



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

FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

THESE EN VUE DE L'OBTENTION D'UN DIPLOME DE
DOCTORAT EN SCIENCES

Spécialité: **BIOLOGIE ANIMALE**

Intitulé

Effets du Spinosad sur différents aspects physiologiques d'un ravageur à intérêt agronomique *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae) : Toxicité, biomarqueurs enzymatiques, métabolisme et reproduction.

Présentée par: M^{me} **BENCHAABANE-BOUKHATEM Samia**

Membres de Jury:

Présidente : Mme Samira KILANI-MORAKCHI
Directeur de thèse : Mme Nadia ARIBI
Examinatrice : Mme Hassina BENMESSAOUD
Examinatrice : Mme Selima BERCHI
Examinateur : M.Tarek DAAS
Examinateur : M.Abdallah KELLOUCHE

Pr., Univ. Annaba
Pr., Univ. Annaba
Pr., ENSA (El-Harrach)
Pr., ENS (Constantine)
Pr., Univ. Annaba
Pr., Univ. Tizi-Ouzou

Année Universitaire: 2015-2016.

REMERCIEMENTS

Ce travail est l'aboutissement d'un long cheminement au cours duquel j'ai bénéficié d'aide d'encouragements et de soutien de plusieurs personnes, à qui je tiens à dire profondément et sincèrement merci.

Mme le **Professeur Samira KILANI-MORAKCHI**, pour sa grande disponibilité, son aide tout au long de ce travail doctoral et pour avoir bien voulu me faire l'honneur de présider ce jury.

Mes sentiments de reconnaissance vont à ma directrice de thèse, Mme le **Professeur Nadia ARIBI** qui a dirigé et accompagné de très près, à vrai dire pas à pas, jour par jour, et avec beaucoup de patience, cette recherche.

Mme le **Professeur Hassina BENMESSAOUD** (ENSA El-Harrach), pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse et de me faire l'honneur de juger ce travail.
Qu'elle trouve ici l'expression de toute ma considération

Madame le **Professeur Sélima BERCHI** de l'ENSB, pour avoir pris de son temps et avoir accepté d'examiner cette thèse. Je la remercie infiniment.

Monsieur le **Professeur Tarek DAAS** qui me fait l'honneur de juger ce travail. Je lui adresse mes sincères remerciements ainsi que ma profonde gratitude.

Monsieur le **Professeur Abdallah KELLOUCHE** de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou pour avoir accepté de participer à ce jury de thèse et de me faire l'honneur de l'évaluer.

Mes plus vifs remerciements vont à mon papa qui m'a soutenu et surtout encouragé tout au long de ce travail, pour sa disponibilité et surtout pour l'échantillonnage et la confection des minis serres.
Et sans oubliée ma maman chérie.

Un grand merci à mon mari samy pour m'avoir soutenu, aidé et encouragé pendant toute cette longue période de travail. À mes enfants Akram, Myrane et Lili.

Ma reconnaissance va aussi à ma sœur Manou pour son aide précieuse, et à ma belle sœur Sonia.

À toute l'équipe du laboratoire de biologie animale appliquée pour leur soutien, ainsi que l'équipe de l'INPV. Je tiens à remercier tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de cette thèse.

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
MATERIEL ET METHODES	12
1. Matériel biologique.....	12
1.1. Présentation de <i>T. absoluta</i>	12
1.2. Élevage en laboratoire.....	15
2. Présentation de l'insecticide	16
3. Traitement des insectes et tests de toxicité.....	17
4. Extraction et dosage des métabolites	17
4.1. Extraction des métabolites	17
4.2. Dosage des métabolites.....	18
1. Dosage des protéines	18
2. Dosage des glucides	19
3. Dosage des lipides	19
5. Dosage de la catalase (CAT)	20
6. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE)	21
7. Dosage des glutathion S-transférases (GSTs)	22
8. Extraction et dosage des vitellines et vitellogénines	23
8.1. Echantillonnage.....	23
8.2. Extraction des vitellines et vitellogénines.....	23
8.3. Dosage des vitellines et des vitellogénines.....	24
9. Analyse statistique.....	24
RESULTATS	25
1. Evaluation de la toxicité du Spinosad chez <i>T.absoluta</i>	25
2. Effets du Spinosad sur les biomarqueurs enzymatiques.....	28
2.1. Effets sur l'activité spécifique des GSTs chez la G0 et la G1	28
2.1.1. Effets chez les nymphes de la G0.....	28
2.1.2. Effets chez les adultes de la G0.....	29
2.1.3. Effets chez les larves de la G1.....	30
2.1.4. Effets chez les nymphes de la G1.....	30
2.1.5. Effet chez les adultes de la G1	31
2.1.6. Effet sur les GSTs : Comparaison entre les deux générations	31

2.2. Effets sur l'activité spécifique de la CAT pour la G0 et la G1	33
2.2.1. Effets chez les nymphes de la G0.....	33
2.2.2. Effets chez les adultes de la G0.....	34
2.2.3. Effets chez les larves de la G1.....	35
2.2.4. Effets chez les nymphes de la G1.....	35
2.2.5. Effets chez les adultes de la G1.....	36
2.2.6. Effets sur la CAT : comparaison entre les deux générations	36
2.3. Effet du Spinosad sur l'activité spécifique de l'AChE chez la G0 et la G1.	38
2.3.1. Effets chez les nymphes de la G0.....	38
2.3.2. Effets chez les adultes de la G0.....	39
2.3.3. Effets chez les larves de la G1.....	40
2.3.4. Effets chez les nymphes de la G1.....	40
2.3.5. Effets chez les adultes de la G1.....	41
2.3.6. Effets sur l'AChE : comparaison entre les deux générations.....	41
3. Effets du Spinosad sur les métabolites dans le corps entier	43
3.1 Effets sur les protéines chez la G0 et la G1	43
3.1.1. Effets chez les nymphes de la G0.....	43
3.1.2. Effets chez les adultes de la G0.....	44
3.1.3. Effets chez les larves de la G1.....	45
3.1.4. Effets chez les nymphes de la G1.....	45
3.1.5. Effets chez les adultes de la G1.....	46
3.1.6. Effets sur les protéines : comparaison entre les deux générations	47
3.2. Effets sur les glucides chez la G0 et la G1.....	49
3.2.1. Effets chez les nymphes de la G0.....	49
3.2.2. Effets chez les adultes de la G0.....	49
3.2.3. Effets chez les larves de la G1.....	50
3.2.4. Effets chez les nymphes de la G1.....	50
3.2.5. Effets chez les adultes de la G1.....	51
3.2.6. Effets sur les glucides : comparaison entre les deux générations.....	52
3.3. Effets sur les lipides chez la G0 et la G1	53
3.3.1. Effets chez les nymphes de la G0.....	53
3.3.2. Effets chez les adultes de la G0.....	54
3.3.3. Effets chez les larves de la G1.....	55

3.3.4. Effets chez les nymphes de la G1	55
3.3.5. Effets chez les adultes de la G1	56
3.3.6. Effets sur les lipides : Comparaison entre les deux générations	56
4. Effets du Spinosad sur les vitélogénines chez les nymphes femelles de <i>T. absoluta</i>	58
4.1. Effets chez les nymphes de la G0	58
4.2. Effets chez les nymphes de la G1	59
4.3. Effets sur les vitélogénines : comparaison entre les deux générations	59
5. Effets du Spinosad sur les vitellines ovariennes chez les adultes femelles	61
5.1. Effets chez les adultes de la G0	61
5.2. Effets chez les adultes de la G1	62
5.3. Effets sur les vitellines ovariennes: comparaison entre les deux générations.....	63
DISCUSSION	65
1. Activité insecticide	65
2. Effet du Spinosad sur les Biomarqueurs enzymatiques.....	66
2.1. Effets sur les GSTs et la Catalase	67
2.2. Effets sur l'AChE.....	70
3. Effets sur les métabolites	71
4. Effets sur les vitélogénines et vitellines	74
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	77
RESUME	79
ABSTRACT	80
الملخص	81
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	82

ANNEXE : PRODUCTION SCIENTIFIQUE (publications et communications)

*LISTE DES
TABLEAUX
&
FIGURES*

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
1	Les stades de développement de <i>T.absoluta</i>	14
2	Dosage des protéines: réalisation de la gamme d'étalonnage	18
3	Dosage des glucides: réalisation de la gamme d'étalonnage	19
4	Dosage des lipides: réalisation de la gamme d'étalonnage.	20
5	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de <i>T.absoluta</i> : Inhibition corrigée (%) de la mue nymphale. ($m \pm sd$; $n = 3$ répétitions de 30 individus chacune).	26
6	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de <i>T.absoluta</i> , sur le pourcentage d'inhibition corrigée de la mue nymphale : Analyse de la variance a un critère de classification. ($n = 3$ répétitions de 30 individus chacune).	26
7	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de <i>T.absoluta</i> : Détermination des doses d'inhibition de la mue nymphale (DI en ng) et leurs intervalles de confiance à 95%.	27
8	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade nymphal (0 et 6 jours) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).	28
9	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade adulte (0 et 7 jours) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).	29
10	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).	30

LISTE DES TABLEAUX

11	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) ($m \pm \text{sd}$; $n= 4 \text{ à } 6$).	30
12	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) ($m \pm \text{sd}$; $n= 4 \text{ à } 6$).	31
13	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1). Analyse de la variance à deux critères de classification.	32
14	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\text{nM}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade nymphal (0 et 6 jours) ($m \pm \text{sd}$; $n= 4 \text{ à } 6$).	34
15	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\text{nM}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade adulte (0 et 7 jours) ($m \pm \text{sd}$; $n= 4 \text{ à } 6$).	34
16	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\text{nM}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) ($m \pm \text{sd}$; $n= 4 \text{ à } 6$).	35
17	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\text{nM}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) ($m \pm \text{sd}$; $n= 4 \text{ à } 6$).	35
18	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\text{nM}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) ($m \pm \text{sd}$; $n= 4 \text{ à } 6$).	36

LISTE DES TABLEAUX

19	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (nM/min/mg de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1). Analyse de la variance à deux critères de classification.	37
20	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE (μM/min/mg de protéines) au cours du stade nymphal (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	39
21	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE (μM/min/mg de protéines) au cours du stade adulte (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	39
22	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE (μM/min/mg de protéines) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) (m ± sd; n= 4 à 6).	40
23	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE (μM/min/mg de protéines) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	40
24	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE (μM/min/mg de protéines) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	41
25	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE (μM/min/mg de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1). Analyse de la variance à deux critères de classification.	42

LISTE DES TABLEAUX

26	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en protéines dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade nymphal (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	44
27	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en protéines dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade adulte (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	45
28	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur le contenu en protéines dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) (m ± sd; n= 4 à 6).	45
29	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur le contenu en protéines dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	46
30	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur le contenu en protéines dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	47
31	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en protéines (µg/mg), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1). Analyse de la variance à deux critères de classification.	48
32	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en glucides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade nymphal (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	49

LISTE DES TABLEAUX

33	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en glucides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade adulte (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	50
34	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en glucides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) (m ± sd; n= 4 à 6).	50
35	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur le contenu en glucides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	51
36	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur le contenu en glucides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	51
37	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en glucides (µg/mg), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1). Analyse de la variance à deux critères de classification.	52
38	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en lipides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade nymphal (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	54
39	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en lipides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade adulte (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	54
40	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur le contenu en lipides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) (m ± sd; n= 4 à 6).	55

LISTE DES TABLEAUX

41	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur le contenu en lipides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	55
42	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur le contenu en lipides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).	56
43	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en lipides (µg/mg), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1). Analyse de la variance à deux critères de classification.	57
44	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en vitellogénines (µg/mg) chez les nymphes femelles (m ± sd; n= 4 à 6).	58
45	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur le contenu en vitellogénines (µg/mg) chez les nymphes femelles de la G1 (m ± sd; n= 4 à 6).	59
46	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en vitellogénines (µg/mg) chez les nymphes femelles au cours de deux générations successives (G0 et G1). Analyse de la variance à deux critères de classification.	60
47	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en vitellines ovariennes (µg/mg) chez les adultes femelles (m ± sd; n= 4 à 6).	62

LISTE DES TABLEAUX

48	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> (G0) et évalués sur le contenu en vitellines ovariennes (µg/mg) chez les adultes femelles de la G1 (m ± sd; n= 4 à 6).	63
49	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en vitellines ovariennes (µg/mg) chez les adultes femelles au cours de deux générations successives (G0 et G1). Analyse de la variance à deux critères de classification.	64

Liste des Figures

N	Titres	Page
1	Répartition mondiale de <i>T.absoluta</i> (RAMEL, 2010)	4
2	Répartition de <i>T.absoluta</i> (www.tutaabsoluta.fr)	4
3	Dégâts causés par <i>T.absoluta</i> . A : feuilles ; B : tiges ; C : calice du fruit vert ; D : fruit rouge. Les flèches rouges représentent le point d'attaque de <i>T.absoluta</i> .	5
4	Direction d'avancement de <i>T.absoluta</i> en Algérie (Anonyme2, 2008)	5
5	<i>Macrolophus pygmaeus</i> (www.entocare.nl 720 x 474)	7
6	<i>Neochrysocharis formosa</i> (www.nogyo.tosa.pref.kochi.lg.jp300x225)	7
7	Piège Delta à phéromones (http://www.gerbeaud.com/)	8
8	<i>T. absoluta</i> d'après Povolny (1994) (G x 7)	12
9	Cycle biologique de <i>T. absoluta</i>	14
10	Minis serres de tomates	15
11	Surface épineuse de la bactérie (Ishaaya & Horowitz, 1998)	16
12	Coupe longitudinale de la bactérie (Ishaaya & Horowitz, 1998)	16
13	Structure chimique du Spinosad (Ishaaya & Horowitz, 1998)	16
14	Dosage des protéines du corps: droite de régression exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg).	18
15	Dosage des glucides du corps: droite de régression exprimant l'absorbance à 620 nm en fonction de la quantité de glucose (μg).	19
16	Dosage des lipides du corps: droite de régression exprimant l'absorbance à 530 nm en fonction de la quantité d'huile de table (μg).	20

LISTE DES FIGURES

17	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> , sur la mue nymphale: Inhibition observée après traitement ($m \pm sd$; $n = 3$ répétitions de 30 individus chacune).	25
18	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> : Inhibition corrigée de la mue nymphale et classement des doses testées par le test HSD de Tuckey. ($m \pm sd$; les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes).	27
19	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu M/min/mg$ de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).	33
20	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($nM/min/mg$ de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).	38
21	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu M/min/mg$ de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).	43
22	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en protéines ($\mu g/mg$), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).	48
23	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en glucides ($\mu g/mg$), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).	53

LISTE DES FIGURES

24	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en lipides (µg/mg), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) (m ± sd; n= 4 à 6).	57
25	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en vitellogénines (µg/mg) chez les nymphes femelles au cours de deux générations successives (G0 et G1) (m ± sd; n= 4 à 6).	61
26	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique, (DI ₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de <i>T. absoluta</i> et évalués sur le contenu en vitellines ovariennes (µg/mg) chez les adultes femelles au cours de deux générations successives (G0 et G1) (m ± sd; n= 4 à 6).	64

INTRODUCTION

En agriculture, en l'absence de protection phytosanitaire, les pertes dues aux ravageurs et maladies des cultures sont estimées à un tiers des récoltes (Nauen & Bretschneider, 2002). Les ravageurs, appartenant à différents taxons peuvent, également, être des espèces invasives et représenter une menace majeure pour les écosystèmes naturels ou la production agricole (Hulme, 2007; Suckling & Brockerhoff, 2010; Canning-Clode, 2015 ; Biber-Freudenberger *et al.*, 2016).

Parmi les insectes ravageurs se trouvent les mineuses dont les larves se nourrissent à l'intérieur des feuilles, en consommant le mésophile sans en endommager l'épiderme (Spencer, 1973 ; Parrella & Jones, 1987; Minkenberg & Van Lenteren, 1986; Maier, 2001); il est possible de distinguer la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella*, Stainton (Lepidoptera : Gracillariidae) mais aussi celle de la tomate *Tuta absoluta* ((Meyrick 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae). Cette dernière mineuse a connu plusieurs appellations (Anonyme 1, 2007) et l'arrangement du genre a été revu à trois reprises. En effet, Clarke (1962) a défini le genre *Gnorimoschema* puis Povolny (1967) celui de *Scrobipalpula*. Après révision, le genre a ensuite été modifié et érigé en *Scrobipalpuloides* (Povolny, 1987) et enfin l'appellation de *Tuta* a été introduite; depuis 1994, le nom de l'espèce est donc *T. absoluta* Povolny (1994).

T.absoluta, espèce invasive, (Olson 2006; Haack *et al.*, 2010; Ragsdale *et al.*, 2011) constitue le ravageur essentiel de la tomate *Solanum lycopersicum* L. (Gomide *et al.*, 2001; Desneux *et al.*, 2010 ; Gontijo *et al.*, 2013; Lobos *et al.*, 2013). La tomate constitue l'hôte principal, mais *T. absoluta* peut également coloniser d'autres solanacées (aubergines, poivrons, pommes de terre ou le tabac) (Desneux *et al.*, 2010; Megido *et al.*, 2013; Bawin *et al.*, 2015). Les larves pénètrent dans les feuilles, les tiges et les fruits où elles creusent des

galeries dans lesquelles elles se développent. En début d'attaque, les galeries se situent dans les feuilles (**Fig. 3A**) ou la partie inférieure des plantes (Lopes-Filho, 1990); quand les populations et/ou les températures augmentent, les attaques se développent dans la partie supérieure (apex) et à l'intérieur des fruits (**Fig. 3 D**); ces derniers, touchés à tous les stades de leur développement, présentent des dégâts superficiels, des perforations et parfois des nécroses sur le calice (**Fig. 3C**). Ces ravages sont particulièrement dommageables pour les récoltes en grappes (Castelo-Branco, 1992).

T. absoluta, originaire d'Amérique du Sud, a acquis une répartition géographique plus large après son introduction involontaire dans d'autres régions du monde (Urbaneja *et al.*, 2007; Speranza *et al.*, 2009; Desneux *et al.*, 2010). Depuis sa première détection dans l'Ouest de l'Europe (péninsule ibérique), fin 2006 (Urbaneja *et al.*, 2007; Arno & Gabarra, 2010), l'espèce a envahit, ensuite, très rapidement entre 2006 et 2010, le centre et le Nord de l'Europe mais aussi tout le bassin méditerranéen (Garcia-Mari & Vercher, 2010; Guillemaud *et al.* 2015; Desneux *et al.*, 2011; Al-Turaihi, 2011; Baniameri & Cheraghian, 2012; Guenaoui *et al.*, 2013; Mahmoud, 2013; Pfeiffer *et al.*, 2013; EPPO 2013) (**Fig. 1**). La littérature note que l'Est de l'Asie pourrait être atteint en 2017 si cette rapide expansion se poursuit; cependant, de récents travaux citent la présence de *T. absoluta* en Inde et en Ethiopie (Kalleshwaraswamy *et al.* 2015; Ayalew *et al.*, 2015); dans l'Est de l'Afrique orientale, le premier signalement de cette mineuse a été effectué au Soudan en 2010 (Ayalew *et al.*, 2015). L'absence de variations génétiques entre les populations méditerranéennes et celles originaires d'Amérique du Sud a été précisée (Cifuentes *et al.* 2011) mais ceci est controversé et les schémas de l'invasion restent non résolus (Desneux *et al.*, 2011).

En Algérie, à la fin de l'hiver 2008, les premiers foyers d'infestation, déclarés dans la commune de Mazagran (près de Mostaganem) (Mahdi *et al.*, 2011), se sont rapidement étendus, aux communes de l'Ouest puis dans le centre et l'est du pays (Mostaganem, Oran, Chlef, Boumerdès, Alger, Bouira, Tizi - Ouzou, Béjaia, Jijel, Skikda, Mila, El Tarf). En 2010, *T.absoluta* était présente dans toutes les wilayates productrices de tomate (Snoussi, 2010) (Fig. 4). *Lycopersicon esculentum* est considérée comme une culture stratégique et la superficie réservée à cette culture est de 20 000 Ha environ (Anonyme, 2009). La production de tomate a été estimée à 1,023 millions de tonnes en 2007 (Giove & Abis, 2007) et 0, 65 millions de tonnes en 2009 (Amrani, 2010) ce qui permet de classer l'Algérie 20^{ème} rang à l'échelle de la production mondiale. La dissémination rapide de *T. absoluta*, à travers le monde et, plus particulièrement dans le bassin méditerranéen, fait de cette espèce un ravageur d'importance économique dans les principaux pays producteurs de tomates (Torres *et al.*, 2001; Mallia, 2009; Desneux *et al.*, 2010; Seplyarsky *et al.*, 2010; Taha *et al.*, 2012; Hanafy & El-Sayed, 2013; Dahliz *et al.*, 2013; Guenaoui *et al.*, 2013). *T.absoluta* provoque un niveau très élevé de dommages (Guedes & Picanço, 2012 ; Megido *et al.*, 2012) et, sans contrôle approprié, des pertes de 90 à 100% sont observées (Desneux *et al.*, 2010). Une stratégie de lutte semble donc s'imposer mais la gestion de ce ravageur semble difficile, en particulier en plein champs.

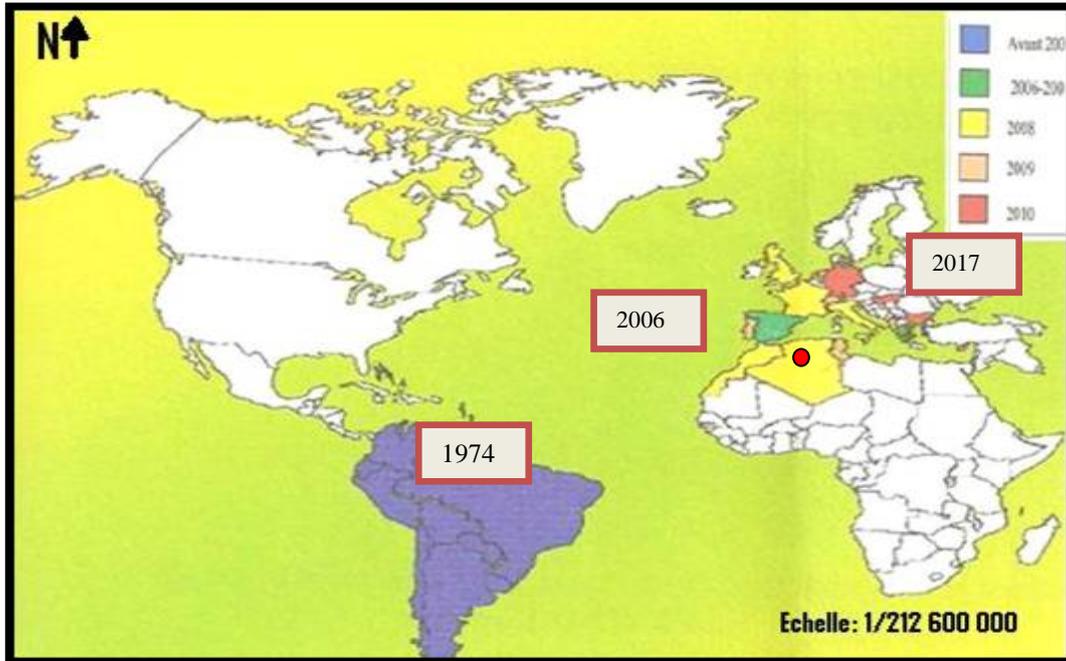


Figure 1. Répartition mondiale de *T. absoluta* (RAMEL, 2010).

