozov, P., Rzhetsky, A., Zuker, C., and Axel, R. (2001). A chemosensory gene family encoding candidate gustatory and olfactory receptors in *Drosophila*. *Cell* 104, 661–673.
- Seenivasan, S. P., Jayakumar, M., Raja, N., & Ignacimuthu, S. (2004). Effect of bitter apple, *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad seed extracts against pulse beetle.
- Seger C., Sturm S., Mair M., Ellmerer E., Stuppner H., 2005. <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR signal assignment of cucurbitacin derivatives from *Citrullus colocynthis* (L.) Schrader and *Ecballium elaterium* (L.) (Cucurbitaceae). *Magn. Reson. Chem.*; 43(6): 489-91.
- Shah, M. D., & Hossain, M. A. (2014). Total flavonoids content and biochemical screening of the leaves of tropical endemic medicinal plant *Merremia borneensis*. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6), 1034-1038.
- Shahandeh, M. P., Pischedda, A., & Turner, T. L. (2018). Male mate choice via cuticular hydrocarbon pheromones drives reproductive isolation between *Drosophila* species. *Evolution*, 72(1), 123-135.
- Shanbhag, S. R., Müller, B., & Steinbrecht, R. A. (1999). Atlas of olfactory organs of *Drosophila melanogaster*: 1. Types, external organization, innervation and distribution of

olfactory sensilla. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 28(4), 377-397.

- Sharma, A., Mishra, A.K., Shukla, R., Kumar, M.Z., Abdin, and D.K. Chowdhuria (2012): Organochlorine pesticide, endosulfan induced cellular and organismal response in *Drosophila melanogaster*. *J. Hazard Mater.* 221– 222:275– 287.
- Shaver, S. A., Varnam, C. J., Hilliker, A. J., & Sokolowski, M. B. (1998). The foraging gene affects adult but not larval olfactory-related behavior in *Drosophila melanogaster*. *Behavioural brain research*, 95(1), 23-29.
- Shen, L. Z., Chen, P. Z., Xu, Z. H., Deng, J. Y., Harris, M. K., Wanna, R., ... & Yao, Z. L. (2013). Effect of larvae treated with mixed biopesticide *Bacillus thuringiensis*-abamectin on sex pheromone communication system in cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *PLoS One*, 8(7), e68756.
- Shi, P., Du, W., Wang, Y., Teng, X., Chen, X., & Ye, L. (2019). Total phenolic, flavonoid content, and antioxidant activity of bulbs, leaves, and flowers made from *Eleutherine bulbosa* (Mill.) Urb. *Food science & nutrition*, 7(1), 148-154.
- Shi, X., Jiang, L., Wang, H., Qiao, K., Wang, D., & Wang, K. (2011). Toxicities and sublethal effects of seven neonicotinoid insecticides on survival, growth and reproduction of imidacloprid-resistant cotton aphid, *Aphis gossypii*. *Pest Management Science*, 67(12), 1528-1533.
- Singh, M.P. M. Mishra, A. Sharma, A.K. Shukla, M.K.R. Mudiam, D.K. Patel, K.R. Ram, and D. K. Chowdhuri (2011): Genotoxicity and apoptosis in *Drosophila melanogaster* exposed to benzene, toluene and xylene: Attenuation by quercetin and curcumin. *Toxicol. Appl. Pharm.* 253:14–30.
- Singh, R.S., and Morton, R.A. 1981. Selection for malathion- resistance in *Drosophila melanogaster*. *Can. J. Genet. Cytol.* 23: 355-369.
- Sokolowski Marla B. 1998. « Genes for Normal Behavioral Variation: Recent Clues from Flies and Worms ». *Neuron* 21 (3): 463-66.
- Sparks, T. C., & Nauen, R. (2015). IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide biochemistry and physiology*, 121, 122-128.
- Sparks, T. C., J. A. Lockwood, R. L. Byford, J. B. Graves, and B. R. Leonard. 1989. The role of behavior in insecticide resistance. *Pest. Sci.* 26: 383-399.
- Spieth, H. T. (1952). Mating behavior within the genus *Drosophila* (Diptera). *Bulletin of the AMNH*; v. 99, article 7.