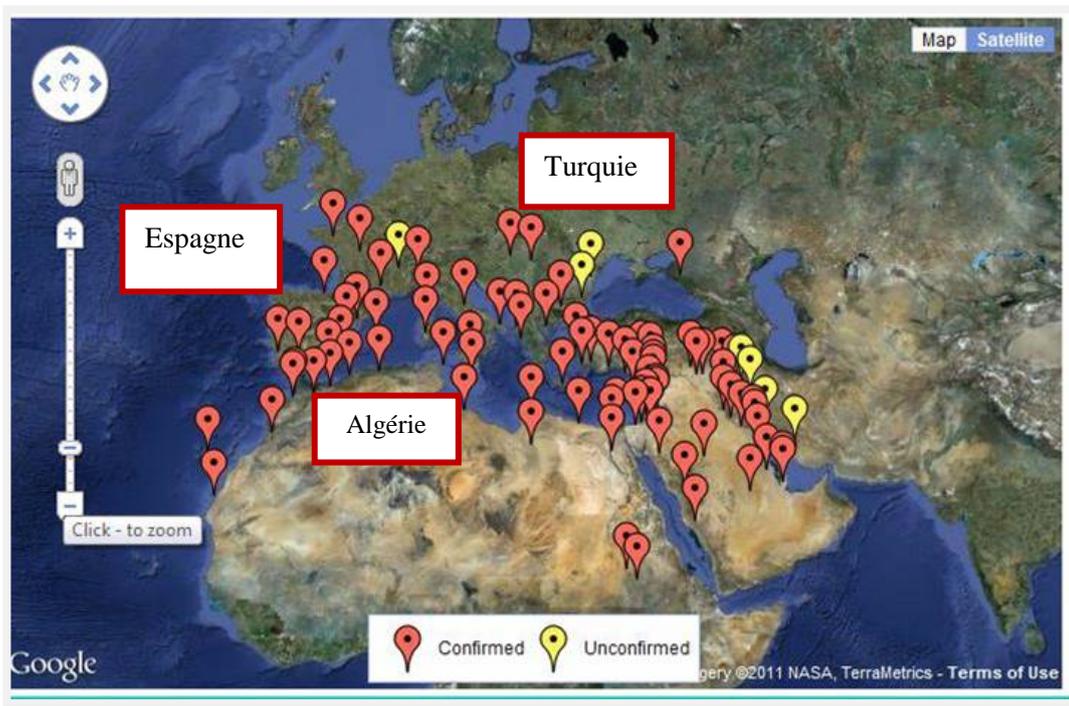


Figure 2. Répartition de *T. absoluta* (www.tutaabsoluta.fr)

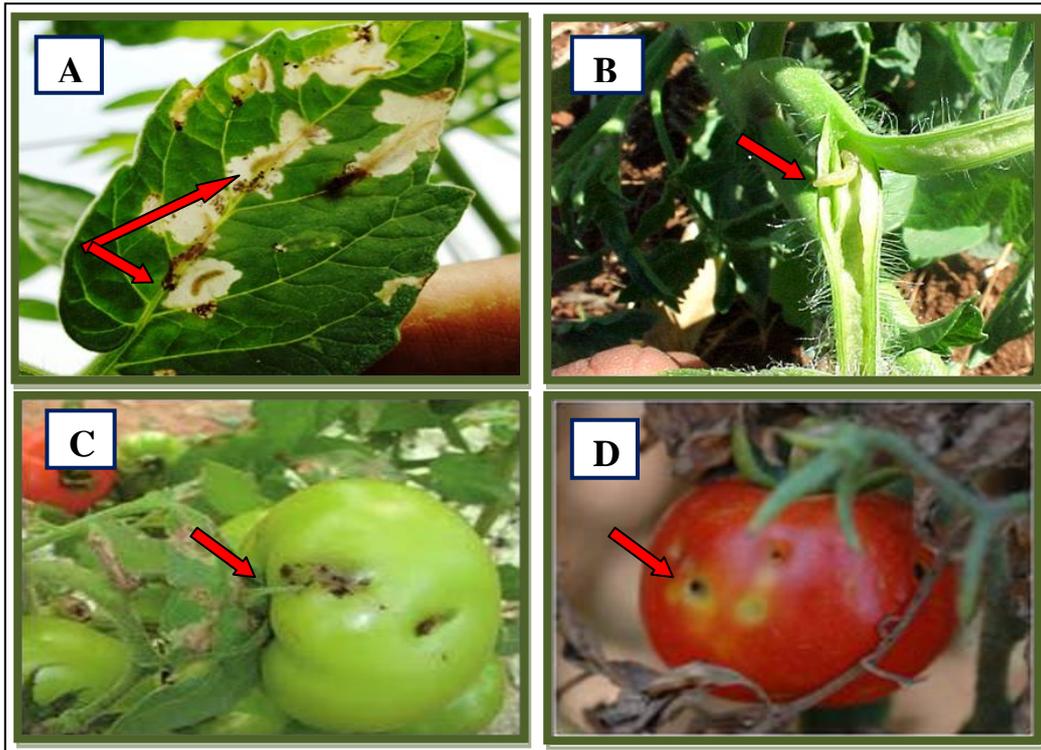


Figure 3. Dégâts causés par *T.absoluta*. **A:** feuilles; **B:** tiges; **C:** calice du fruit vert; **D:** fruit rouge. Les flèches rouges représentent le point d'attaque de *T.absoluta*. (Photos : onssa.gov.ma)

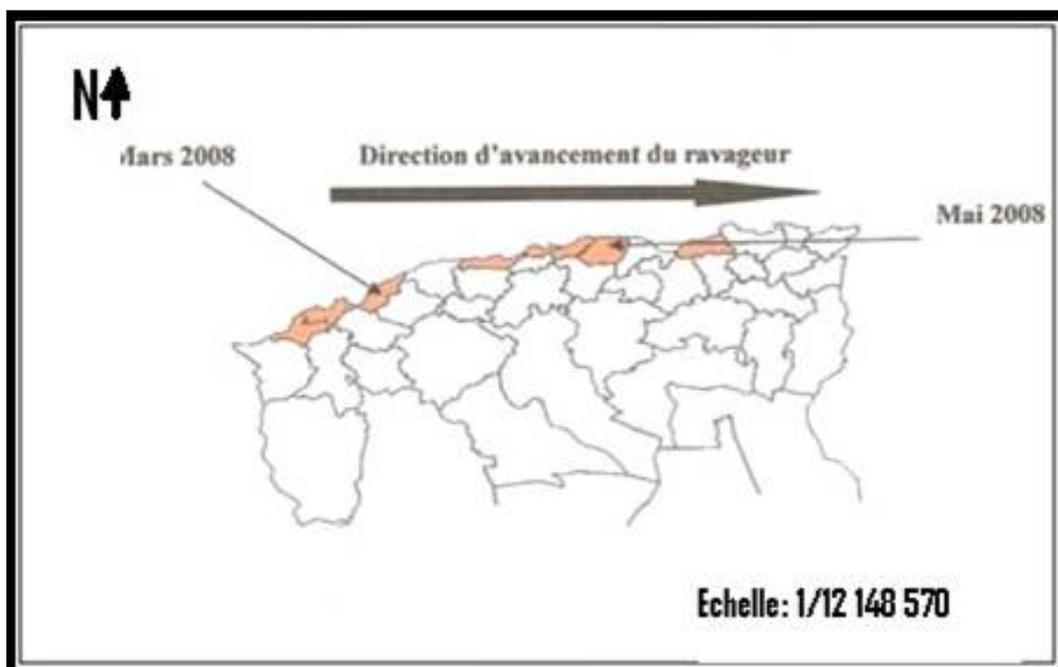


Figure 4. Direction d'avancement de *T.absoluta* en Algérie (Anonyme 2, 2008)

Le contrôle de *T. absoluta*, dans son aire d'origine, a principalement été effectué par l'utilisation de molécules chimiques permettant une lutte efficace et rapide (Guedes & Picanço, 2012; Guedes & Siqueira, 2012; Tomé *et al.*, 2012). Cependant, leur emploi intensif a conduit rapidement au développement d'une résistance (Silva *et al.*, 2011; Gontijo *et al.*, 2013; Guedes & Siqueira, 2012 ; Haddi *et al.*, 2012); il a été rapporté une tolérance aux organophosphorés, carbamates, pyréthroïdes, benzoylurées, avermectine mais aussi à l'indoxacarbe chez des populations de *T. absoluta*, en provenance du Brésil, Chili et Argentine (Souza *et al.*, 1992 ; Guedes *et al.*, 1994; Siqueira *et al.*, 2000, 2001 ; Salazar & Araya 2001; Lietti *et al.*, 2005; Silva *et al.*, 2011). Par conséquent, une problématique dans la lutte de ce ravageur est posée. En effet, la dispersion de cette mineuse avec une résistance acquise aux différents pesticides utilisés impose des choix nouveaux dans la gestion de ce fléau; par ailleurs, les effets néfastes de ces molécules sur les ennemis naturels et les pollinisateurs ont été mis en évidence (Desneux *et al.*, 2007; Biondi *et al.*, 2012, 2013).

La littérature cite différentes stratégies de contrôle de *T. absoluta*, notamment la lutte biologique dans les programmes de gestion intégrée des ravageurs ou IPM (Mollá *et al.*, 2011; Vacas *et al.*, 2011; Zappala *et al.*, 2012). Les agents de lutte biologique ou les ennemis naturels (prédateurs, parasitoïdes et agents pathogènes) ont été considérés comme une solution possible pour la gestion de *T. absoluta* (Desneux *et al.*, 2010; Öztemiz, 2013). Cette stratégie offre une alternative plus durable et moins onéreuse par rapport aux produits chimiques (Vivan *et al.*, 2003; Medeiros *et al.*, 2006; Bale *et al.*, 2008; Urbaneja *et al.*, 2012). A travers le monde, plus de 70 espèces d'ennemis naturels de *T. absoluta*, ont été recensées; il s'agit majoritairement d'insectes appartenant principalement à l'ordre des Miridae, Anthociridae et Nabidae (Zappala *et al.*, 2013). Dans le bassin méditerranéen, divers prédateurs et parasitoïdes attaquent, spontanément, *T. absoluta*; tels que *Macrolophus*

pygmaeus Rambur, et *Nesidiocoris tenuis* Reuter (Desneux *et al.*, 2010; Shaltiel-Harpaz *et al.*, 2016) (**Fig. 5**), ou encore *Necremnus artynes* Walker et *Necremnus tutae* (Gabarra *et al.*, 2010 ; Calvo *et al.*, 2016) Certains prédateurs, comme les Miridae, ont déjà été employés dans les programmes IPM spécifiques de *T.absoluta* (Castané *et al.*, 2011; Molla *et al.*, 2011; Cabello *et al.*, 2012; Zappala *et al.*, 2012; Chailleux *et al.*, 2013); ainsi, plus de 50 espèces appartenant pour la plupart à la famille des Eulophidae dont *Neochrysocharis formosa* Westwood (**Fig 6**) ou *Closterocerus formosus* Westwood (Noyes, 2013) ont été utilisées.



Figure 5. *Macrolophus pygmaeus*
(www.entocare.nl 720 x 474)



Figure 6. *Neochrysocharis formosa*
(www.nogyo.tosa.pref.kochi.lg.jp300x225)

Par ailleurs, il est, également, possible de citer d'autres agents biologiques comme les nématodes entomopathogènes ou la bactérie *Bacillus thuringiensis* (Batalla-Carrera *et al.*, 2010 ; González-Cabrera *et al.*, 2011 ; Dammak *et al.*, 2016) ou encore le champignon *Metarhizium anisoplia* (Contreras *et al.*, 2014). Dans les moyens de lutte utilisés se trouvent, aussi, les pièges à phéromones afin de pouvoir effectuer un piégeage de masse des insectes au moment de la période de reproduction (Vacas *et al.*, 2011 ; Chermiti & Abbes 2012; Caparos Megido *et al.*, 2013; Cocco *et al.*, 2013 ; Dominguez *et al.*, 2016) (**Fig 7**); néanmoins, ce type de stratégie a donné des résultats médiocres (Michereff Filho *et al.*, 2000 ; Hassen & Alzaïdi

2009 ; Vacas *et al.*, 2011), qui pourraient s'expliquer par la capacité des femelles de *T. absoluta*, à se reproduire grâce au phénomène de parthénogénèse (De Backer *et al.*, 2015).



Figure 7. Piège Delta à phéromones (<http://www.gerbeaud.com/>)

La lutte chimique a ciblé, généralement, les insecticides d'origine naturelle ou provenant d'organismes biologiques encore appelés « biopesticides» (Thakore, 2006). Selon, l'agence américaine pour la protection de l'environnement (EPA), il a été enregistré plus de 195 biopesticides actifs grâce au développement de la biotechnologie. Ces composés, alternatifs aux pesticides conventionnels, sont non rémanents et montrent un impact environnemental nul du fait de leur biodégradation. Ces molécules regroupent l'Azadirachtine ou encore le Spinosad particulièrement recommandées dans la lutte contre *T. absoluta* (Tomé *et al.*, 2013; Ayalew *et al.*, 2015). L'azadirachtine, substance naturelle dérivée du Neem ou *Azadirachta indica* (Miliaceae) agit comme un régulateur de croissance et présente une action antagoniste vis-à-vis de l'hormone juvénile et des ecdystéroïdes (Mordue *et al.*, 2005).

Le Spinosad, produit de la fermentation de l'Actinomycète *Saccharopolyspora spinosa*, se compose de deux lactones macrocycliques: spinosyne A et spinosyne D (Thompson *et al.*, 2000; Ware *et al.*, 2004). Le Spinosad présente un mode d'action de type neurotoxique nouveau et unique car il agit à la fois sur les récepteurs de l'acétylcholine nicotinyll (nAChRs) (Kirst, 2010 ; Rinkevich & Scott, 2012) et sur les récepteurs gabaergiques

(Ishaaya *et al.*, 2001; Jacquet *et al.*, 2002). Ce pesticide, agissant par contact ou ingestion, est très efficace, particulièrement, contre les Lépidoptères, les Diptères, et les Isoptères (Pineda *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2009 ; Besard *et al.*, 2011; Bhatta *et al.*, 2016; Reddy & Antwi, 2016). Le Spinosad est très efficace contre de nombreux insectes nuisibles et compatible avec de nombreux ennemis naturels d'insectes pouvant être utilisés en combinaison dans un programme de gestion intégrée des ravageurs (Legwaila *et al.*, 2013). Ce pesticide préserve l'environnement du fait de sa rapide biodégradation et de sa forte sélectivité (Sarfraz *et al.*, 2005; Dua, 2009); ainsi, il a été homologué pour être utilisé sur plus de 100 cultures et contre divers ordres d'insectes: Lepidoptera, Diptera, Thysanoptera, Orthoptera et Coleoptera (Wanner *et al.*, 2000; Nayak *et al.*, 2002; Reddy & Antwi, 2016). Le Spinosad présente, par rapport aux insecticides synthétiques classiques, une faible toxicité pour l'Homme, les Mammifères, les invertébrés aquatiques et les organismes non visés (Liu *et al.*, 2000; Sarfraz *et al.*, 2005; Kirst, 2010 ; Biondi *et al.*, 2012; Cabrera-Marin *et al.*, 2016). La littérature note, néanmoins, des effets toxiques du Spinosad sur les organismes non ciblés (Carvalho *et al.*, 2013); cependant, des études récentes notent que le Spinosad n'induit pas de génotoxicité chez les Mammifères (Saxena & Kesari, 2016).

En Algérie, la stratégie de lutte contre *T.absoluta* a été difficile (Guentaoui *et al.*, 2014); en effet, sous un climat très favorable, cette mineuse donne près de 10 générations par an (Guentaoui & Guelamallah, 2008; Bensaad 2010) ce qui a exposé la culture aux attaques pendant toute l'année avec un usage excessif de pesticides. La lutte chimique a été tout d'abord la plus utilisée mais l'insecte n'a pas été contenu du fait d'un développement de résistance toujours croissant (INPV, 2008 ; 2013). Aussi, l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) a mis en place un plan de lutte intégrée avec des lâchers périodiques de prédateurs (*Nesidiocoris tenuis* Reuter: Hemiptère Miridae) (INPV, 2013) et de parasitoïdes (*Trichogramma pretosium*, *T. bactrae*) (Gasmi & Guentaoui, 2012), le piégeage de masse à

base de phéromones sexuelles mais aussi la lutte chimique, avec pour choix, le Spinosad. L'utilisation de cette molécule, effective en Algérie depuis 2010, est recommandée dans le cadre d'un programme IPM pour permettre de réduire la pollution de l'environnement tout en contribuant à retarder l'expression de la résistance au pesticide (Shelton *et al.*, 2004). Cependant, la littérature note des niveaux élevés de résistance chez *T.absoluta* après traitement au Spinosad (Reyes *et al.*, 2012; Campos *et al.*, 2014; Yalcin *et al.*, 2015; Barros *et al.*, 2015). Par conséquent, la question qui se pose est de savoir comment utiliser le Spinosad dans le cadre d'une lutte intégrée en évitant l'installation de la résistance. Peu d'études ont été menées pour comprendre l'induction ce mécanisme chez *T.absoluta*; par ailleurs, la possibilité d'une rémanence du Spinosad reste à établir chez cette mineuse et ce processus doit être, impérativement, pris en compte dans un programme de gestion de la résistance.

La mise en évidence de la rémanence implique la recherche des effets différés du Spinosad sur les stades qui suivent le traitement mais aussi sur les générations suivantes. Aussi, l'objectif de ce travail est d'évaluer, après traitement du dernier stade larvaire, les effets différés du spinosad chez *T. absoluta*, au cours de deux générations successives, la génération parent (G0) et la première génération (G1) et à différents stades de développement (larves, nymphes et adultes).

Les effets de ce pesticide ont été évalués sur les divers points suivants constituant les différents chapitres de cette thèse :

1. **Biomarqueurs enzymatiques** : la compréhension des altérations enzymatiques, induites par l'exposition aux pesticides peut contribuer à orienter les organismes décideurs, vers un choix raisonné des molécules (Frasco & Guilhermino, 2002 ; Konus 2015). Ainsi, les activités spécifiques d'une sélection d'enzymes clés ont été précisées

- Glutathion S-transférases (GSTs) et Catalase (CAT): importance dans l'induction du mécanisme de détoxification (Yalcin *et al.*, 2015) et dans le stress oxydatif (Konus 2015).

- Acétylcholinestérase ou AChE : l'effet du Spinosad sur ce site non cible est controversé dans la littérature (Rabea *et al.*, 2009 ; Maïza *et al.*, 2013).

2. **Principaux métabolites corporels**: font partie des paramètres utilisés dans l'évaluation de la « Fitness » des organismes. En effet, les variations dans les réserves d'énergie (glucides, les lipides, les protéines) indiquent une altération fonctionnelle et la susceptibilité de l'insecte à l'insecticide (Piri *et al.*, 2014).

3. **Vitellogénines et Vitellines** : excellents paramètres de reprotoxicité

Cependant, une étude de toxicité a été réalisée, au préalable, afin de pouvoir déterminer les doses létales du Spinosad et les résultats ont fait l'objet du premier chapitre.

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel biologique

1.1. Présentation de *T. absoluta*

T. absoluta est un microlépidoptère de 6 à 7 mm de long et de 8 à 10 mm d'envergure. Les deux paires d'ailes et le corps sont recouverts d'écailles. Les antennes sont filiformes et représentent le 5/6 des ailes. Les adultes s'activent tôt le matin et au crépuscule.

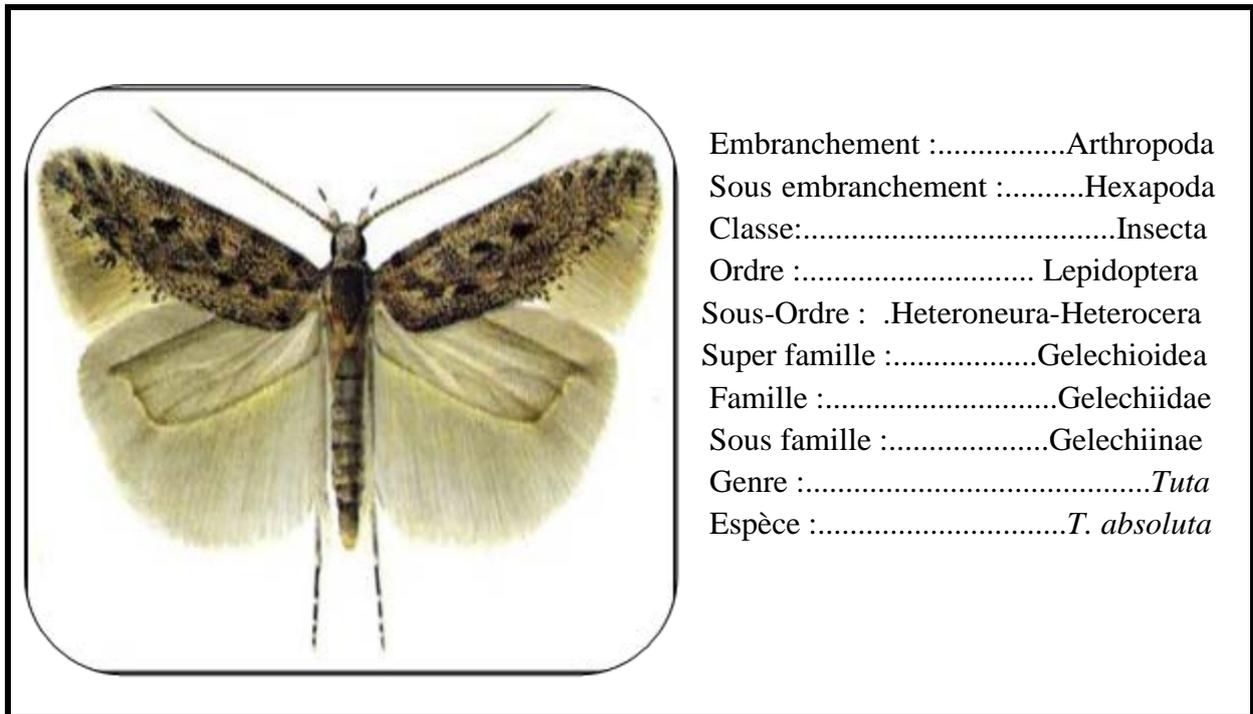


Figure 8. *T. absoluta* d'après Povolny (1994) (G x 7~).
www.agriculture-biodiversité-oi.org 200x107

T.absoluta, espèce multivoltine, peut avoir 10 à 12 générations par an (Vercher *et al*, 2010). Le cycle biologique varie, entre 29 et 38 jours, selon les conditions environnementales (température, photopériode et humidité) ; en effet, il est de 76,3 jours à 14°C, 39,8 jours à 19,7°C et 23,8 jours à 27,1°C (Hernandez-Fernandez *et al.*, 2011). Le cycle biologique est caractérisé par quatre stades de développement, œuf, larve, nymphe et adulte.

Les œufs, de petite taille (0,36 mm de long 0,22 mm de large) ont une forme ovale ou cylindrique (Marcano, 2007 ; Korycinska & Moran, 2009). Ils sont de couleur blanc crème après la ponte puis orange marron avant éclosion (**Tab. 1A**).

Les larves ou chenilles, pénètrent dans la plante dès l'éclosion (Collet et al., 2010). Elles passent par quatre stades larvaires, reconnaissables à la couleur qui est blanchâtre au premier stade (L_1 : 0,9 mm) (**Tab. 1C**) et verte au deuxième et troisième stade (L_2 : 4,5 ; L_3 : 5,6 mm) (**Tab. 1 D, E**) ; au stade (L_4 : 7,5 mm), la face dorsale se colore en rouge (**Tab. 1F**). A la fin de ce dernier stade, les larves cessent de s'alimenter et débutent la nymphose.

La nymphe ou chrysalide est le stade correspondant à la métamorphose. La nymphose peut avoir lieu sur le sol, les feuilles ou à l'intérieur des mines. La chrysalide, de forme cylindrique et de couleur marron (Margarida, 2008), est recouverte par un cocon blanc et soyeux (**Tab. 1G**). A ce stade la distinction sexuelle est possible (Fernandez & Montagne, 1990) ; en effet, les chrysalides mâles sont en taille et en poids inférieures (poids ~3 mg ; longueur ~ 4mm ; largeur ~ 1 mm) aux chrysalides femelles (poids ~ 4,5 mg ; longueur ~ 4,5 mm ; largeur ~ 1,3 mm).

L'adulte est un petit papillon de couleur gris argenté avec des tâches noires sur les ailes antérieures (**Tab. 1H**). Les femelles ont l'abdomen plus clair (brun crémeux), plus large et plus volumineux que les mâles (Estay & Bruna, 2002). Les femelles pondent leurs œufs au niveau de la partie aérienne de la plante hôte, (jeunes bourgeons et feuilles). La femelle pond 40 à 50 œufs par ponte et peut aller jusqu'à 260 œufs durant toute sa vie (Anonyme3, 2010).

Tableau 1. Les stades de développement de *T.absoluta* (Photos : www.fredonpaca.fr)

			
A : Œuf.	B : Larve éclore	C : Stade larvaire 1.	D : Stade larvaire 2.
			
E : Stade larvaire 3.	F : Stade larvaire 4.	G : Nymph.	H : Adulte.

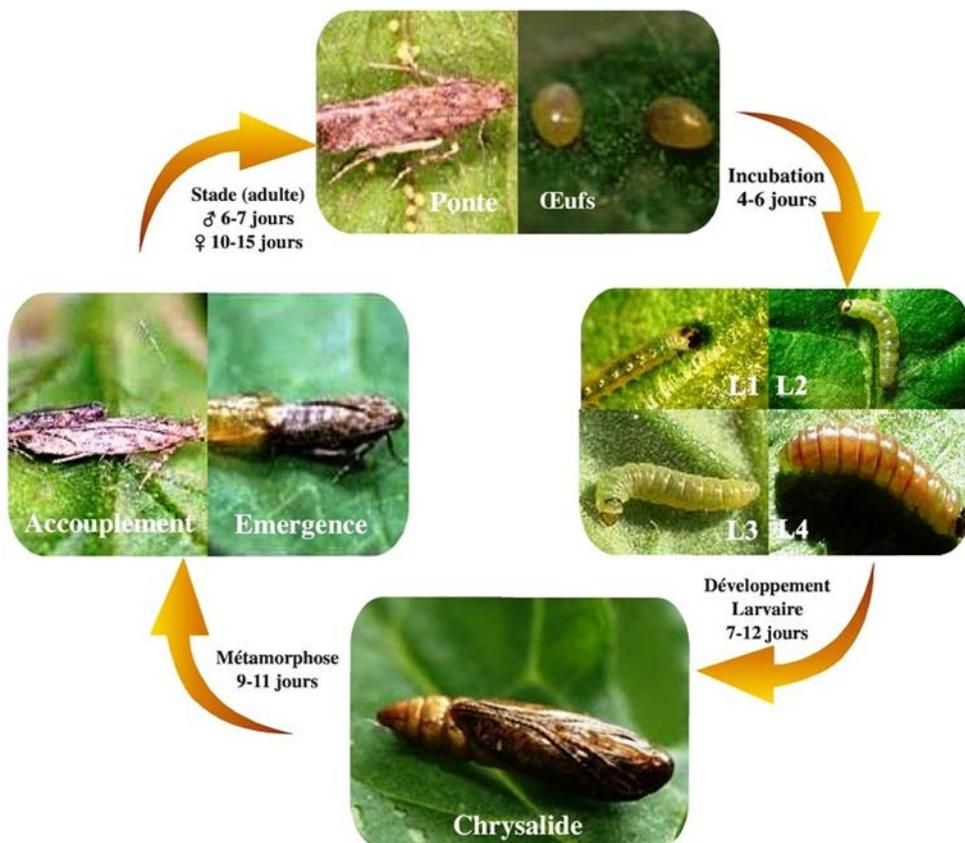


Figure 9. Cycle biologique de *T. absoluta* (Photos : ephytia.inra.fr)

1.2. Élevage en laboratoire

Les échantillons biologiques de *T.absoluta* (Lepidoptera) ont été collectés dans une serre des feuilles de tomate infestée au niveau de la localité de Besbes (Wilaya d'El Tarf ; 36° 42' 08'' Nord et 7° 50' 50'' Est) puis transportés au laboratoire. L'élevage à été réalisé dans des mini-serres de tomates correspondant à un pot de 25 cm de diamètre environ recouvert par un socle plastifié (Vercher *et al.*, 2010) ; chaque pot contient un plant de tomate où les insectes évoluent. L'élevage est maintenu dans des conditions contrôlées avec une température de 25 à 28°C, une photopériode de 12 heures et une humidité à 70 à 80 % environ. Dans le cadre de notre étude, deux lots d'insectes ont été sélectionnés, le premier pour la série témoin, et le second pour la série traitée au Spinosad. Les expérimentations ont été réalisées après deux générations d'élevage en Laboratoire. Dans le cadre de notre étude, différentes séries de mini-serres ont été constitués: une première série pour les témoins, une deuxième série pour la génération traité 0 (G0) et une dernière pour la descendance de la G0 ou la génération 1 (G1).



Figure 10. Minis serres de tomates (Original)

2. Présentation de l'insecticide

Le Spinosad découvert dans la nature, est issu de la fermentation d'une bactérie, *Saccharopolyspora spinosa* (Figs. 11,12).

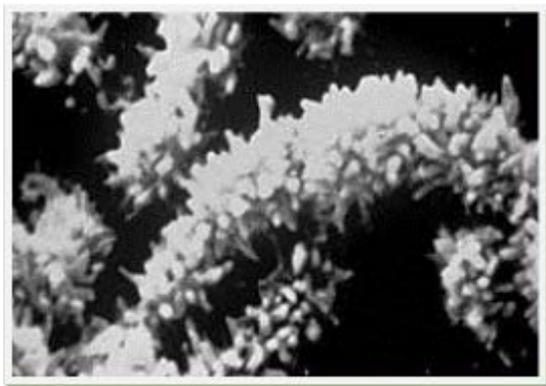


Figure 11. Surface épineuse de la bactérie (Ishaaya & Horowitz, 1998)

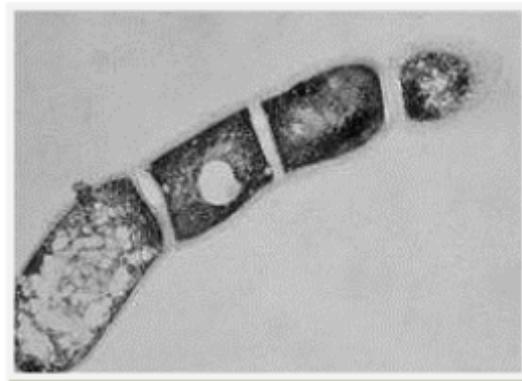


Figure 12. Coupe longitudinale de la bactérie (Ishaaya & Horowitz, 1998)

Le Spinosad (Fig. 13) est composé de deux Spinosynes, Spinosyne A : $C_{41}H_{65}NO_{10}$ avec un poids moléculaire de 731,98 g/mol et Spinosyne D : $C_{42}H_{67}NO_{10}$ avec un poids moléculaire de 746,0 g/mol. La formulation commerciale utilisée est Success 480 SC (DowAgroSciences, Indianapolis, USA (SC: suspension concentrée 480g/l « Tracer »).

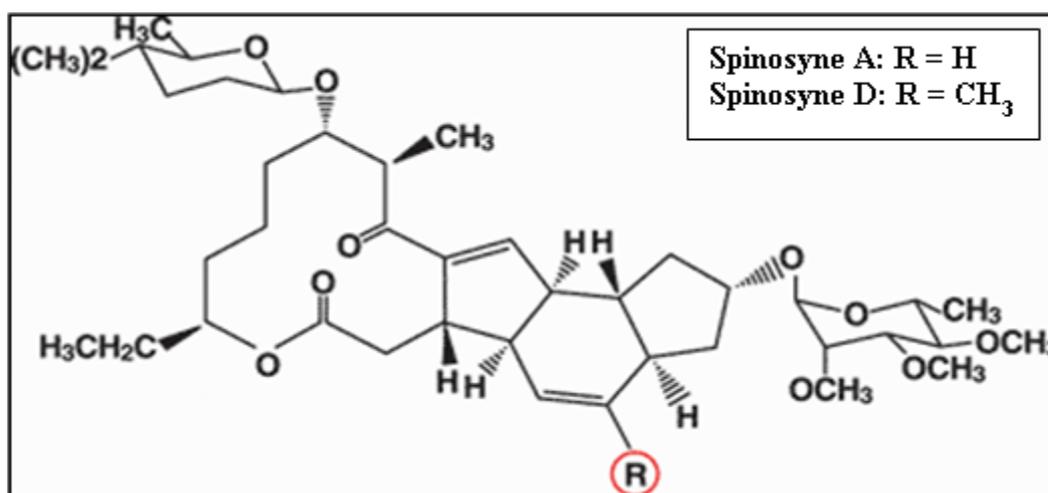


Figure 13. Structure chimique du Spinosad (Ishaaya & Horowitz, 1998)

3. Traitement des insectes et tests de toxicité

La formulation commerciale du Spinosad a été utilisée, par application topique (1 μ l par insecte) sur des larves du dernier stade de *T. absoluta*. Le Spinosad a été dilué dans l'acétone et après un screening préalable, différentes doses 30, 40, 80, 120, 240, 2400, 6000 ng ont été testées. L'essai pour chaque dose est conduit en utilisant 3 réplifications qui comportent chacune 30 insectes; une série témoin est conduite en parallèle et les individus reçoivent uniquement le solvant (1 μ l). Cette série d'expérience a été menée afin de caractériser la toxicité du Spinosad à l'égard de *T. absoluta* en déterminant les doses correspondant à 50 et 90% d'inhibition de la mue nymphale nommées ensuite DI_{50} et DI_{90} respectivement.

Les pourcentages d'inhibition observée pour les séries témoins et traitées, ont été obtenus à partir des mues nymphales incomplètes, des larves mortes ou bloquées dans leur exuvie. Ces valeurs sont ensuite corrigées selon Abbott (1925) afin d'éliminer la mortalité naturelle et / ou l'inhibition. Les pourcentages d'inhibition corrigées, après transformation angulaire (Fisher et Yates, 1957) subissent une analyse de variance suivie du test HSD de Tukey afin d'établir l'effet du pesticide et le classement des doses. Enfin, la régression non linéaire exprimant le pourcentage d'inhibition corrigée en fonction du logarithme de la dose a permis d'estimer, les doses d'inhibition DI_{50} et DI_{90} avec leurs limites de confiance (95% FL) et le Hill Slope. Tous les traitements utilisés ont été réalisés à la DI_{50} de la mue nymphale. L'échantillonnage a été menée pendant deux générations successives: la génération parent (G0) et sa descendance (G1) à différents stades de développement.

4. Extraction et dosage des métabolites

4.1. Extraction des métabolites

L'extraction des différents métabolites (protéines, glucides et lipides) a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.* (1966). Les corps entiers des larves, nymphes et adultes des

séries témoins et traitées de la G0 et la G1 de *T.absoluta* sont conservés dans 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20% jusqu'au dosage.

Tous les dosages ont été effectués sur des fractions aliquotes (100 µl), les teneurs dans les différents métabolites ont été quantifiés par des droites de régression déterminées à partir des courbes de références.

4.2. Dosage des métabolites

1. Dosage des protéines

Les protéines ont été quantifiées selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de coomassie¹ (G 250) comme réactif et l'albumine de sérum de bœuf (BSA) comme standard (1mg/ml) (**Tab. 2**) La lecture des absorbances est réalisée à une longueur d'onde de 595 nm (**Fig.15**).

Tableau 2. Dosage des protéines: réalisation de la gamme d'étalonnage.

BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

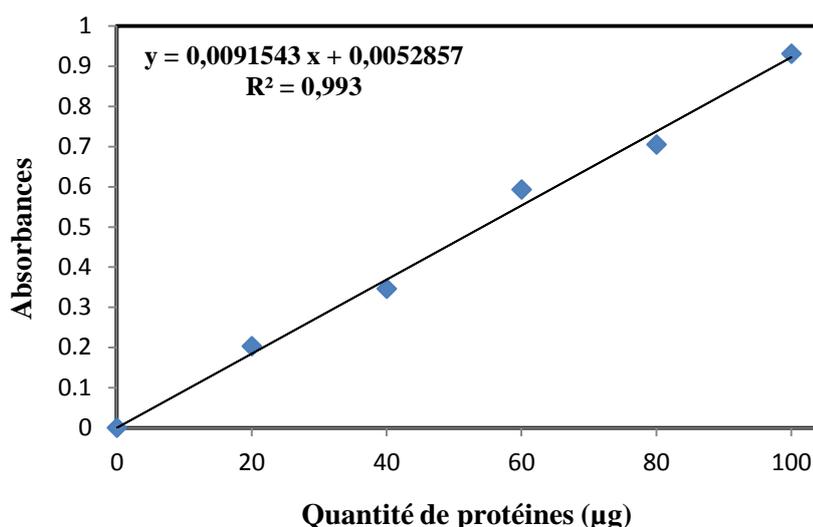


Figure 14. Dosage des protéines du corps: droite de régression exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (µg).

Le Bleu brillant de coomassie se prépare comme suit :

¹ - 100 mg de BBC + 50 ml d'éthanol + Agitation pendant deux heures + 100 ml d'acide ortho-phosphorique à 80% + eau distillée q.s.p. 1000 ml.

2. Dosage des glucides

Le dosage des glucides a été réalisé selon Duchateau & Florkin (1959). Cette méthode utilise l'anthrone¹ comme réactif et une solution mère de glucose (1g/l) comme standard (Tab. 3). La lecture des absorbances est réalisée à 620 nm (Fig.15).

Tableau 3. Dosage des glucides: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4

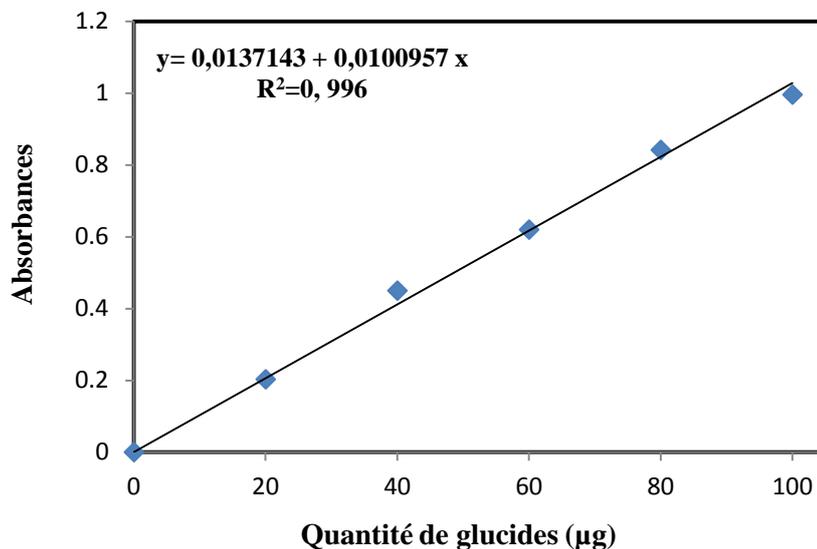


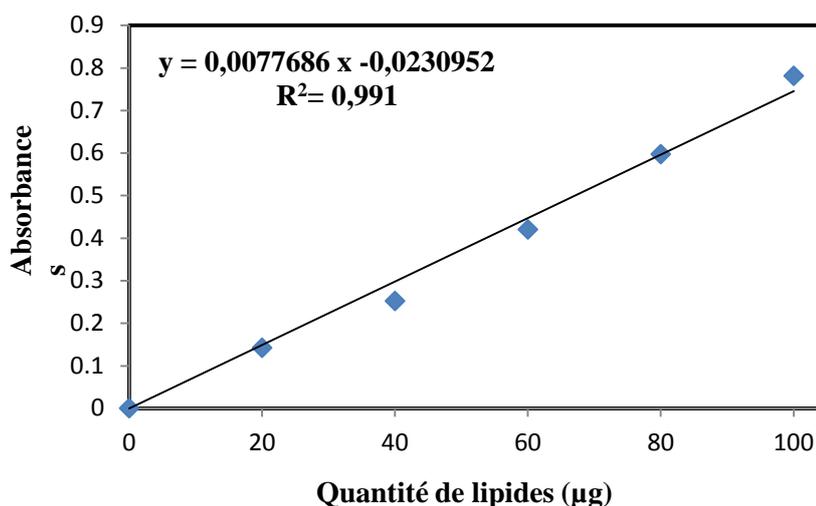
Figure 15. Dosage des glucides : droite de régression exprimant l'absorbance à 620 nm en fonction de la quantité de glucose (µg).

3. Dosage des lipides

Les lipides ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.*, 1972 utilisant la vanilline² comme réactif et une solution mère de lipides³ (2,5mg/ml) comme standard (Tab. 4). Les absorbances sont lues, après 30 minutes d'obscurité, à une longueur d'onde de 530 nm (Fig.17).

Tableau 4. Dosage des lipides: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Solution mère de lipides (μl)	0	20	40	60	80	100
Solvant Ether-Chloroforme (μl)	100	80	60	40	20	0
Vanilline (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5

**Figure 16.** Dosage des lipides du corps: droite de régression exprimant l'absorbance à 530 nm en fonction de la quantité d'huile de table (μg).

5. Dosage de la catalase (CAT)

Le dosage de la catalase (CAT), réalisé selon la méthode de Claiborne (1985), a permis l'évaluation de l'activité spécifique de la catalase. Cette méthode est basée sur la mesure spectrophotométrique de la réduction de l'eau oxygénée (H_2O_2) en une molécule d'oxygène (O_2) et deux molécules d'eau (H_2O) en présence de la CAT à une longueur d'onde UV de 240 nm. Les séries témoins et traitées de *T.absoluta*, échantillonnées à différents âges et stades de développement, sont homogénéisées dans 1ml de tampon phosphate ¹(0,1 M, pH7, 4) à l'aide d'un broyeur à ultrasons. L'homogénat, ainsi obtenu, est centrifugé (15,000 tours /min, pendant 10 min) puis le surnageant récupéré servira au dosage de la catalase. Le dosage s'effectue, à température ambiante, sur une fraction

aliquote de 50 µl de surnageant à la quelle on ajoute 750 µl de tampon phosphate (100 mM, pH 7,4) et 200 µl H₂O₂ (500 mM) préparé extemporanément [1,42 ml eau oxygénée à 30 volumes, 25 ml tampon phosphate (100 mM pH 7,4)]. Après agitation, la lecture est effectuée au spectrophotomètre (dans une cuve en quartz).

L'activité décroît rapidement, il est donc important de mettre toujours le même temps entre le pipetage du surnageant et le moment où la cuve est placée dans le spectrophotomètre. La lecture des absorbances est effectuée après 15 secondes toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde UV de 240 nm contre un blanc réalisé avec 800 µl de tampon phosphate (100 mM, pH 7,4) et 200 µl de H₂O₂. L'activité spécifique de la CAT est déterminée d'après la formule suivante:

$$\text{CAT (mMoles/min/mg protéines)} = \frac{\text{Lmax} - \text{Lmin}}{0,04} / \text{mg protéines}$$

Dans nos résultats, l'activité spécifique est exprimée en nMol/min/mg de protéines.

L max : Densité optique maximale enregistrée

L min : Densité optique minimale enregistrée

0.040 cm⁻¹. mMole⁻¹ : coefficient d'extinction moléculaire de l'eau oxygénée (à 240 nm).

Mg de protéines : La quantité de protéines totales préalablement déterminée, par un dosage selon la technique de Bradford (1976) explicitée plus haut.

6. Dosage de l'acétylcholinestérase (AChE)

Le dosage de l'activité de l'AChE a été mené selon la méthode d'Ellman *et al.*(1961) qui consiste à fournir à l'enzyme (AChE) un substrat artificiel, l'acétylthiocholine (ASCh) qui sera hydrolysé en acide acétique et thiocholine (SCh). Cette dernière en présence de DTNB (acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque) donne un produit jaune le TNB (acide 5-thio-2-nitrobenzoïque) que l'on dose à une longueur d'onde de 412nm.