- Sprengelmeyer, Q. D., Mansourian, S., Lange, J. D., Matute, D. R., Cooper, B. S., Jirle, E. V., ... & Pool, J. E. (2018). Discovery of *Drosophila melanogaster* from wild African environments and genomic insights into species history. *bioRxiv*, 470765.
- Stocker RF (1994) The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. *Cell Tissue Res* 275:3–26.
- Sturtevant, A. H. (1915). A sex-linked character in *Drosophila repleta*. *The American Naturalist*, 49(579), 189-192.
- Sun, C.N., Wu, T.K., Chen, J.S., Lee, W.T., 1986. Insecticide resistance in diamondback moth. In: *Proceedings of International Workshop on Diamondback moth Management*,
- Sun, H. N., G. Loeb, H. Walter-Peterson, T. Martinson, and J. G. Scott. 2019. Insecticide resistance in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) is associated with field control failure of sour rot disease in a New York Vineyard. *J. Econ. Entomol.*
- Tabashnik BE, Carrière Y. Surge in insect resistance to transgenic crops and prospects for sustainability. *Nat Biotechnol.* 2017;35(10):926.
- Tabashnik BE, Gassmann AJ, Crowder DW, Carriere Y. 2008 Field-evolved resistance to Bt toxins. *Nat. Biotechnol.* 26, 1074–1076.
- Tabashnik, B. E. (1994). Evolution of resistance to *Bacillus thuringiensis*. *Ann Rev Entomol*, 39(472), 79.
- Tallamy, D. W., Stull, J., Ehresman, N. P., Gorski, P. M., & Mason, C. E. (1997). Cucurbitacins as feeding and oviposition deterrents to insects. *Environmental Entomology*, 26(3), 678-683.
- Tasei, J. N. (1976). Les insectes pollinisateurs de la féverole d'hiver (*Vicia faba equina* L.) et la pollinisation des plantes mâle-stérile en production de semence hybride. *Apidologie*, 7(1), 1-28.
- Toledo, J., P. Liedo, T. Williams, and J. Ibarra. 1999. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* beta-exotoxin to three species of fruit flies (Diptera: Tephritidae). *J. Econ. Entomol.* 92: 1052–1056.
- Tomé, H. V., Pascini, T. V., Dângelo, R. A., Guedes, R. N., & Martins, G. F. (2014). Survival and swimming behavior of insecticide-exposed larvae and pupae of the yellow fever mosquito *Aedes aegypti*. *Parasites & Vectors*, 7(1), 1-9.
- Tomé, H., Martins, J., Corrêa, A., Galdino, T., Picanço, M. And Guedes, R., 2013. Azadirachtin avoidance by larvae and adult females of the tomato leafminer *Tuta absoluta*. *Crop Protection*, vol. 46, pp. 63-69.

- Torkey, H. M., Abou-Yousef, H. M., Abdel Azeiz, A. Z., & Hoda, E. A. F. (2009). Insecticidal effect of cucurbitacin E glycoside isolated from *Citrullus colocynthis* against *Aphis craccivora*. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3(4), 4060-4066.
- Tracqui, P., & Demongeot, J. (2003). *Elements de biologie à l'usage d'autres disciplines*. EDP Sciences.
- Tschirley, F. H. (1979). The role of pesticides in increasing agricultural production. In *Pesticides* (pp. 3-20). Humana Press.
- Tyler, M. S. (2000). Development of the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Developmental biology: A guide for experimental study*, 85-106.
- Vaillant, J., & Derridj, S. (1992). Statistical analysis of insect preference in two-choice experiments. *Journal of insect behavior*, 5(6), 773-781.
- Van Herrewaeghe, J. 1970. Effets physiologiques de la toxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* Berliner sur les larves et les adultes de *Drosophila melanogaster* Meigen. *Entomophaga* 15: 209–222.
- Vishalakshi C. 2011. Fluctuating asymmetry in *Drosophila*. *Low Temp. Sci.*, 69: 51-60.
- Von Keyserlingk, D.G., Niemann, K., Wasel, J., Reinold, J., Poeck, K., 1985. A new method in computer-assisted imaging in neuroanatomy. *Acta Anatomica* 123 (4), 240e246.
- Vosshall, L. B. (2000). Olfaction in *Drosophila*. *Current opinion in neurobiology*, 10(4), 498-503.
- Wehner, R., & Rössler, W. (2013). Bounded plasticity in the desert ant's navigational tool kit. *Handbook of Behavioral Neuroscience*, 22, 514–529.
- Whalon, M. E., D. Mota-Sanchez, and R. M. Hollingworth. 2008. *Global pesticide resistance in arthropods*. CABI, Wallingford, UK.
- Whalon, M. E., Mota-Sanchez, D., & Hollingworth, R. M. (Eds.). (2008). *Global pesticide resistance in arthropods*. Cabi.
- Whitten, J. M. (1957). The post-embryonic development of the tracheal system in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Cell Science*, 3(41), 123-150.
- Whitworth, A. J., Wes, P. D., & Pallanck, L. J. (2006). *Drosophila* models pioneer a new approach to drug discovery for Parkinson's disease. *Drug discovery today*, 11(3-4), 119-126.
- Yamamoto D, Jallon J-M, Komatsu A. 1997. Genetic dissection of sexual behavior in *Drosophila melanogaster*. *Annu. Rev. Entomol.*, 42: 551-585.
- Zalucki, M. P., & Furlong, M. J. (2017). Behavior as a mechanism of insecticide resistance: evaluation of the evidence. *Current opinion in insect science*, 21, 19-25.