Les têtes de *T.absoluta* (pool de trois têtes) des séries témoins et traitées sont homogénéisées dans 1 ml de solution détergente ¹. L'homogénat est centrifugé à une vitesse de 5000 tours/min pendant 5 min. Le surnageant est récupéré pour servir comme source d'enzyme.

Le dosage de l'activité de l'AChE est réalisé sur une fraction aliquote de 100 µl auquel on ajoute 100 µl de DTNB préparé extemporanément ¹. Après 3 à 5 minutes de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 100µl de substrat acétylthiocholine ² sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 minutes pendant 20 minutes à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc de gamme où 100 µl de la solution détergente remplacent la source d'enzyme. L'activité spécifique est déterminée selon la formule suivante :

$$\text{AChE (mM/min/mg de protéines)} = \frac{\Delta \text{DO/mn}}{1,36 \times 10^4} \times \frac{\text{Vt}}{\text{Vs}} / \text{mg de protéines}$$

Dans nos résultats, l'activité spécifique est exprimée en µM/min/mg de protéines.

X : micromoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines.

Δ DO : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat.

1,36 x 10⁴ (M-1 cm-1): coefficient d'extinction molaire du DTNB.

Vt: volume total de la cuve : 1,3 ml [0,1 ml homogénat + 0,1 ml DTNB + 1 ml tampon tris (0,1 M, pH 7) + 0,1 ml d'acétylthiocholine].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,1 ml.

Mg de protéines : La quantité de protéines totales préalablement déterminée par un dosage selon la technique de Bradford (1976) explicitée plus haut.

7. Dosage des glutathion S-transférases (GSTs)

Le dosage des GSTs est réalisé selon Habig *et al.*, (1974). Il consiste à fournir aux GSTs des substrats artificiels en général la GSH (Glutathion réduit, 5 mM) et le CDNB (1chloro 2-4-Dinitrobenzoïque, 1mM). La réaction de conjugaison entraîne la formation d'une molécule nouvelle, qui absorbe la lumière à une longueur d'onde de 340 nm. Les insectes décapités sont homogénéisés dans 1ml de tampon phosphate de sodium ³ (0,1M, pH 6) à l'aide d'un broyeur

1- (39,6 mg DTNB + 15 mg CO₃HNa) dans 10 ml tampon Tris (0,1 M, pH 7).

2- 23,6 mg acétylthiocholine + 1 ml eau distillée.

3- 17,805g Na₂ HPO₄ (a) dilué dans 500ml d'eau distillée.

4- 6,39g NaHPO₄ (b) dilué dans 500ml d'eau distillée.

61,5ml 438,5 ml de la solution b et ajouter 21,3925 g de saccharose.

4,052 mg de CDNB avec la solution a et 30,73 mg de GSH + 0,8 ml d'éthanol et 20 ml de tampon phosphate

à ultrasons et quatre à cinq répétitions sont réalisées. L'homogénat obtenu est centrifugé (1300 tours/min pendant 30 min) et le surnageant récupéré servira au dosage enzymatique des GSTs. Le protocole de dosage est réalisé comme suit : A une fraction aliquote du surnageant (0,2 ml) est ajouté 1,2 ml du mélange⁴ CDNB-GSH dans un tampon phosphate (0,1M ; pH6). La lecture se fait contre un blanc préparé dans les mêmes conditions (0,2 ml d'eau distillée remplaçant le surnageant) ; les densités optiques sont mesurées toutes les minutes pendant 5 minutes à 340 nm dans un spectrophotomètre contre un blanc contenant 0,2 ml d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant. L'activité spécifique des GSTs est déterminée d'après la formule suivante :

$$\text{GSTs (mMol/min/mg)} = \frac{\Delta \text{DO}}{9,6} \times \frac{V_t}{V_s} / \text{mg de protéines}$$

Dans nos résultats, l'activité spécifique est exprimée en $\mu\text{Mol/min/mg}$ de protéines.

X : micromoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines.

ΔDO : Pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat.

V_t : Volume totale de la cuve : 1,4 ml [1,2 ml du mélange CDNB/GSH + 0,2ml du surnageant].

9,6: mMol⁻¹ Cm⁻¹ coefficient d'extinction molaire du CDNB (à 340 nm).

V_s : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml.

Mg de protéines : La quantité de protéines totales préalablement déterminée par un dosage selon la technique de Bradford (1976) explicitée plus haut.

8. Extraction et dosage des vitellines et vitellogénines

8.1. Echantillonnage

Les nymphes et les adultes femelles de *T.absoluta*, provenant des séries témoins et traitées de la G0 et G1 sont échantillonnés. Après dissection, sous loupe binoculaire, les corps gras chez les nymphes et les ovaires chez les femelles adultes, sont prélevés et pesés. Les échantillons sont ensuite déposés dans des tubes contenant un tampon (Tris-HCl-NaCl) permettant l'extraction des vitellogénines chez les nymphes et des vitellines chez les adultes.

8.2. Extraction des vitellines et vitellogénines

1 - 3,02 g Tris (0.5 M) → dans 300 ml d'eau distillée et ajuster à ph 7,4 avec HCL (a).
2.9 g de NaCL (0.5 M) → dans 10 ml de la solution (a) et compléter a 100 ml d'eau distillée.

L'extraction des vitellines et vitellogénines est réalisée selon la méthode de Postlethwait *et al.*, (1980) et Fabre *et al.*, (1990). Les échantillons biologiques, conservés dans 500µl de tampon d'extraction Tris-HCl-NaCl¹(pH 7,4 ; 0.5 M)¹, sont broyés aux ultrasons puis l'homogénat obtenu est ensuite centrifugé à 5000 tours/min pendant 10 minutes. La fraction soluble obtenue est récupérée puis déposée dans un tube eppendorf. Les échantillons sont ensuite conservés au froid (-20°C) jusqu'au dosage.

8.3. Dosage des vitellines et des vitellogénines

Les vitellines et vitellogénines extraites ont été quantifiées selon la méthode de Bradford (1976) explicitée plus haut. Le dosage des vitellines et vitellogénines chez *T.absoluta* a été effectué dans une fraction aliquote de 100 µl.

9. Analyse statistique

Tous les résultats sont représentés par les moyennes \pm S.D du nombre de répétitions (n). L'homogénéité des variances a été vérifiée par le test de Shapiro Wilk. Les données de toxicité ont été analysées en utilisant la courbe logarithmique sigmoïde non linéaire, et l'activité insecticide du traitement a été évaluée sur la base des concentrations dose-réponse. La qualité de l'ajustement du modèle de courbe a été évaluée sur la base des valeurs de R²; en outre, les résultats ont été soumis à une analyse de variance suivie d'un test HSD de Tukey (Honest Significant Difference) pour le classement des doses.

Pour tous les paramètres testés, les différences significatives entre les séries, pour chaque stade de la même génération ont été déterminées en utilisant le test "t". Des différences significatives entre les générations ont été vérifiées par l'analyse de variance à 2 critères de classification (ANOVA). Toutes les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant Graph Pad Prism la version 6.01 pour le logiciel Windows (GraphPad Software Inc., www.graphpad.com).

RESULTATS

1. Evaluation de la toxicité du Spinosad chez *T. absoluta*

L'application topique du Spinosad, à différents doses (30, 60, 120, 240, 2400, 6000 ng), chez les larves du dernier stade de *T. absoluta*, induit une inhibition de la mue nymphale (Fig. 17). Les résultats révèlent, chez les séries témoins, un pourcentage d'inhibition naturelle de l'ordre de $7,50 \pm 1,42$ qui augmente en fonction de la dose chez les séries traitées. Les pourcentages de l'inhibition observée de la mue nymphale varient de $19,72 \pm 5,77$ à la dose la plus faible à $93,87 \pm 3,57$ à la dose la plus élevée.

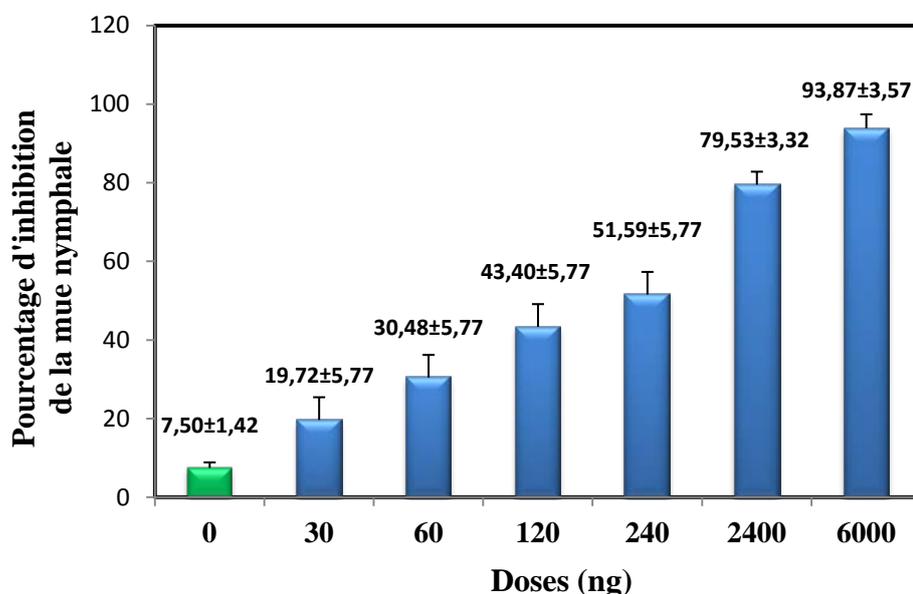


Figure 17. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de *T. absoluta*, sur la mue nymphale: Inhibition observée après traitement (m ± sd; n = 3 répétitions de 30 individus chacune).

Les pourcentages de l'inhibition corrigée de la mue nymphale, permettant de soustraire l'inhibition naturelle (Tab. 5), sont de l'ordre de $13,70 \pm 3,6$ à la dose la plus faible (30 ng) puis augmentent graduellement et atteignent une valeur de $93,00 \pm 0,66$ à la dose la plus élevée (6000 ng).

L'analyse statistique des résultats, présentée dans le **tableau 6**, révèle une relation dose réponse avec une différence hautement significative ($p < 0,001$). Un classement des doses réalisé, grâce au test HSD de Tukey, permet de classer les doses testées en fonction de leur toxicité (**Fig. 18**). Les résultats révèlent l'existence de cinq groupes présentant des effets différents du pesticide sur l'inhibition de la mue nymphale ; ainsi et dans un ordre croissant les doses sont : 30 et 60ng < 60 et 120 ng < 120 et 240 ng < 2400 ng < 6000 ng.

Tableau 5. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de *T.absoluta* : Inhibition corrigée (%) de la mue nymphale. ($m \pm sd$; $n = 3$ répétitions de 30 individus chacune).

Répétitions	30	60	120	240	2400	6000
R1	20	12,5	40	55	78	96
R2	10	33,33	37,50	44,44	81	89
R3	11,11	30	40	44,44	75	94
m \pm sd	13,70\pm3,60	25,27\pm6,48	39,16\pm0,83	47,96\pm3,52	78,00\pm2,00	93,00\pm0,66

Tableau 6. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de *T.absoluta*, sur le pourcentage d'inhibition corrigée de la mue nymphale : Analyse de la variance a un critère de classification ($n = 3$ répétitions de 30 individus chacune).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	6171,80	5	1234,40	58,96	$p < 0,001$ ***
Erreur résiduelle	251,20	12	20,90	-	-
Total	6423,00	17	-	-	-

*** : hautement significatif ($p < 0,001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p: niveau de significativité.

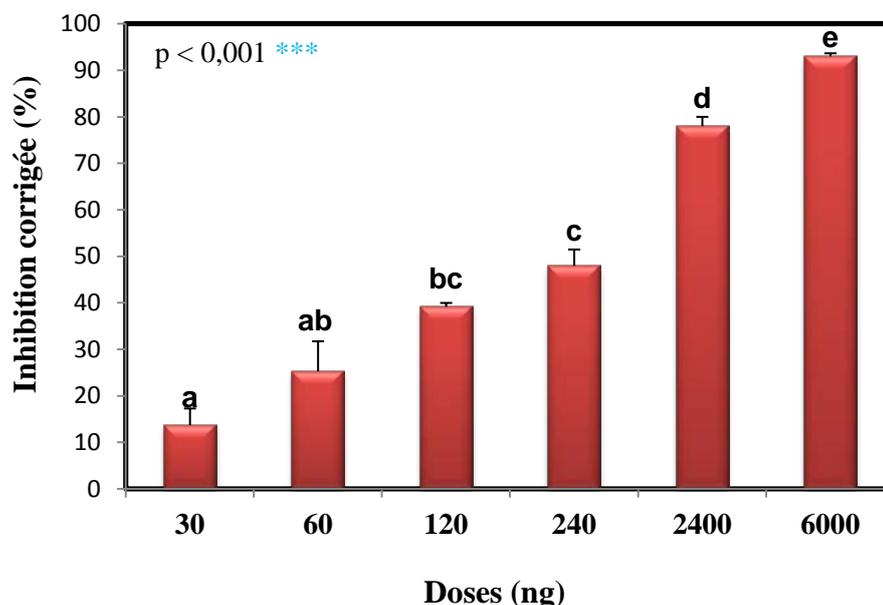


Figure 18. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de *T.absoluta* : Inhibition corrigée de la mue nymphale et classement des doses testées par le test HSD de Tuckey. ($m \pm sd$; les valeurs affectées d'une même lettre ne sont pas significativement différentes).

La détermination des doses d'inhibition 50 et 90 a ensuite été effectuée grâce à une régression non linéaire. Cette analyse a permis grâce à la courbe dose-réponse exprimant le pourcentage d'inhibition corrigée en fonction du logarithme de la dose du Spinosad de révéler un coefficient de détermination élevé ($R^2 = 0,99$) ; ceci révèle une liaison très forte entre le pourcentage d'inhibition corrigé et la dose. Les DI_{50} et DI_{90} précisées avec leur intervalle de confiance sont présentés dans le [tableau 7](#) ; les valeurs sont de l'ordre de 245,30 et 3881 ng pour les DI_{50} et 90 respectivement.

2. Effets du Spinosad sur les biomarqueurs enzymatiques

Le Spinosad administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245, 30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* à été évalué sur l'activité spécifique des GSTs, de la CAT et de l'AChE au cours des différents stades de développement chez les deux générations successives. Les résultats sont exprimés, pour les GSTs et l'AChE, en micromoles par minutes et par milligramme de protéines (µM/min/mg de protéines) mais pour la CAT en nanomoles par minutes et par milligramme de protéines (nM/min/mg de protéines).

2.1. Effets sur l'activité spécifique des GSTs chez la G0 et la G1

2.1.1. Effets chez les nymphes de la G0

Le Spinosad, appliqué chez les larves du dernier stade de *T. absoluta*, entraîne une augmentation de l'activité spécifique des GSTs (**Tab. 8**) chez les séries traitées comparativement aux séries témoins ; cette augmentation est observée chez les nymphes nouvellement exuviées ($p < 0,001$) et celles âgées de 6 jours ($p < 0,001$). Le Spinosad semble donc induire un processus de détoxication dès 48 heures.

Il est noté, également, une différence significative entre les âges chez la série témoin ($p=0.004$) et la série traitée ($p < 0,001$).

Tableau 7. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de *T.absoluta* : Détermination des doses d'inhibition de la mue nymphale (DI en ng) et leurs intervalles de confiance à 95%.

Spinosad	DI ₅₀	DI ₉₀	Hill Slope	R ²
	245, 30 [205,70 - 292,70]	3881 [2400 - 6275]	0,79 [0,67- 0,91]	0,99

Tableau 8. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéines) au cours du stade nymphal de la G0 (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).

Nymphes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	56,55 ± 3,90 a A	139,75 ± 2,70 b A
6	22,31 ± 1,40 a B	46,78 ± 0,70 b B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ((p<5 %).

2.1.2. Effets chez les adultes de la G0

L'activité spécifique des GSTs, chez les adultes de *T.absoluta* après traitement des larves au Spinosad, augmente de manière significative (p < 0,001) comparativement à la série témoin (**Tab. 9**). L'induction des GSTs est observée chez les adultes, le jour de l'exuviation mais aussi au jour 7 (p < 0,001).

Chez les individus traités, une diminution dans les valeurs des GSTs, est observée entre les deux âges (p = 0,003) ; cependant, chez les séries témoins, aucune différence significative n'est notée entre les âges (p= 0,491).

Tableau 9. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéines) au cours du stade adulte de la G0 (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6)

Adultes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	78,24 ± 2,90 a A	243,50 ± 11,00 b A
7	73,60 ± 5,40 a A	109,02 ± 4,10 b B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ((p<5 %).

2.1.3. Effets chez les larves de la G1

L'activité spécifique des GSTs, chez les larves de la génération 1 après traitement des larves de la génération parent de *T. absoluta* (Tab. 10), révèle une augmentation significative dans leur valeur et ce, comparativement aux témoins ($p= 0.007$).

Tableau 10. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).

Larves (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
4	52,66 \pm 3,30 a	111,80 \pm 6,80 b

2.1.4. Effets chez les nymphes de la G1

Après traitement au Spinosad des larves de la génération parent, l'activité spécifique des GSTs chez les nymphes de la G1 de *T. absoluta*, augmente de manière très significative comparativement aux témoins (Tab. 11) ; ceci pour les deux âges évalués 0 ($p < 0,001$) et 6 jours ($p < 0,001$). Au cours du stade nymphal et pour chaque série, une diminution de l'activité des GSTs est notée entre 0 et 6 jours chez les séries témoins ($p < 0,001$) et traitées ($p = 0,001$).

Tableau 11. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	60,06 \pm 2,90 a A	111,80 \pm 5,30 b A
6	21,71 \pm 1,30 a B	46,66 \pm 0,87 b B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

2.1.5. Effet chez les adultes de la G1

Les adultes de *T. absoluta* de la G1, montrent des valeurs de l'activité spécifique des GSTs qui sont significativement différentes entre les individus témoins et traités au Spinosad au cours de la génération précédente (Tab.12); ainsi, les résultats obtenus indiquent une augmentation significative le jour de l'exuviation adulte ($p < 0,001$) mais aussi au jour 7 après la mue imaginale ($p < 0,001$). Il est noté, chez les séries traitées, une diminution des GSTs entre les deux âges évalués ($p = 0,005$); chez les individus témoins, aucune différence significative n'est observée ($p = 0,188$).

Tableau 12. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Adultes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	67,33 \pm 2,80 a A	199,30 \pm 14,00 b A
7	72,45 \pm 1,50 a A	92,80 \pm 0,47 b B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

2.1.6. Effet sur les GSTs : Comparaison entre les deux générations

Après traitement au Spinosad, au cours du dernier stade larvaire de *T. absoluta*, l'activité spécifique des GSTs augmente de manière très significative comparativement aux témoins; cette augmentation, observée dès l'exuviation nymphale de la G0, est notée à tous les stades de développement et à tous les âges testés au cours des deux générations successives. A la génération parents ou G0, les valeurs enregistrées, chez les individus traités, comparativement aux témoins, sont respectivement deux à trois fois plus importantes chez les nymphes (jour 0: $t_6 = 17,41$, $p < 0,001$; jour 6: $t_6 = 15,52$, $p < 0,001$) et chez les adultes de la

G0 à l'exuviation mais aussi au jour 7 (jour 0: $t_6 = 11,42$, $p < 0,001$; jour 7: $t_6 = 5,24$, $p = 0,002$). Cet effet est retrouvé, à la génération suivante (G1), chez les larves (jour 4: $t_6 = 8,36$, $p < 0,001$), les nymphes (jour 0: $t_6 = 8,62$, $p < 0,001$; jour 6: $t_6 = 15,74$, $p < 0,001$) et les adultes le jour de l'exuviation (jour 0: $t_6 = 9,05$, $p < 0,001$; jour 7: $t_6 = 12,58$, $p < 0,001$). Il faut cependant, préciser que l'induction de l'enzyme de détoxification, est plus importante à la G0 comparativement à la G1 (**Fig. 19**). L'analyse de la variance a deux critères de classification (**Tab. 13**) confirme ces résultats et révèle des différences hautement significatives pour l'effet génération ($F_{3, 48} = 190,03$, $p < 0,001$), l'effet stade ($F_{3, 48} = 254,29$, $p < 0,001$) et l'interaction génération-stade ($F_{9, 48} = 35,13$, $p < 0,001$). Ces résultats révèlent donc un nouvel élément qui est l'effet différé du Spinosad au niveau de la descendance démontrant ainsi une rémanence du Spinosad.

Tableau 13. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($n = 4$ à 6). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Génération	76164	3	25388	190,03	$P < 0,001$ ***
Stade	101919	3	33973	254,29	$P < 0,001$ ***
Interaction	42241	9	4693	35,13	$P < 0,001$ ***
Erreur résiduelle	6413	48	134		

*** : hautement significatif ($p < 0,001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p: niveau de significativité.

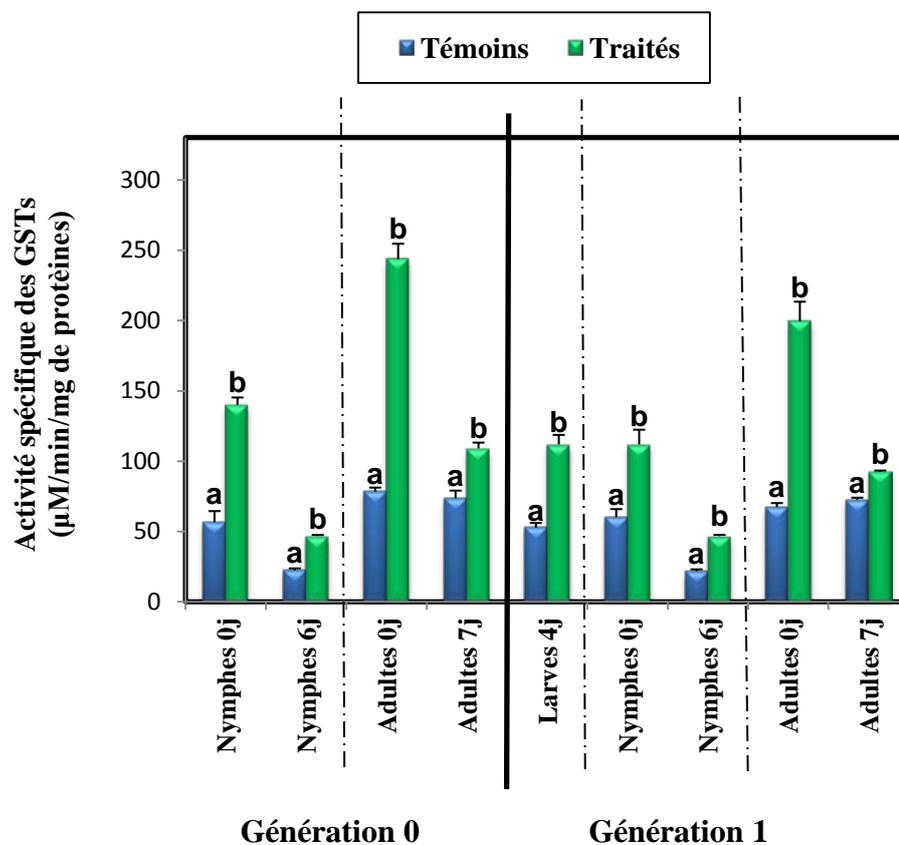


Figure 19. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm \text{sd}$; $n = 4$ à 6).

2.2. Effets sur l'activité spécifique de la CAT pour la G0 et la G1

2.2.1. Effets chez les nymphes de la G0

Chez *T. absoluta*, la catalase, enzyme du stress oxydatif, présente une activité spécifique qui augmente significativement, chez les nymphes traitées au Spinosad comparativement aux témoins ($p < 0,001$). Le Spinosad induit une augmentation de la CAT chez les nymphes, le jour de l'exuviation (0 jours, $p = 0,039$) mais aussi au jour 6 après la mue nymphale ($p = 0,002$) (Tab.14). Cependant, aucune différences significative n'est notée entre les deux âges dans la série témoin ($p = 0,088$) ou la série traitée ($p = 0,145$).

Tableau 14. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (nM/min/mg de protéines) au cours du stade nymphal de la G0 (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).

Nymphes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	51,92 ± 3,80 a A	64,43 ± 2,80 b A
6	42,31 ± 2,50 a A	77,20 ± 6,50 b A

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries (p<5 %).

2.2.2. Effets chez les adultes de la G0

Les résultats obtenus, chez les adultes de *T.absoluta*, indiquent une augmentation très significative de l'activité spécifique de la CAT entre les séries témoins et celles traitées au Spinosad (**Tab. 15**). Ce résultat est observé le jour de l'exuviation adulte (p = 0,001) mais aussi chez les adultes âgés de 7 jours (p = 0,002). Par ailleurs, les valeurs de l'activité spécifique de la CAT présentent une diminution significative, entre les deux âges évalués, chez les séries témoins (p=0,068) et traitées (p=0,040).

Tableau 15. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (nM/min/mg de protéines) au cours du stade adulte de la G0 (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).

Adultes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	67,84 ± 3,30 a A	117,90 ± 8,00 b A
7	57,41 ± 3,01 a B	90,70 ± 5,80 b B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ((p<5 %).

2.2.3. Effets chez les larves de la G1

Le Spinosad, appliqué chez les larves du dernier stade de *T. absoluta*, entraîne une augmentation significative ($p = 0,013$) de l'activité spécifique de la CAT chez les larves de la génération suivante (Tab. 16).

Tableau 16. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (nM/min/mg de protéines) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Larves (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
4	61,02 ± 3,70 a	85,10 ± 5,80 b

2.2.4. Effets chez les nymphes de la G1

Les résultats obtenus révèlent un stress oxydatif chez les nymphes de la G0 (Tab. 17), démontré par l'évaluation de l'activité spécifique de la CAT, qui augmente de manière significative chez les individus traités au Spinosad comparativement à ceux de la série témoin. Les valeurs de l'activité spécifique de la CAT, sont significativement plus importantes chez les nymphes nouvellement exuviées ($p = 0,040$) et celles âgées de 6 jours ($p = 0,002$). L'analyse statistique, effectuée entre les deux âges d'un même stade, ne révèle aucune différence significative chez les séries témoins ($p=0,064$) et traitées ($p=0,094$).

Tableau 17. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (nM/min/mg de protéines) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	57,60 ± 2,90 a A	71,59 ± 4,50 b A
6	49,08 ± 0,71 a A	60,75 ± 2,10 b A

- Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

2.2.5. Effets chez les adultes de la G1

L'activité spécifique de la CAT chez les adultes de la G1 montrent des valeurs comparables entre les séries témoins et celles traitées (Tab. 18); ce résultat est observé le jour de l'exuviation ($p = 0,553$) et chez les adultes âgés de 7 jours ($p = 0,357$). Le stress oxydatif, précisé dans les stades précédents (G0 et G1), n'est plus noté chez les adultes de la G1. La comparaison entre les âges ne révèle aucune différence significative chez les séries traités ($p = 0,980$) mais indique une diminution chez les séries témoins entre 0 et 7 jours ($p=0,024$).

Tableau 18. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (nM/min/mg de protéines) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Adultes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	67,33 ± 2,00 a A	63,60 ± 5,50 a A
7	59,72 ± 1,30 a B	63,47 ± 3,50 a A

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

2.2.6. Effets sur la CAT : comparaison entre les deux générations

Chez *T. absoluta*, la CAT, enzyme du stress oxydatif, présente une activité spécifique qui augmente significativement, chez les séries traitées comparativement aux témoins chez les deux générations successives. Le profil de cette enzyme, en parfaite corrélation avec celui des GSTs, révèle un stress oxydatif dès le jour 0 de la nymphe de la G0 (N0: $t_6=2,64$, $p = 0,039$; N6 : $t_6=5,04$, $p = 0,002$) au jour 6 du stade nymphal de la génération suivante ou G1 (N0 : $t_6 = 2,62$, $p = 0,040$; N6: $t_6 = 5,28$, $p = 0,002$). Les valeurs de l'activité spécifique de la catalase, comparativement aux témoins, restent significatives chez les adultes de la G0 (A0: t_6

=5,80, $p = 0,001$; A7: $t_6 = 5,09$, $p = 0,002$) mais aussi chez les larves (L4: $t_6 = 3,51$, $p = 0,013$) (Fig.

20). Ainsi, chez les adultes de la G1 (aux jours 0 et 7), le stress oxydatif n'est plus observé et les séries traitées au Spinosad retrouvent des valeurs comparables aux témoins (A0: $t_6 = 0,63$, $p = 0,553$; A7: $t_6 = 1,00$, $p = 0,357$). L'analyse de la variance à deux critères de classification montre que le stress oxydatif est plus important à la G0 comparativement à la G1 (Tab. 19). Des différences significatives sont notées pour les critères génération ($F_{3, 48} = 51,11$, $p < 0,001$), stade ($F_{3, 48} = 21,59$, $p < 0,001$) mais aussi pour l'interaction génération-stade ($F_{9, 48} = 6,98$, $p < 0,001$). L'induction de l'activité spécifique de la CAT, notée aussi avec un effet différé, présente un mécanisme constituant la première étape de défense contre le stress oxydant induit par le Spinosad.

Tableau 19. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, ($DI_{50} : 245,30$ ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (nM/min/mg de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($n = 4$ à 6). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Génération	10339,6	3	344,5	51,11	$P < 0,001$ ***
Stade	4367,4	3	1455,8	21,59	$P < 0,001$ ***
Interaction	4235,5	9	470,6	6,98	$P < 0,001$ ***
Erreur résiduelle	3237,0	48	67,4		

*** : hautement significatif ($p < 0,001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p: niveau de significativité.

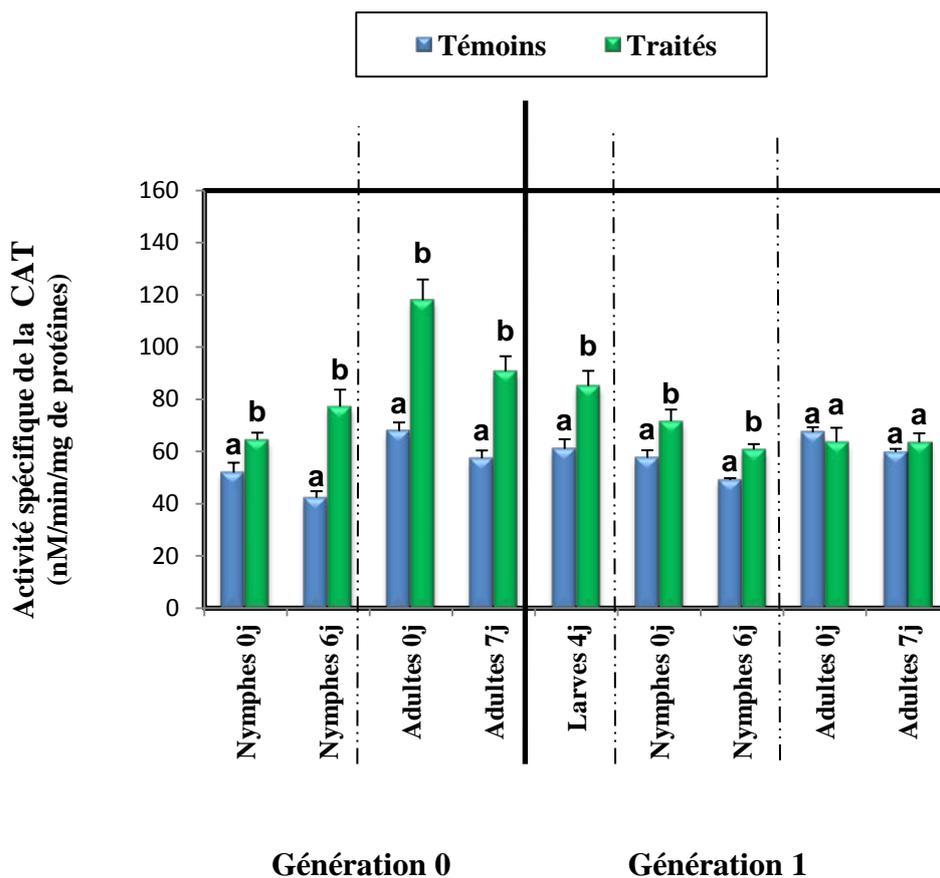


Figure 20. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI 50 : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (nM/min/mg de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (jours 0, 6) et adultes (jours 0, 7) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

2.3. Effet du Spinosad sur l'activité spécifique de l'AChE chez la G0 et la G1.

2.3.1. Effets chez les nymphes de la G0

Les valeurs de l'activité spécifique de l'AChE, chez les nymphes de *T. absoluta* traitées au Spinosad au cours du dernier stade larvaire, ne révèlent aucune différence significative comparativement aux témoins (**Tab. 20**); en effet, des valeurs comparables sont retrouvées chez les nymphes nouvellement exuviées ($p = 0,053$) mais aussi chez celles âgées de 6 jours ($p = 0,339$). L'analyse statistique effectuée pour chaque série montre une différence significative entre les âges testés chez les séries témoins ($p < 0,001$) et celles traitées ($p < 0,001$).

Tableau 20. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade nymphal de la G0 (0 et 6 jours) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	5,18 \pm 0,11 a A	4,79 \pm 0,12 a A
6	1,78 \pm 0,12 a B	1,90 \pm 0,04 a B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

2.3.2. Effets chez les adultes de la G0

Les résultats obtenus révèlent un effet neurotoxique chez les adultes de *T. absoluta* traités au Spinosad au cours du dernier stade larvaire (Tab. 21); en effet et, comparativement à la série témoin, l'activité spécifique de l'AChE diminue de manière significative chez les adultes nouvellement exuviés ($p = 0,002$) et ceux âgés de 7 jours traités ($p = 0,017$). Cependant, l'analyse statistique effectuée entre les deux âges du même stade montre des valeurs comparables chez les séries témoins ($p=0,262$) et celle traitées ($p=0,649$).

Tableau 21. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade adulte de la G0 (0 et 7 jours) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).

Adultes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	5,19 \pm 0,25 a A	3,72 \pm 0,13 b A
7	4,75 \pm 0,24 a A	3,85 \pm 0,13 b A

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

2.3.3. Effets chez les larves de la G1

L'analyse statistique des résultats chez les larves de la G1, révèle que le Spinosad induit une diminution très significative ($p = 0,009$) de l'activité spécifique de l'AChE après traitement des larves de la génération parent ou G0 (Tab. 22).

Tableau 22. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Larves (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
4	2,21 \pm 0,17 a	1,49 \pm 0,09 b

2.3.4. Effets chez les nymphes de la G1

Les valeurs de l'activité spécifique l'AChE, chez les nymphes de la G1, sont significativement plus basses chez les séries traitées par rapport aux témoins (Tab. 23); en effet, cette inhibition est notée chez les nymphes nouvellement exuviées ($p < 0,001$) et celles âgées de 7 jours ($p = 0,010$). En outre, la comparaison des moyennes effectuées entre les deux âges d'une même série révèle une diminution très significative entre les âges chez les séries témoins ($p < 0,001$) et traitées ($p = 0,002$).

Tableau 23. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	5,13 \pm 0,04 a A	3,31 \pm 0,20 b A
6	1,76 \pm 0,12 a B	1,32 \pm 0,02 b B

- Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

2.3.5. Effets chez les adultes de la G1

Les activités spécifiques de l'AchE, chez les adultes de la G1 issus des larves de la G0 traitées au Spinosad, révèlent une baisse significative dans les valeurs obtenues, par rapport aux séries témoins (Tab. 24). Cette inhibition de l'AchE, notée seulement à l'émergence des adultes ($p = 0,001$) n'est plus observée chez les individus âgés de 7 jours ($p = 0,597$). Par ailleurs, les valeurs de l'activité spécifique de l'AchE, entre les âges, n'indiquent aucune différence significative aussi bien chez témoins ($p=0,845$) que chez les traités ($p = 0,065$).

Tableau 24. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).

Adultes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	4,92 \pm 0,19 a A	3,46 \pm 0,15 b A
7	4,98 \pm 0,23 a A	4,71 \pm 0,41 a A

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

2.3.6. Effets sur l'AChE : comparaison entre les deux générations

Les valeurs de l'activité spécifique de l'AChE, chez *T. absoluta*, sont significativement plus basses chez les séries traitées par rapport aux témoins ; cette inhibition de l'AChE est notée dès l'émergence des adultes de la G0 (jour 0: $t_6 = 5,26$, $p = 0,002$; jour 7: $t_6 = 3,26$, $p = 0,017$) et se retrouve à tous les stades de développement de la génération suivante ou G1, avec les larves (jour 4 : $t_6 = 3,78$, $p = 0,009$), les nymphes (jour 0 : $t_6 = 8,74$ $p < 0,001$; jour 6: $t_6 = 3,72$, $p = 0,010$) et les adultes le jour de l'émergence seulement (jour 0: $t_6 = 6,00$, $p = 0,001$). L'inhibition de l'acétylcholinestérase est plus importante en G1 par rapport à la G0 (Fig. 21). Des différences significatives sont notées pour les critères génération ($F_{3, 48} = 29,67$, p

<0,001), stade ($F_{3, 48} = 237,74$, $p < 0,001$) et interaction génération-stade ($F_{9, 48} = 8,20$, $p < 0,001$) (Tab. 25). Ces résultats confirment l'effet différé du Spinosad ; en outre, l'inhibition de l'AChE plus drastique en G1, semble être en faveur d'une action indirecte de ce pesticide sur ce site non cible.

Tableau 25. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($n = 4$ à 6). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Génération	11,88	3	3,96	29,67	$P < 0,001$ ***
Stade	95,25	3	31,75	237,74	$P < 0,001$ ***
Interaction	9,85	9	1,09	8,20	$P < 0,001$ ***
Erreur résiduelle	6,41	48	0,13	-	

*** : hautement significatif ($p < 0,001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p: niveau de significativité.

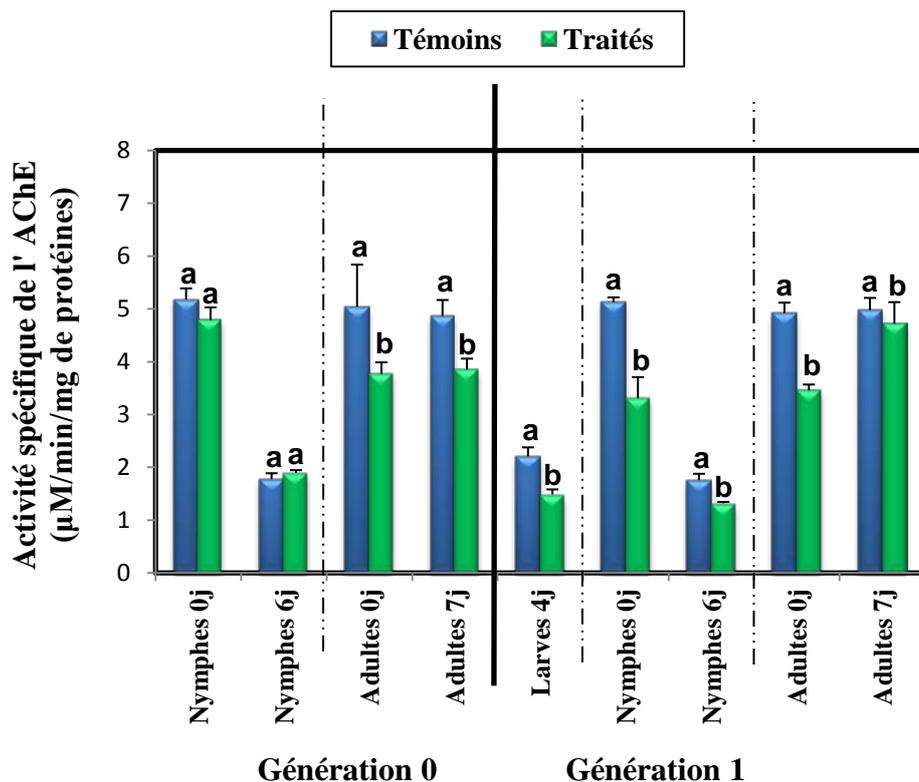


Figure 21. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur l'activité spécifique de l'AChE ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

3. Effets du Spinosad sur les métabolites dans le corps entier

L'étude biochimique a permis de déterminer chez *T. absoluta*, au cours des différents stades et pour les deux générations, les contenus corporels des principaux métabolites (protéines, glucides, lipides) dans le corps entier chez les séries témoins et traitées au Spinosad (DI_{50} : 243,50 ng).

3.1 Effets sur les protéines chez la G0 et la G1

3.1.1. Effets chez les nymphes de la G0

Le Spinosad, appliqué chez les larves du dernier stade de *T. absoluta*, n'entraîne aucune diminution dans le contenu en protéines chez les nymphes de *T. absoluta* nouvellement exuviées ($p = 0,944$) et âgées de 6 jours ($p = 0,155$) de la G0 (**Tab. 26**).

Cependant, les résultats obtenus après analyse statistique, effectuée pour une même série, révèlent des différences significatives entre les deux âges testés chez les séries témoins ($p=0,006$) et traitées ($p < 0,001$).

Tableau 26. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en protéines dans le corps entier ($\mu\text{g} / \text{mg}$) au cours du stade nymphal de la G0 (0 et 6 jours) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	14,41 \pm 1,30 a A	14,31 \pm 0,33 a A
6	4,67 \pm 0,41 a B	3,84 \pm 0,31 a B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

3.1.2. Effets chez les adultes de la G0

Chez les adultes de la G0, le Spinosad induit une diminution très significative chez les séries traitées par rapport aux témoins (**Tab. 27**); les valeurs dans le contenu en protéines sont plus basses chez les adultes nouvellement exuviés ($p = 0,001$) et ceux âgés de 7 jours ($p = 0,010$). Une diminution est également observée pour ce même paramètre entre les âges chez les séries témoins ($p < 0,001$) et celles traitées ($p=0,002$).

Tableau 27. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en protéines dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade adulte de la G0 (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).

Adultes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	14,41 ± 1,30 a A	14,31 ± 0,33 a A
6	4,67 ± 0,41 a B	3,84 ± 0,31 a B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ((p<5 %).

3.1.3. Effets chez les larves de la G1

Les résultats obtenus, chez les larves de la G1 de *T. absoluta*, révèlent une diminution significative (p= 0,007) dans le contenu des protéines comparativement aux témoins (Tab. 28).

Tableau 28. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur le contenu en protéines dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) (m ± sd; n = 4 à 6).

Larves (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
4	4,49 ± 0,28 a	3,28 ± 0,10 b

3.1.4. Effets chez les nymphes de la G1

Les nymphes de la G1, provenant des larves de *T. absoluta* traitées au Spinosad au cours de la G0, présentent une diminution dans les valeurs du contenu en protéines corporelles par rapport aux témoins (Tab. 29). Ce résultat est observé chez les nymphes nouvellement

exuviées ($p=0.016$) mais aussi chez celles âgées de 6 jours ($p = 0,011$). Les analyses statistiques effectuées entre les deux âges pour une même série indiquent une baisse dans le contenu en protéines chez les séries témoins ($p=0,001$) mais aussi chez les séries traitées ($p < 0,001$).

Tableau 29. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, ($DI_{50} : 245,30$ ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur le contenu en protéines dans le corps entier ($\mu\text{g} / \text{mg}$) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	14,18 \pm 1,10 a A	10,33 \pm 0,46 b A
6	4,63 \pm 0,45 a B	2,89 \pm 0,16 b B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

3.1.5. Effets chez les adultes de la G1

Les adultes de la G1, traités au Spinosad au cours du dernier stade larvaire de la G0, montrent, comparativement aux séries témoins, une diminution significative ($p = 0,005$) dans le contenu en protéines le jour de l'exuviation seulement (**Tab. 30**) ; en effet, des valeurs similaires aux témoins sont retrouvées au jour 7 après émergence ($p = 0,321$). Par ailleurs, les valeurs du contenu en protéines entre les âges révèlent une baisse significative chez les séries témoins ($p < 0,001$) mais aussi traitées ($p < 0,001$).

Tableau 30. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur le contenu en protéines dans le corps entier ($\mu\text{g}/\text{mg}$) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) ($m \pm \text{sd}$; $n= 4 \text{ à } 6$).

Adultes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	13,61 \pm 0,34 a A	11,57 \pm 0,32 b A
7	5,85 \pm 0,24 a B	5,40 \pm 0,34 a B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

3.1.6. Effets sur les protéines : comparaison entre les deux générations

Le Spinosad, appliqué chez les larves du dernier stade de *T. absoluta*, entraîne une diminution dans le contenu en protéines chez les adultes de la même génération (G0) à 0 et 7 jours (jour 0 : $t_6 = 6,13$, $p = 0,001$; jour 7 : $t_6 = 3,73$, $p = 0,010$) ; cet impact du Spinosad est retrouvé chez la génération suivante, à tous les stades de développement et aux différents âges testés (Fig. 22). En effet, la diminution dans le contenu en protéines est enregistrée chez les larves ($p = 0,007$), les nymphes aux jours 0 et 6 (jour 0 : $t_6 = 3,33$; $p = 0,016$; jour 6 : $t_6 = 3,66$, $p = 0,011$) et les adultes le jour de l'émergence seulement (jour 0 : $t_6 = 4,37$, $p = 0,005$) ; des valeurs comparables sont notées au jour 7 (A7 : $p = 0,321$). L'analyse de la variance, effectuée entre les séries témoins et traitées (Tab. 31) révèle un effet génération ($F_{3,48} = 16,24$, $p < 0,001$), un effet stade ($F_{3,48} = 312,73$, $p < 0,001$) et une interaction génération-stade hautement significatifs ($F_{9,48} = 4,49$, $p < 0,001$). Le Spinosad agit donc avec un effet différé sur le contenu en protéines et le retour à des normes physiologiques est positivement corrélé avec la baisse dans les valeurs du stress oxydatif et au processus de détoxication.

Tableau 31. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($n = 4$ à 6). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Génération	56,133	3	18,711	16,24	$P < 0,001$ ***
Stade	1080,943	3	360,314	312,73	$P < 0,001$ ***
Interaction	46,530	9	5,170	4,49	$P < 0,001$ ***
Erreur résiduelle	55,304	48	1,152	-	-

*** : hautement significatif ($p < 0,001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p: niveau de significativité.

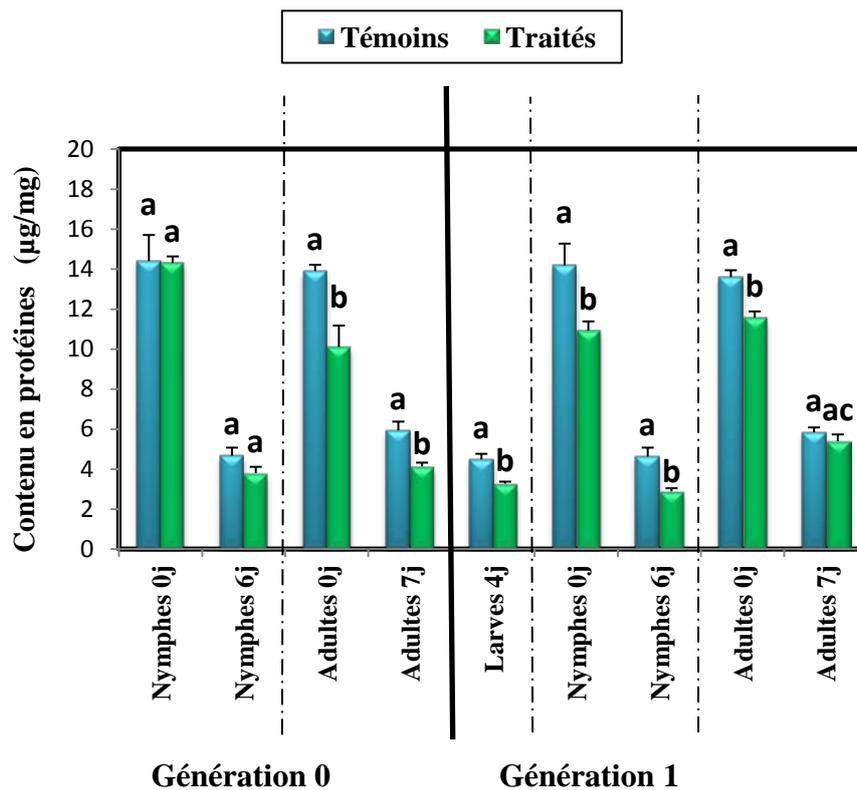


Figure 22. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en protéines ($\mu\text{g}/\text{mg}$), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm \text{sd}$; $n = 4-6$).

3.2. Effets sur les glucides chez la G0 et la G1

3.2.1. Effets chez les nymphes de la G0

Le Spinosad, appliqué chez les larves du dernier stade de *T. absoluta*, induit une diminution dans le contenu en glucides ($p = 0,004$) chez les nymphes âgées de 6 jours mais aucun impact n'est noté à l'exuviation (0 jour : $p = 0,709$) (**Tab. 32**). L'analyse statistique effectuée entre les âges pour une même série révèle une baisse dans le contenu en glucides chez les séries témoins ($p = 0,011$) et traitées ($p = 0,001$).

Tableau 32. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, ($DI_{50} : 245,30$ ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en glucides dans le corps entier ($\mu\text{g}/\text{mg}$) au cours du stade nymphal de la G0 (0 et 6 jours) ($m \pm \text{sd}$; $n = 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	43,02 \pm 3,70 a A	44,67 \pm 1,90 a A
6	21,78 \pm 0,55 a B	18,81 \pm 0,38 b B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

3.2.2. Effets chez les adultes de la G0

Le Spinosad induit, chez les adultes de la G0, une diminution hautement significative dans le contenu en glucides chez les séries traitées comparativement aux témoins (**Tab. 33**). Cet impact est noté au jour 0 ($p < 0,001$) mais aussi au jour 7 ($p = 0,007$). Les valeurs dans le contenu en glucides montre une baisse entre les deux âges testés chez les séries témoins ($p < 0,001$) mais aussi traitées ($p = 0,018$).

Tableau 33. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en glucides dans le corps entier ($\mu\text{g}/\text{mg}$) au cours du stade adulte de la G0 (0 et 7 jours) ($m \pm sd$; $n= 4 \text{ à } 6$).

Adultes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	39,32 \pm 1,50 a A	23,15 \pm 1,30 b A
7	20,62 \pm 0,88 a B	16,63 \pm 0,46 b B

- Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

3.2.3. Effets chez les larves de la G1

L'analyse statistique des résultats obtenus chez les larves de la G1, après traitement des larves de la G0, montre que le Spinosad induit une diminution dans le contenu en glucides chez les séries traitées par rapport aux séries témoins ($p=0,004$) (Tab. 34).

Tableau 34. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en glucides dans le corps entier ($\mu\text{g}/\text{mg}$) au cours du stade larvaire de la G1 (jour 4) ($m \pm sd$; $n= 4 \text{ à } 6$).

Larves (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
4	42,38 \pm 0,79 a	32,38 \pm 2,00 b

3.2.4. Effets chez les nymphes de la G1

Les résultats obtenus indiquent que le Spinosad induit une diminution significative dans le contenu en glucides chez les nymphes de la G1, après traitement des larves de dernier stade de la G0 (Tab. 35). Cet impact, observé chez les nymphes nouvellement exuviées ($p < 0,001$), n'est plus noté au jour 6 du stade nymphal ; en effet, des valeurs comparables sont enregistrées entre les séries témoins et traitées ($p = 0,130$). L'analyse statistique, effectuée

entre les âges pour une même série, révèle une baisse dans les valeurs en glucides chez les séries témoins ($p = 0,004$) seulement (traités : $p = 0,588$).

Tableau 35. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, ($DI_{50} : 245,30$ ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur le contenu en glucides dans le corps entier ($\mu\text{g}/\text{mg}$) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	38,92 ± 2,00 a A	19,96 ± 1,50 b A
6	22,53 ± 0,73 a B	20,97 ± 0,51 a A

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

3.2.5. Effets chez les adultes de la G1

Chez les adultes de la G1, le Spinosad n'induit aucune diminution dans le contenu en glucides comparativement aux témoins (0 jour : $p = 0,062$; 7 jours : $p = 0,766$) ; ainsi, pour les adultes de la G1, un retour à des normes physiologiques est constaté (Tab. 36). Par ailleurs, les analyses statistiques, effectuées entre les deux âges pour une même série, indiquent une diminution dans le contenu des glucides chez les séries témoins ($p < 0,001$) et traitées ($p < 0,001$).

Tableau 36. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, ($DI_{50} : 245,30$ ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur le contenu en glucides dans le corps entier ($\mu\text{g}/\text{mg}$) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Adultes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	39,45 ± 1,40 a A	35,02 ± 1,13 a A
7	21,17 ± 0,78 a B	20,77 ± 1,00 a B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

3.2.6. Effets sur les glucides : comparaison entre les deux générations

Le contenu en glucides corporels, après traitement au Spinosad, baisse significativement, par rapport aux témoins, du jour 6 du stade nymphal de la G0 au jour 6 de la nymphe de la G1. En effet, des différences significatives sont observées, pour la G0, chez les nymphes au jour 6 (jour 6: $t_6 = 4,46$, $p = 0,004$) et les adultes aux jours 0 et 7 (jour 0: $t_6 = 8,09$, $p < 0,001$; jour 7: $t_6 = 4,03$, $p = 0,007$) et, pour la G1, chez les larves (jour 4: $t_6 = 4,57$, $p = 0,004$), et les nymphes le jour de l'émergence seulement (jour 0: $t_6 = 7,62$, $p < 0,001$). Des valeurs similaires aux témoins sont ensuite retrouvées, dès le jour 6 du stade nymphal de la G1. L'effet différé du Spinosad est donc aussi observé pour le contenu en glucides. Il est noté, cependant, chez les individus traités, des valeurs plus importantes en glucides le jour de l'émergence des adultes de la G1 comparativement aux adultes de la G0 (Fig. 23) ; ceci peut être en faveur d'une restauration de la normalité physiologique. L'analyse statistique révèle un effet génération ($F_{3,48} = 21,77$, $p < 0,001$), un effet stade ($F_{3,48} = 139,36$, $p < 0,001$) et une interaction génération- stade hautement significatifs ($F_{9,48} = 22,42$, $p < 0,001$) (Tab. 37).

Tableau 37. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, ($DI_{50} : 245,30$ ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en glucides ($\mu\text{g}/\text{mg}$), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($n = 4$ à 6). Analyse de la variance à deux critères de classification

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Génération	573,52	3	191,17	21,77	$P < 0,001$ ***
Stade	3671,62	3	1223,87	139,36	$P < 0,001$ ***
Interaction	1772,09	9	196,90	22,42	$P < 0,001$ ***
Erreur résiduelle	421,55	48	8,78	-	-

*** : hautement significatif ($p < 0,001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p: niveau de significativité.

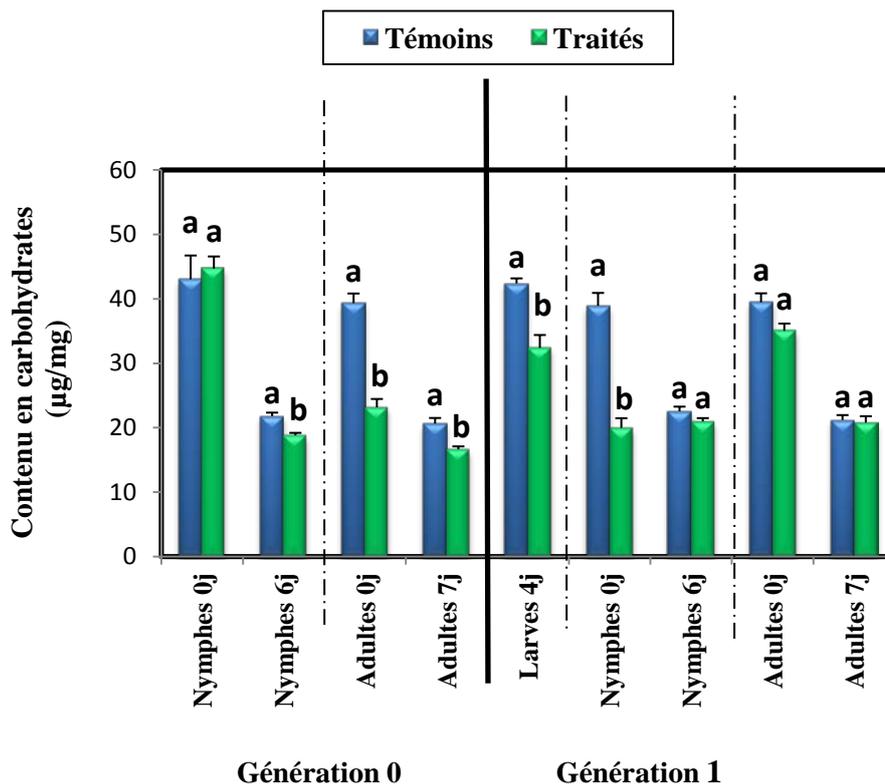


Figure 23. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en carbohydrates ($\mu\text{g}/\text{mg}$), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

3.3. Effets sur les lipides chez la G0 et la G1

3.3.1. Effets chez les nymphes de la G0

Le Spinosad, appliqué chez les larves du dernier stade de *T. absoluta*, n'entraîne aucune diminution dans le contenu en lipides chez les nymphes nouvellement exuviées ($p = 0,588$) et âgées de 6 jours ($p = 0,824$). Les analyses statistiques, effectuées entre les âges d'une même série, indiquent une diminution dans le contenu en lipides chez les séries témoins ($p = 0,013$) et traitées ($p < 0,001$) (Tab. 38).

Tableau 38. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en lipides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade nymphal de la G0 (0 et 6 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).

Nymphes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	42,03 ± 2,30 a A	43,72 ± 1,90 a A
6	55,32 ± 0,93 a B	54,98 ± 1,10 a B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d’une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d’un même âge entre les différentes séries (p<5 %).

3.3.2. Effets chez les adultes de la G0

Chez les adultes nouvellement exuviés, les résultats obtenus indiquent que le Spinosad n’induit aucun impact dans le contenu en lipides (**Tab. 39**) ; l’absence d’effets sur les teneurs en lipides est enregistré le jour de l’exuviation (p = 0,696) mais aussi à 7 jours (p = 0,284). La comparaison des valeurs dans le contenu en lipides, entre les âges pour une même série, montre une baisse significative chez les séries témoins (p < 0,001) et traités (p = 0,001).

Tableau 39. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en lipides dans le corps entier (µg /mg) au cours du stade adulte de la G0 (0 et 7 jours) (m ± sd; n= 4 à 6).

Adultes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	165,01 ± 4,90 a A	161,60 ± 6,70 a A
7	102,27 ± 2,80 a B	95,69 ± 4,80 a B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d’une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d’un même âge entre les différentes séries (p<5 %).

3.3.3. Effets chez les larves de la G1

Après traitement au Spinosad des larves du dernier stade de *T.absoluta*, le contenu en lipides du corps, chez les larves de la G1, ne présente aucune différence significative, comparativement aux témoins ($p = 0,222$) (Tab. 40).

Tableau 40. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI 50 : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur le contenu en lipides dans le corps entier ($\mu\text{g}/\text{mg}$) au cours du stade larvaire de la G1 (4 jours) ($m \pm \text{sd}$; $n= 4$ à 6).

Larves (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
4	91,12 \pm 3,20 a	85,89 \pm 2,20 a

3.3.4. Effets chez les nymphes de la G1

Les résultats obtenus, après analyse statistique, indiquent que le Spinosad n'induit aucun effet sur les lipides chez les nymphes *T.absoluta* (Tab. 41). Cet impact est noté chez les nymphes nouvellement exuviées de ($p = 0,599$) et chez celles âgées de 6 jours ($p = 0,652$). Cependant, une diminution dans le contenu en lipides est notée entre les âges pour une même série chez les témoins ($p = 0,04$) mais aussi chez les traitées ($p = 0,043$).

Tableau 41. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur le contenu en lipides dans le corps entier ($\mu\text{g}/\text{mg}$) au cours du stade nymphal de la G1 (0 et 6 jours) ($m \pm \text{sd}$; $n= 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	43,62 \pm 2,70 a A	41,42 \pm 2,90 a A
6	52,97 \pm 1,60 a B	52,04 \pm 1,10 a B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

3.3.5. Effets chez les adultes de la G1

Le Spinosad, appliqué chez les larves du dernier stade de *T. absoluta*, n'entraîne aucun effet dans le contenu en lipides (Tab. 42) ; ce résultat est enregistré chez les adultes nouvellement exuviés ($p = 0,296$) ou âgés de 7 jours ($p = 0,721$). Les valeurs dans le contenu en lipides sont différentes, entre les âges d'une même série ; ainsi, une baisse est notée entre 0 et 7 jours chez les séries témoins ($p < 0,001$) et traitées ($p = 0,001$).

Tableau 42. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, ($DI_{50} : 245,30$ ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur le contenu en lipides dans le corps entier ($\mu\text{g} / \text{mg}$) au cours du stade adulte de la G1 (0 et 7 jours) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Adultes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	166,33 \pm 1,50 a A	159,60 \pm 5,60 a A
7	99,53 \pm 3,10 a B	102,10 \pm 6,00 a B

- Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

3.3.6. Effets sur les lipides : Comparaison entre les deux générations

Le contenu en lipides chez *T. absoluta*, pour les différents stades de développement et pour les deux générations (G0 et G1), demeurent similaires ($p > 0,05$) entre les individus témoins et traités (Fig. 24). L'analyse de la variance effectuée entre les séries témoins et traitées (Tab.43) ne révèle aucun effet sur le critère génération ($F_{3,48} = 0,42$, $p = 0,742$), et sur l'interaction génération- stade ($F_{9,48} = 0,43$, $p = 0,911$). Cependant, un effet stade est noté ($F_{3,48} = 906,55$, $p < 0,001$).

Tableau 43. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($n = 4$ à 6). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Génération	66,20	3	22,10	0,42	$P = 0,74$
Stade	143887,40	3	47962,50	906,55	$P < 0,001$ ***
Interaction	205,90	9	22,90	0,43	0,91
Erreur résiduelle	2539,50	48	52,90	-	-

*** : hautement significatif ($p < 0,001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p: niveau de significativité.

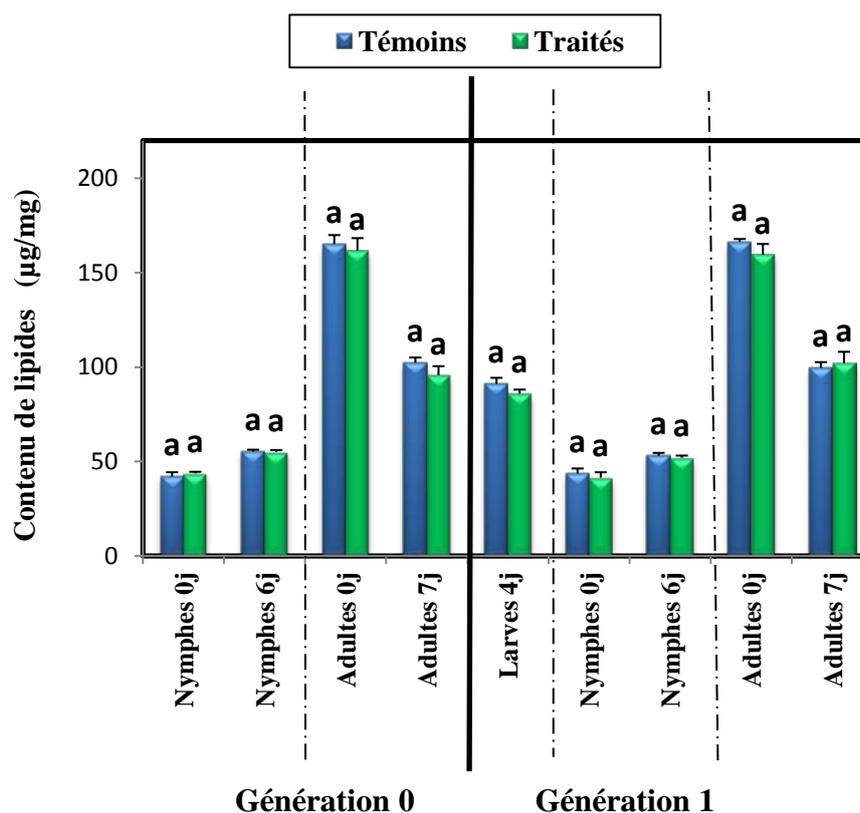


Figure 24. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en lipides ($\mu\text{g}/\text{mg}$), chez les larves (jour 4), nymphes (0 et 6 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

4. Effets du Spinosad sur les vitellogénines chez les nymphes femelles de *T. absoluta*

4.1. Effets chez les nymphes de la G0

Le Spinosad, administré par application topique, sur les larves du dernier stade de *T. absoluta*, a été évalué sur le contenu en vitellogénines dans le corps gras chez les femelles au cours du stade nymphal. L'analyse statistique, effectuée entre les séries témoins et traitées ne révèlent aucun effet du Spinosad chez les nymphes nouvellement exuviées ($p = 0,317$) comparativement aux témoins ; cependant, une baisse est notée chez les nymphes âgées de 3 ($p < 0,001$), 6 ($p < 0,001$) et 9 jours ($p < 0,001$). Le traitement au Spinosad montre donc impact sur le contenu en vitellogénines (Tab. 44).

Chez les séries témoins, les valeurs dans les vitellogénines augmentent significativement à 3 ($p = 0,004$) et 6 jours ($p = 0,002$) puis une diminution est notée chez les nymphes âgées de 9 jours ($p < 0,001$).

Chez les séries traitées au Spinosad, les valeurs restent comparable à 0 et 3 jours ($p = 0,077$; $p = 0,032$) puis augmentent à 6 jours ($p = 0,005$) ; à 9 jours une diminution est ensuite notée ($p = 0,003$).

Tableau 44. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les nymphes femelles de la G0 ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	31,25 \pm 0,25 a A	30,60 \pm 0,21 a A
3	34,26 \pm 0,40 a B	31,51 \pm 0,41 b AC
6	43,44 \pm 1,12 a C	33,74 \pm 0,52 b B
9	34,34 \pm 0,22 a B	30,03 \pm 0,29 b C

- Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

4.2. Effets chez les nymphes de la G1

Les analyses statistiques, effectuées entre les différents âges au cours du stade nymphal, révèlent que chez les séries témoins, le contenu en vitellogénines augmente significativement à 3 ($p = 0,011$) et 6 jours ($p < 0,001$) puis à 9 jours une diminution est notée ($p = 0,001$). Chez les séries traitées, le même profil est remarqué, avec une hausse dans le contenu en vitellogénines à 3 ($p = 0,005$) et 6 jours ($p < 0,001$) ; à 0 et 9 jours des valeurs similaires sont notées ($p = 0,272$).

Chez la génération 1, les nymphes femelles de *T.absoluta*, provenant de la génération traitée, montrent une diminution dans le contenu en vitellogénines chez les séries traitées par rapport aux témoins aux jours 0 ($p < 0,001$), 3 ($p < 0,001$), 6 ($p < 0,001$) et 9 ($p < 0,001$) (Tab. 45). Ainsi, le Spinosad présente un effet différé dans le contenu en vitellogénines.

Tableau 45. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur le contenu en vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les nymphes femelles de la G1 ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Nymphes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	32,02 ± 0,22 a A	29,35 ± 0,22 b A
3	34,12 ± 0,44 a B	31,04 ± 0,29 b B
6	43,86 ± 0,68 a C	35,49 ± 0,36 b C
9	34,42 ± 0,28 a B	32,13 ± 0,53 b B

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries ($p < 5\%$).

4.3. Effets sur les vitellogénines : comparaison entre les deux générations

Le Spinosad induit chez la G0 une diminution dans le contenu en vitellogénines chez les nymphes femelles aux jours 3, 6 et 9 (jour 3: $t_6 = 6,48$, $p = 0,001$; jour 6: $t_6 = 8,06$, $p < 0,001$; jour 9: $t_6 = 11,83$, $p < 0,001$). Cette réduction est retrouvée également à la génération suivante

chez les nymphes et ce à tous les âges testés (jour 0: $t_6 = 8,54$, $p < 0,001$; jour 3: $t_6 = 5,84$, $p = 0,001$; jour 6: $t_6 = 10,82$, $p < 0,001$; jour 9: $t_6 = 7,14$, $p < 0,001$). L'analyse statistique montre que la réduction des vitellogénines, induite par le Spinosad est plus importante à la G0 par rapport à la G1 (Fig. 25). L'analyse de variance indique des effets hautement significatif pour la génération ($F_{3, 48} = 128,76$; $p < 0,001$), le stade ($F_{3, 48} = 259,71$; $p < 0,001$) et l'interaction génération-stade ($F_{9, 48} = 20,25$; $p < 0,001$) (Tab.46). Le traitement au Spinosad affecte donc les vitellogénines chez les deux générations successives de *T. absoluta*; l'effet différé est aussi noté pour ce paramètre.

Tableau 46. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les nymphes femelles au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($n = 4$ à 6). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Génération	318,69	3	106,23	128,76	$P < 0,001$ ***
Stade	642,78	3	214,26	259,71	$P < 0,001$ ***
Interaction	150,32	9	16,70	20,25	$P < 0,001$ ***
Erreur résiduelle	39,60	48	0,82	-	-

*** : hautement significatif ($p < 0,001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p: niveau de significativité.

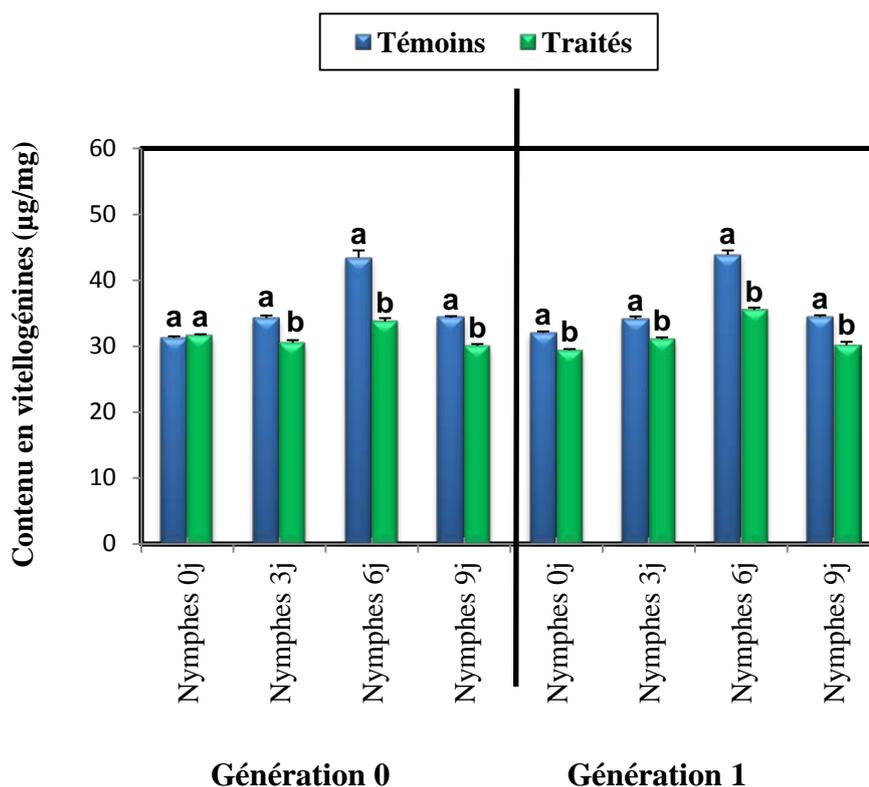


Figure 25. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en vitellogénines ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les nymphes femelles au cours de deux générations successives (G0 et G1) ($m \pm sd$; $n= 4$ à 6).

5. Effets du Spinosad sur les vitellines ovariennes chez les adultes femelles

5.1. Effets chez les adultes de la G0

Après traitement au Spinosad des larves de dernier stade de *T. absoluta*, le contenu en vitellines ovariennes chez les adultes femelles de la G0 baisse significativement, par rapport aux séries témoins dès l'exuviation adulte ($p < 0,001$) ; cette diminution se poursuit à 3 ($p= 0,004$), 6 ($p= 0,003$) et 9 jours ($p= 0,001$). Les valeurs dans le contenu en vitellines chez les femelles adultes témoins baissent à 3 ($p = 0,014$), 6 ($p < 0,001$) et 9 jours ($p < 0,001$) après l'émergence. Chez les séries traitées au Spinosad, les valeurs dans les vitellines sont

comparables à 0 et 3 jours ($p = 0,374$), puis diminuent à 6 ($p = 0,004$) et 9 jours ($p < 0,001$)

(Tab. 47).

Tableau 47. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en vitellines ovariennes ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les adultes femelles de la G0 ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Adultes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	79,80 \pm 1,06 a A	66,53 \pm 1,10 b A
3	74,22 \pm 1,12 a B	67,85 \pm 0,82 b A
6	66,66 \pm 1,14 a C	58,73 \pm 1,26 b B
9	56,05 \pm 0,45 a D	48,59 \pm 1,12 b C

*** : hautement significatif ($p < 0,001$) ; ddl : degré de liberté ; SCE : somme des carrés des écarts ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p: niveau de significativité.

5.2. Effets chez les adultes de la G1

Chez les adultes femelles de *T.absoluta*, les analyses statistiques effectuées, chez les séries témoins entre les différents âges testés, montrent que le contenu en vitellines reste comparable à 0 et 3 jours ($p = 0,112$) puis diminuent à 6 ($p = 0,001$) et 9 jours ($p < 0,001$). Chez les séries traitées, le même profil est remarqué dans le contenu des vitellines avec des valeurs similaires à 0 et 3 jours ($p = 0,218$) puis une baisse au jour 6 ($p = 0,007$) et 9 ($p < 0,001$).

Chez les adultes femelles de *T.absoluta*, une diminution significative dans le contenu en vitellines est observée chez les séries traitées par rapport aux témoins (Tab. 48) et ce, aux jours 0 ($p = 0,001$), 3 ($p = 0,004$), 6 ($p = 0,004$) et 9 ($p = 0,011$). Le Spinosad agit donc avec un effet différé sur les vitellines ovariennes.

Tableau 48. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* (G0) et évalués sur le contenu en vitellines ovariennes (µg/mg) chez les adultes femelles de la G1 (m ± sd; n= 4 à 6).

Adultes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	78,08 ± 1,01 a A	71,43 ± 0,22 b A
3	75,57 ± 0,81 a A	69,08 ± 1,50 b A
6	69,01 ± 0,70 a B	61,62 ± 1,41 b B
9	55,40 ± 1,07 a C	50,65 ± 0,82 b C

- Les lettres en majuscules comparent les moyennes d'une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d'un même âge entre les différentes séries (p<5 %).

5.3. Effets sur les vitellines ovariennes: comparaison entre les deux générations

Le pesticide induit une réduction significative dans le contenu en vitellines, chez les femelles adultes de la G0 de l'exuviation (jour 0) au jour 9 (jour 0: $t_6 = 9,08$, $p < 0,001$; jour 3: $t_6 = 4,60$, $p = 0,004$; jour 6: $t_6 = 4,86$, $p = 0,003$; jour 9: $t_6 = 6,24$, $p = 0,001$). La réduction des vitellines est aussi observée chez la G1 entre les séries traitées et témoins, (jour 0: $t_6 = 6,36$, $p = 0,001$; jour 3 $t_6 = 3,80$, $p = 0,009$; jour 6: $t_6 = 4,63$, $p = 0,004$; jour 9: $t_6 = 3,63$, $p = 0,011$). Les femelles adultes traitées de la G1 présentent une augmentation dans les valeurs des vitellines ovariennes, comparativement aux femelles traitées de la G0 (**Fig. 26**); un retour à des normes physiologiques semble apparaître. L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle un effet génération ($F_{3, 48} = 78,88$, $p < 0,001$), un effet stade ($F_{3, 48} = 359,20$, $p < 0,001$) et une interaction génération-stade ($F_{9, 48} = 11,95$, $p = 0,039$) (**Tab.49**). Le traitement au Spinosad affecte donc les vitellines chez les adultes femelles au cours des deux générations successives de *T. absoluta*.

Tableau 49. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en vitellines ovariennes (µg/mg) chez les adultes femelles au cours de deux générations successives (G0 et G1) (n = 4-6). Analyse de la variance à deux critères de classification.

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Génération	971,57	3	323,86	78,88	P < 0,001 ***
Stade	4424,31	3	1474,77	359,20	P < 0,001 ***
Interaction	71,97	9	8,00	1,95	P < 0,001 ***
Erreur résiduelle	197,07	48	4,11	-	-

• Les lettres en majuscules comparent les moyennes d’une même série entre les différents âges ; les lettres minuscules comparent les valeurs d’un même âge entre les différentes séries (p<5 %).

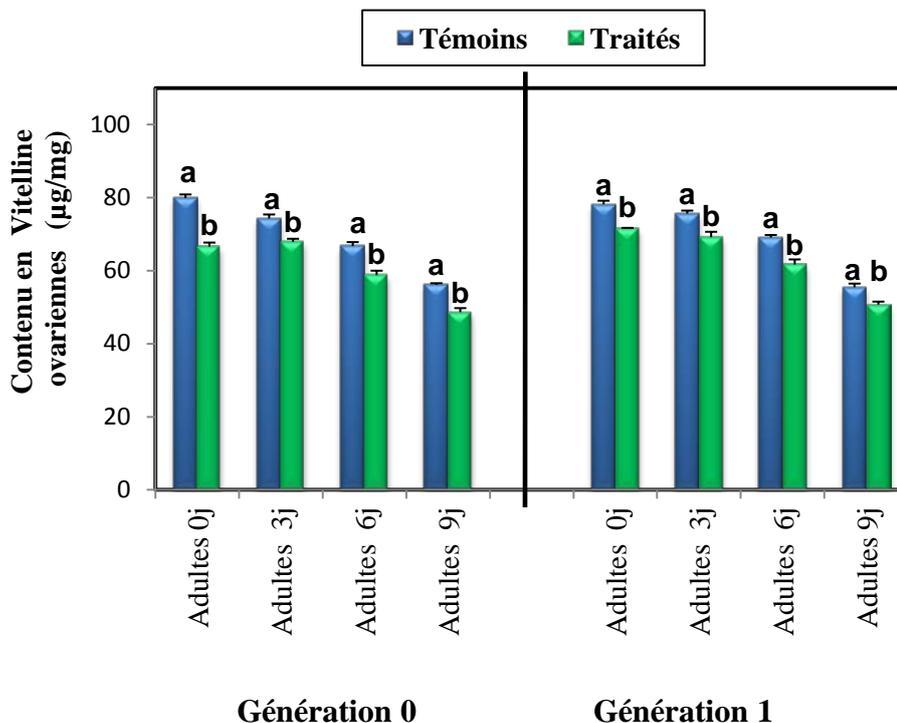


Figure 26. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique, (DI₅₀ : 245,30 ng) sur les larves du dernier stade de *T. absoluta* et évalués sur le contenu en vitellines ovariennes (µg/mg) chez les adultes femelles au cours de deux générations successives (G0 et G1) (m ± sd; n= 4 à 6).

DISCUSSION

1. Activité insecticide

Le Spinosad, utilisé par application topique sur les larves du dernier stade larvaire de *T. absoluta* entraîne une inhibition de la mue nymphale, évaluée à l'exuviation, par les insectes morts (larves ou nymphes) mais aussi les mues bloquées et/ou incomplètes. Ces effets du Spinosad, en accord avec la littérature (Chaabane *et al.*, 2012; Maiza *et al.*, 2013) sont attribués à la neurotoxicité du Spinosad et ont aussi été signalés avec d'autres pesticides d'origine biologique (Martinez & Van Emden, 2001 ; Almeida *et al.*, 2014 ; Boulahbel *et al.*, 2015). Cette action s'explique *via* les nAChRs des insectes (Somers *et al.*, 2015) où le Spinosad agit sur des sites distincts par rapport à l'imidaclopride (Blacquière *et al.*, 2012 ; Rinkevich & Scott, 2012). La cytotoxicité du Spinosad au niveau du système nerveux (Almeida *et al.*, 2014 ; Somers *et al.*, 2015) pourrait expliquer l'inhibition de la mue *via* son impact sur le système neuroendocrine ; ainsi, la 20-hydroxyecdysone (20E) et l'hormone juvénile (JH), qui jouent un rôle central dans la régulation des mues et du développement (Gade & Hoffman 2005; De Loof *et al.*, 2014), seraient perturbées *via* leurs neurohormones respectives. Le Spinosad, présente une toxicité relativement basse chez *T. absoluta*, avec une DI_{50} de 243.50 μg correspondant à une concentration de 243, 50 ppm. Cependant, des concentrations plus basses (0,08 à 0,26 ppm) ont été mises en évidence (Roditakis *et al.*, 2013) en traitant les larves de *T. absoluta* après trempage des feuilles dans le Spinosad (méthode préconisée par l'Insecticide Resistance Action Committee ou IRAC) ; cette efficacité plus grande peut être expliquée par le mode d'application utilisée qui permet un traitement double par ingestion mais aussi par contact. Les concentrations du Spinosad précisées chez *T. absoluta* sont proches de celles retrouvées chez d'autres lépidoptères ravageurs comme *Ostrinia nubilalis*, *Chilo agamemnon* et *Sesamia cretica* avec des valeurs respectives de 166, 179 et 185 ppm (Sabbour & Abde-Rahman, 2013; Wang *et al.*, 2009, 2013). D'autres

lépidoptères présentent une toxicité beaucoup plus variable ; en effet, des valeurs de 8,7, 0,41, 0,29, 1,001 et 31,1 ppm sont, respectivement, notées chez *Lymantria dispar* (Wanner *et al.*, 2002), *Helicoverpa armigera* (Wang *et al.*, 2009), *Spodoptera exigua* (Wang *et al.*, 2013), *Plutella xylostella* (Li *et al.*, 2015), *Herpetogramma phaeopteralis* (Tofangsazi *et al.*, 2015). Par ailleurs, chez un autre Lépidoptère, *Dargida diffusa*, le Spinosad est cité comme plus efficace que par rapport à d'autres biopesticides comme l'azadirachtine, ou des champignons entomopathogènes (Reddy & Antwi, 2016). Le Spinosad est également très efficace chez les Diptères comme *Aedes albopictus* (0,3 ppm) (Bond *et al.*, 2004) et *Glossina palpalis gambiensis* (2,2 ppm) (De Deken *et al.*, 2004). La variabilité dans les valeurs des concentrations létales est expliquée par une activité insecticide du Spinosad qui est différente selon les espèces car elle est liée aux variations dans les sous-unités des nAChRs (Rinkevich & Scott, 2012). Par ailleurs, la régulation des récepteurs mais aussi les voies de signalisation intracellulaires impliquées dans la régulation des canaux ioniques peuvent aussi jouer un rôle crucial dans la différence de sensibilité des insectes aux pesticides (Lavialle-Defaix *et al.*, 2010). Il est important de noter que les différences de sensibilité aux pesticides entre les espèces d'insectes peuvent aussi être liées à d'autres mécanismes comme le taux de pénétration à travers la cuticule, leur absorption par les insectes, le transport dans les tissus de l'organisme ou encore le métabolisme (Besard *et al.*, 2011).

En définitive et, en se basant sur la littérature, le Spinosad, chez *T. absoluta*, semble moins efficace comparativement à d'autres pesticides (Roditakis *et al.*, 2013) comme le flubendiamide (1,31 ppm), le chlorantraniliprole (0,53 ppm), le benzoate d'émamectine (0,12 ppm) ou encore l'indoxacarbe (17,5 ppm).

2. Effet du Spinosad sur les Biomarqueurs enzymatiques

Dans le programme de lutte intégrée (IPM), les pesticides chimiques restent la principale approche dans le contrôle des espèces nuisibles et les biomarqueurs sont les

meilleurs indicateurs de l'impact des xénobiotiques (Rao, 2006) ; ainsi, ils permettent de prédire l'effet toxique se produisant au niveau de l'organisme biologique et à mieux comprendre le mode d'action des insecticides.

2.1. Effets sur les GSTs et la Catalase

Le mécanisme de détoxification des xénobiotiques impliquent plusieurs types d'enzymes qui dégradent les insecticides en métabolites moins toxiques (Soderlund, 1997). Le processus de détoxification comprend différentes phases et les deux premières sont essentielles. La première phase ou phase de fonctionnalisation des xénobiotiques est assurée par des enzymes telles que les monooxygénases, hydrolases et réductases. La deuxième phase ou phase de conjugaison est réalisée par des enzymes telles que les glutathion-S-transférases (GSTs) qui catalyse la conjugaison des molécules fonctionnalisées à des substrats endogènes afin de faciliter leur excrétion (Li, 2009; Misra *et al.*, 2011). Parallèlement, les glutathion S-transférases représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles, essentiellement cytosoliques impliquées, dans de nombreux processus physiologiques parmi lesquels le transport intracellulaire, la biosynthèse des hormones et la protection contre le stress oxydatif ; ainsi, les GSTs sont considérées comme des modérateurs du stress oxydatif (Konus, 2015) et la catalase correspond à un biomarqueur de ce stress.

Le rôle des GSTs comme enzyme de détoxification des insecticides, et particulièrement pour le Spinosad, a été cité chez différents insectes comme *Glyphodes pyloalis* (Piri *et al.*, 2014) ; cependant, certains travaux ont noté que ce même pesticide semble ne pas induire l'activité des GSTs, comme chez le lépidotère *H. armigera* (Wang *et al.*, 2009). Les résultats obtenus, chez *T. absoluta*, après traitement au Spinosad, mettent en évidence une augmentation des activités spécifiques des GSTs démontrant l'induction de ce système enzymatique et confirmant ceux obtenus par Reyes *et al.*, (2012) et Yalcin *et al.*, (2015). Des

résultats similaires ont été enregistrés chez d'autres espèces traitées avec le même pesticide, *Apis mellifera* (Carvalho *et al.*, 2013), *Drosophila melanogaster* (Chaabane *et al.*, 2012), *G. pyloalis* (Piri *et al.*, 2014) ou *Xanthogaleruca luteola*, (Tamam *et al.*, 2014). Chez *T. absoluta*, l'augmentation des GSTs, notée dès 24 h après traitement, se poursuit au stade adulte de la G0 avec une hausse d'un facteur 3 ; cet effet est retrouvé à la génération suivante (G1), où l'enzyme de détoxification montre un facteur qui est de 2 chez les nymphes et de 0,5 chez les adultes; par ailleurs, la différence notée entre les âges chez les séries traitées (nymphes et adultes), confirme cette baisse progressive dans les valeurs des GSTs. La diminution dans l'activité spécifique des GSTs, observée entre les âges, peut être expliquée par l'implication de ces enzymes dans la biosynthèse hormonale et la régulation du métabolisme cellulaire et la physiologie (Broard & Menon, 2013). Ainsi, les expérimentations conduites ont apporté un nouvel élément qui est l'effet différé du Spinosad au niveau de la descendance démontrant ainsi une rémanence du Spinosad. Par ailleurs, les GSTs sont bien impliquées dans la détoxification du Spinosad chez *T.absoluta* et peuvent donc avoir un important rôle dans le contrôle du stress oxydatif (Konus, 2015).

Les systèmes cellulaires de défenses antioxydants dans les organismes biologiques sont altérés lorsqu'ils sont exposés aux pesticides et/ou polluants environnementaux; cependant, les niveaux d'antioxydants dans les organismes vivants peuvent augmenter de manière à restaurer le déséquilibre causé par les dommages oxydatifs (Yildirim *et al.*, 2011). Les teneurs en enzymes antioxydants peuvent donc être utilisées dans l'évaluation du stress oxydatif (Livingstone, 2001) et la catalase (CAT : EC 1.11.1.6) représente l'une des principales enzymes de ce processus; elle est impliquée dans la défense de la cellule contre les effets toxiques du peroxyde d'hydrogène en catalysant sa décomposition en oxygène et eau, ce qui limite les effets délétères des espèces réactives à l'oxygène (ROS) (Goyal & Basak, 2010 ; Mamidala *et al.*, 2011 ; Hu *et al.*, 2015). L'activité de la catalase n'est pas spécifique à un

groupe de contaminants, mais peut être induite par une large gamme de xénobiotiques (Badiou-Bénéteau *et al.*, 2012 ; Chakrabarti *et al.*, 2015).

Chez *T.absoluta*, l'activité des enzymes de détoxification, suite au traitement au Spinosad, est parfaitement corrélée avec les valeurs de la catalase démontrant donc un stress oxydatif. Le Spinosad, provoque une augmentation de cette enzyme au cours des deux générations successives (G0 et G1) de *T. absoluta* conformément à ce qui est retrouvé, après traitement avec ce même pesticide, chez *D. melanogaster* (Chaabane *et al.*, 2012), *Tribolium castaneum* (Awan *et al.*, 2012) et *A. mellifera* (Carvalho *et al.*, 2013). Par ailleurs, la baisse dans l'activité spécifique de la catalase, observée entre les âges chez les adultes peut être lié à une interaction hormonale agissant sur le stress oxydatif (De Loof, 2008; Belles & Piulachs, 2015). Les résultats montrent que la CAT augmente, comparativement aux témoins, chez les nymphes et les adultes de la G0 avec un facteur de 0.5 à 2 respectivement ; un effet différé est retrouvé chez la génération suivante (G1) avec un facteur 0.5 chez les nymphes. Chez les adultes de la G1, la comparaison entre les séries témoins et traitées, montre des valeurs similaires et ceci peut être lié à l'important processus de détoxification mis en jeu parallèlement (GSTs facteurs 3, 2). La hausse dans l'activité spécifique de la catalase pourrait être expliquée par un mécanisme d'adaptation à la prévention de l'accumulation des espèces réactives de l'oxygène (ROS) résultant de la présence du Spinosad et à une intensification de la sensibilité envers ce pesticide au niveau des membranes cellulaires. L'augmentation de l'activité de la catalase dès 24h après le traitement est expliquée par le fait que cette enzyme est connue pour présenter une réponse claire et rapide de la contamination par les xénobiotiques (Wenning *et al.*, 1988). L'augmentation de l'activité de la catalase a aussi été observée chez *D.melanogaster* suite au traitement avec une autre molécule naturelle, l'Azadirachtine (Boulahbel *et al.*, 2015).

Ainsi, l'induction de l'activité spécifique de la CAT dans cette étude représente un mécanisme qui constitue la première étape de défense contre le stress oxydant (Pandey *et al.*, 2001) induit par le Spinosad.

2.2. Effets sur l'AChE

L'acétylcholinestérase (AChE) est une enzyme impliquée dans les mécanismes de transmission de l'influx nerveux à travers l'organisme. Son inhibition par de nombreux neurotoxiques entraîne l'accumulation d'un médiateur chimique dans l'espace synaptique, l'acétylcholine, qui maintient de ce fait une transmission permanente de l'influx nerveux, laquelle conduit généralement à la tétanie musculaire et à la mort de l'organisme (Bocquené, 1996; Bainsy, 2000). L'AChE est la principale cible des insecticides neurotoxiques qu'ils inhibent de manière non réversible (Alout *et al.*, 2007); ainsi cette enzyme est largement employée comme biomarqueur de neurotoxicité pour les organophosphorés, carbamates ou encore les néonicotinoïdes tels que l'imidaclopride (Lonare *et al.*, 2014).

L'AChE n'est pas un site cible pour le Spinosad, cependant, la littérature note que le traitement avec ce pesticide ou ses dérivés (spinetoram) entraîne une réduction de l'activité spécifique de cette enzyme; ceci est retrouvé chez divers insectes comme *Oreochromis niloticus* (Piner *et al.*, 2012), *D. melanogaster* (Chaabane *et al.*, 2012), *Blattella germanica* (Maiza *et al.*, 2013), *Spodoptera littoralis* (Rashwan, 2013) mais aussi chez les Vertébrés (Zidan, 2015). Des résultats contradictoires sont, cependant, cités chez l'abeille *A. mellifera* (Rabea *et al.*, 2009; Carvalho *et al.*, 2013). Par ailleurs, la baisse dans les valeurs de l'AChE, observée entre les âges chez les nymphes, peut être expliquée par la diminution de l'activité physiologique (métabolisme réduit) liée à la métamorphose. Les résultats obtenus chez *T. absoluta* confirment la diminution significative de l'activité spécifique de l'AChE sur les stades de développement de la génération traitée mais également ceux de la génération suivante; l'effet noté pour la génération 1 est plus drastique. Le retour à des valeurs de base

qui est ensuite observé chez les adultes pourrait être relié au processus de détoxification noté. L'effet différé, noté par la réduction dans les valeurs de l'AChE est, sans doute, en faveur de l'action indirecte du Spinosad cité dans la littérature (Maiza *et al.*, 2013); ainsi les molécules du Spinosad se lient sur le récepteur nAChR en compétition avec l'acétylcholine ; l'acétylcholine ne pouvant pas agir, le potentiel post-synaptique et le potentiel d'action sont absents, et à leur tour les vésicules post-synaptiques ne peuvent libérer le neurotransmetteur. L'AChE serait donc ainsi indirectement perturbée et l'absence d'effet chez les nymphes de la G0 appuie cette hypothèse, néanmoins, les mécanismes d'inhibition de ce site non cible par le Spinosad mériteraient d'être mieux étudiés.

3. Effets sur les métabolites

Les principaux métabolites comme les glucides, protéines et lipides ont des rôles physiologiques essentiels, en particulier dans la reproduction et le développement. Ces différents métabolites, synthétisés principalement dans le corps gras, sont ensuite secrétés dans l'hémolymphe et/ou utilisés par divers tissus (Cassier *et al.*, 1997 ; Zhang & Xi, 2014). Les carbohydrates constituent une source importante d'énergie pour les insectes et peuvent être convertis en lipides, ou encore contribuer à la production d'acides aminés (Piri *et al.*, 2014). Les lipides représentant la principale source d'énergie (Malher & Gordes, 1968), sont constitués d'acides gras libres et liés, de stéroïdes, phospholipides, et autres groupes de composés. Les protéines entrent dans diverses réactions telles que la régulation hormonale, les enzymes, les voies de signalisation ou encore les éléments structuraux des tissus (Cohen, 2010; Sugumaran, 2010). Les protéines sont importantes au niveau individuel car elles sont associées à la taille du corps, au taux de croissance, et à la fécondité; par ailleurs à des niveaux supérieurs de l'organisation, elles sont liées à la dynamique des populations, et même à la diversification biologique (Fagan *et al.*, 2002). Ainsi, ces principaux métabolites sont des éléments essentiels dans l'évaluation de la « Fitness » chez l'insecte. La teneur en protéines

totales est un paramètre souvent utilisé pour mettre en évidence un stress chez un organisme bioindicateur (Lin & Xu, 2016) ; en effet, lorsque les contraintes environnementales (stress hydrique, thermique, oxydant, exposition à une pollution, infection par des agents pathogènes...) sont fortes, la plupart des protéines subissent une dénaturation (Mohammadkhani & Heidari, 2008). La structure des protéines ainsi que leur fonction peuvent être altérées par les ROS produites soit par le métabolisme cellulaire ou par des oxydants exogènes (Lin & Xu, 2016). Néanmoins, les enzymes du stress antioxydant contribuent au maintien de niveaux non toxiques des ROS, afin d'éviter toute modification des chaînes latérales d'acides aminés, qui pourrait conduire à une altération de la fonction des protéines ou, pourrait activer des voies spécifiques impliquées dans la régulation des fonctions clés cellulaires (Puig & Mattila, 2011).

Les résultats montrent que les protéines diminuent au cours des 2 générations successives chez *T. absoluta*. Il est ensuite observé chez les adultes, âgés de 7 jours de la G1, un retour à la normale qui est positivement corrélé au processus de détoxification et à la baisse dans les valeurs du stress oxydatif. Cette diminution dans le contenu en protéines, après traitement au Spinosad, est aussi observée chez d'autres insectes comme *T. castaneum* (EL-Sheikh, 2012; Awan *et al.*, 2012), *S. littoralis* (Elbarky *et al.*, 2008; Hussein *et al.*, 2009; Rashwan, 2013), *G. pyloalis* (Piri *et al.*, 2014), *X. luteola* (Tamam *et al.*, 2014) mais aussi chez les Vertébrés comme le rat (Zidan, 2015). Des résultats similaires ont été enregistrés avec d'autres pesticides d'origine naturels chez *Plodia interpunctella* (Rharabe *et al.*, 2008) et *H. armigera* (Mohite *et al.*, 2013). La réduction de ce métabolite peut être due à une mobilisation importante de ces substances du fait de l'absence de nutriments causée par l'effet toxique du pesticide et/ou une diminution de leur synthèse, mais aussi à une élévation concomitante des enzymes de détoxification (Ortego *et al.*, 1999); par ailleurs, de nombreux insecticides peuvent diminuer l'efficacité de l'alimentation et réduire la quantité de protéines

(Etebari *et al.*, 2006). La baisse dans le contenu en protéines dans les tissus pourrait constituer un mécanisme physiologique, jouant un rôle en situation de stress chimique et, en fournissant des intermédiaires du cycle de Krebs en gardant la teneur en acides aminés libres dans l'hémolymphe (Piri *et al.*, 2014). Le Spinosad agit donc avec un effet différé sur le contenu en protéines et la diminution observée pourrait jouer un rôle dans les mécanismes de compensation pouvant maintenir le métabolisme de l'organisme (Brisca Renuga & Sahayaraj, 2009).

Le Spinosad entraîne, également, une diminution dans le contenu en carbohydrates, source d'énergie majeure, en accord avec ce qui a été noté chez *S. littoralis* (El-Sheikh, 2012 ; Rashwan, 2013; Elbarky *et al.*, 2008) *G. pyloalis* (Piri *et al.*, 2014) et *X. luteola* (Tamam *et al.*, 2014). Dans nos résultats, l'effet différé du Spinosad est aussi observé pour les carbohydrates, de la même manière que pour les protéines; les carbohydrates sont affectés chez la G0 mais aussi chez la G1. Des valeurs physiologiques proches de la normale sont retrouvées seulement chez les adultes de la G1 et cet effort de restauration est sans doute lié au processus de détoxication qui est concomitant; en effet, la diminution dans le taux de carbohydrates coïncide avec l'augmentation des activités du métabolisme de détoxication pendant l'exposition aux pesticides (De Coen Janssen & 1997; Verslycke *et al.*, 2003). Cette réduction peut être donc expliquée par un besoin énergétique accru induit par l'insecticide (Sawczyn., 2012 ; Piri *et al.*, 2014).

La diminution observée dans le contenu en protéines et carbohydrates, peut être reliée à une interconversion en lipides. Ce processus expliquerait, chez les séries témoins et traitées, la hausse des valeurs en lipides chez les nymphes qui ne s'alimentent pas; en effet, les lipides, deux fois plus caloriques par rapport aux carbohydrates et aux protéines constituent une énergie mobilisable rapidement (Lehninger *et al.*, 1993). L'interconversion en lipides peut, aussi, expliquer la stabilité dans les valeurs en lipides qui est observée chez les deux

générations de *T. absoluta* traitées par le Spinosad. Ce résultat est en accord avec ceux retrouvés dans la littérature après traitement de différentes espèces d'insectes avec le Spinosad (Tamam *et al.*, 2014) ou avec d'autres pesticides comme l'hexaflumuron chez *Hippodamia variegata* (Alimohamadi *et al.*, 2014), le pyriproxifène chez *Ocneria terebinthina* (Behroozi *et al.*, 2011) ou encore par le chlorfluazuron chez *S. litura* (Parveen & Miyata, 2000).

Par ailleurs, la baisse notée, entre les âges chez les adultes des séries témoins et traitées peut être reliée à l'énergie nécessaire à l'activité des diverses fonctions physiologiques, et tout, particulièrement le vol (Lehninger *et al.*, 1993).

4. Effets sur les vitellogénines et vitellines

Chez les insectes, le corps gras, analogue au tissu adipeux et foie des vertébrés, régit la plupart des processus métaboliques et de synthèse (Liu *et al.*, 2009 ; Zhang & Xi, 2014); il intervient dans la reproduction en participant à la vitellogénèse (Oliveira *et al.*, 2012). Ce processus, contrôlé par la 20E et l'HJ, correspond à la synthèse des vitellogénines dans les corps gras, leur captation par les ovocytes et leur transformation en vitellines (Koller & Raikhel, 1991; Gade & Hoffman 2005; Swevers *et al.*, 2005 ; De loof *et al.* 2014; Belles & Piulachs, 2015). Les vitellines jouent un rôle nutritionnel essentiel au cours de l'embryogenèse (Hagedorn & Kunkel 1979; Masuda & Oliveira, 1985; Swevers *et al.*, 2005). Ainsi, chez les nymphes des séries témoins de *T. absoluta*, l'augmentation dans le contenu en vitellogénines à 3 et 6 jours correspondrait à la synthèse de ces protéines par les corps gras puis la diminution à 9 jours serait liée à la captation de ces protéines par l'ovaire (Swevers *et al.*, 2005). Chez les adultes des séries témoins, la diminution dans le contenu en vitellines, observé aux différents âges pourrait donc être expliqué par la ponte (Swevers *et al.*, 2005). Il

faut noter, chez les séries traitées, un retard dans le processus de vitellogénèse (vitellogénines et vitellines), particulièrement, chez la G0.

Le traitement au Spinosad affecte les vitellogénines et les vitellines chez les deux générations successives de *T. absoluta*; en effet, nos résultats mettent en évidence une diminution dans les valeurs de ces deux paramètres. La diminution, notée 24 h après traitement, se poursuit au stade adulte de la G0 mais est aussi retrouvée à la génération suivante (G1). Les valeurs observées dans les enzymes de détoxification en G1 (nymphe et adultes) peuvent expliquer la toxicité différée du pesticide mais aussi l'effet moins drastique à la G1. Le processus de reproduction reste affecté en G1 car la vitellogénèse se produit au cours du stade nymphal (Swevers *et al.*, 2005) et se termine à l'émergence des adultes. L'inhibition de la vitellogénèse, mise en évidence dans nos résultats, peut expliquer la baisse de la fécondité et de la fertilité observées par Tomé *et al.*, (2013). Par ailleurs, l'effet différé noté sur la reproduction est retrouvé par Gong *et al.*, (2015) chez un autre insecte; en effet, les auteurs montrent que le Spinosad réduit la fécondité chez *Frankliniella occidentalis* de manière moins importante en G1 comparativement à la G0. Les effets du Spinosad sur le processus de vitellogénèse peuvent s'expliquer par l'impact du pesticide sur les métabolites, particulièrement sur les protéines et donc, la synthèse des vitellogénines (Chaabane *et al.*, 2012). Par ailleurs, l'impact sur la vitellogénèse peut aussi s'expliquer *via* la cytotoxicité observée dans les tissus comme les corps gras (synthèse des vitellogénines) et les ovaires (synthèse des vitellines) après traitement au Spinosad ou à l'azadirachtine (Anogwih *et al.*, 2013 ; Almeida *et al.*, 2014). Cette autre molécule naturelle montre, en effet, les mêmes impacts sur la reproduction chez *T. absoluta* (Tomé *et al.*, 2013) mais aussi chez d'autres insectes (Mordue *et al.*, 2005 ; Liu *et al.*, 2012 ; Boulahbel *et al.*, 2015). Les effets négatifs du Spinosad sur la reproduction est cité chez d'autres lépidoptères comme *S. exigua* (Wang *et al.*, 2013), *H. armigera* (Wang *et al.*, 2009), *P. xylostella* (Yin *et al.*, 2009), *G. pyralis* (Piri *et*

al., 2014) ou encore chez les Dictyoptères comme les Blattes (Maiza *et al.*, 2013; Tine *et al.*, 2015). Wang *et al.*, (2013) notent que la diminution de la fécondité après traitement au Spinosad pourrait affecter la dynamique des populations en diminuant la survie, la reproduction et en retardant son développement. Dans la littérature, la réduction de la fécondité, chez les femelles, est expliquée par des perturbations endocrines, physiologiques et morphologiques (Piri *et al.*, 2014).

Ainsi, si l'action primaire du Spinosad est neurotoxique, il semblerait qu'il puisse agir secondairement comme un perturbateur endocrinien affectant la vitellogénèse et donc la reproduction *via* les neurohormones et hormones qui jouent un rôle essentiel dans ces processus (Gade & Hoffman 2005; Swevers *et al.*, 2005 ; De loof *et al.* 2014 ; Belles & Piulachs, 2015). Le Spinosad, pourrait donc agir comme perturbateur endocrinien, à l'instar d'autres neurotoxiques comme les pyréthrinoides (Mc Carthy *et al.*, 2006), et les organophosphorés (Manabe *et al.*, 2006).

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le Spinosad, utilisé par application topique, sur les larves de dernier stade de *T. absoluta* présente une DI_{50} (243.50 ng) correspondant à une toxicité relativement basse comparativement à d'autres pesticides. Cependant, la biodégradation effective mais aussi l'absence ou la faible toxicité envers les espèces non visées font de cette molécule un insecticide privilégié et recommandé. Le Spinosad, au cours des deux générations successives, induit une baisse dans les contenus en carbohydrates et en protéines liée, sans doute, à un besoin d'énergie accru pendant l'exposition au pesticide. Cet impact sur les principaux éléments nutritionnels peut expliquer la diminution dans les contenus en vitellogénines et vitellines, observée chez les adultes de la G0 et de la G1; la reproduction semble donc affectée *via* le processus de vitellogénèse. La stabilité dans le contenu en lipides, observée chez la G0 et la G1, peut être liée à une interconversion possible à partir des carbohydrates et des protéines; les lipides, constituant une énergie mobilisable rapidement, permettrait donc le maintien du métabolisme et la lutte contre la toxicité de la molécule. L'évaluation des activités spécifiques des biomarqueurs considérés confirme que les GSTs sont bien impliquées dans la détoxification du Spinosad chez *T. absoluta*; les résultats obtenus montrent, au cours des deux générations, un stress oxydatif mais aussi l'intervention d'un mécanisme de détoxification plus drastique en G0; les valeurs de la CAT parfaitement corrélées avec celles des GSTs semblent confirmer le rôle important des GSTs dans le contrôle du stress oxydatif. Par ailleurs, l'inhibition de l'AChE, plus drastique pour la G1, tend à valider l'action indirecte du Spinosad sur ce site non cible et l'absence d'effet chez les nymphes de la G0 appuie cette hypothèse. Par ailleurs, si l'action primaire du Spinosad est neurotoxique, il pourrait agir secondairement comme un perturbateur endocrinien *via* les neurohormones et hormones. Ainsi, les expérimentations conduites ont apporté un nouvel élément qui est l'effet différé du Spinosad sur les stades qui suivent le traitement mais aussi sur la génération

suiivante démontrant ainsi la rémanence du Spinosad. Cet effet différé explique l'impact négatif sur les paramètres reproductifs au cours des deux générations successives. L'important mécanisme de détoxification impliqué permet aux adultes de la G1 un retour à des valeurs physiologiques acceptables. La persistance des effets toxiques chez *T. absoluta* est un élément qui doit être pris en considération dans le contrôle de cet insecte et ce, dans le cadre d'un programme de lutte intégrée. En effet, sans pression de sélection, une instabilité dans la résistance au Spinosad est notée (Campos *et al.*, 2014); ceci suggère l'efficacité d'une stratégie de rotation qui pourrait prévenir ou retarder l'évolution de la résistance de l'insecte et rétablir la susceptibilité à l'insecticide. Néanmoins, l'utilisation des pesticides peut compromettre la viabilité des ennemis naturels (Biondi *et al.*, 2013) et rendre la lutte biologique inefficace dans les programmes IPM. En effet, le Spinosad est classé comme inoffensif pour les prédateurs mais modérément nuisible à nuisible pour les parasitoïdes (Penagos *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2014), cependant, Mahdavi *et al.* (2015) reportent une relative compatibilité. En outre, les différences qui existent dans la biologie et le comportement, entre les espèces ou encore entre les stades d'une même espèce, peuvent agir significativement sur la susceptibilité des ennemis naturels vis-à-vis des pesticides (Penagos *et al.*, 2005). De futures études doivent donc être conduites dans des conditions naturelles afin de vérifier la compatibilité du Spinosad avec les parasitoïdes potentiellement utilisés dans un programme IPM. De plus, les modèles démographiques basés sur la physiologie (physiologically-based demographic models ou PBDMs) peuvent être facilement exploités pour évaluer l'impact potentiel de la coévolution des ennemis naturels de *T. absoluta* et pour lister des espèces candidates dans un contrôle biologique classique de cet insecte invasif dans une aire infestée. L'analyse des PBDMs permettrait, non seulement, d'appréhender la complexité des agroécosystèmes de la tomate mais également une synthèse pluridisciplinaire pour une gestion holistique de *T. absoluta* (Ponti *et al.*, 2014).

RESUME

Le Spinosad, a été utilisé, *in vivo*, par application topique, sur des larves du dernier stade de *Tuta absoluta* Meyrick, 1917 et évalué au cours de deux générations successives (G0 et G1) dans le but de mettre en évidence des effets différés éventuels de la molécule. Dans un premier temps, des tests de toxicité ont été effectués afin de préciser les doses d'inhibition (DI), dont la DI₅₀ qui a été retenue pour l'évaluation des effets du Spinosad sur les biomarqueurs de toxicité (GSTs, CAT et AChE), les principaux métabolites (glucides, protéines et lipides) et les marqueurs de reprotoxicité (vitellogénines et vitellines).

Le Spinosad, chez *T. absoluta*, induit une inhibition de la mue nymphale avec une relation dose-réponse; les DI, déterminées grâce à la régression non linéaire, sont de 243,50 ng pour la DI₅₀ et 3881 pour la DI₉₀. Le Spinosad, testé à la DI₅₀, induit un mécanisme de détoxification qui est observé dès 48 heures après traitement; l'augmentation des GSTs, chez les séries traitées comparativement aux témoins, est retrouvée à tous les stades de développement de la G0 mais aussi de la G1. Il faut noter que l'induction de l'enzyme de détoxification est plus importante à la G0 comparativement à la G1. Le profil des GSTs montre une parfaite corrélation avec celui de la CAT confirmant ainsi l'induction d'un stress oxydatif. En effet, une augmentation de l'activité spécifique de la CAT est notée au cours des deux générations successives; cependant, les adultes de la G1 retrouvent une norme physiologique. Par ailleurs, le Spinosad entraîne une diminution significative de l'activité spécifique de l'AChE aux différents stades de la génération parent mais aussi ceux de la génération suivante ; l'effet observé, plus drastique à la G1 suggère une action indirecte du Spinosad sur ce site non cible. Le Spinosad entraîne, chez *T. absoluta*, une baisse dans les contenus en glucides et protéines au cours des deux générations successives mais le contenu en lipides demeure stable. L'effet du Spinosad sur les métabolites est plus drastique à la G0 par rapport à la G1. Le Spinosad perturbe, également, la vitellogenèse chez les femelles de *T. absoluta* chez la G0 et la G1; en outre, la diminution qui est notée dans les contenus en vitellogénines et vitellines ovariennes est plus importante à la G0.

Ainsi, pour tous les paramètres considérés, le Spinosad présente des effets différés qui démontrent la rémanence de ce pesticide. Le retour à des valeurs de base, observé pour certains paramètres chez les adultes de la G1, pourrait être relié à l'important processus de détoxification qui est induit.

Mots clés : *Tuta absoluta* – Spinosad – Toxicité - Stress oxydatif – Vitellogénèse – Métabolisme - Effets différés.

ABSTRACT

Spinosad has been used *in vivo* topical application, on mature larvae of *Tuta absoluta* Meyrick, 1917 and evaluated in two successive generations (G0 and G1) in order to highlight deferred eventual effects of the molecule. Initially, toxicity tests were carried out to clarify the inhibitory doses (ID); the ID 50 was chosen for the assessment of the effects of Spinosad on toxicity biomarkers (GSTs, CAT and AChE), the main metabolites (carbohydrates, proteins and lipids) and markers of reproductive toxicity (vitellogenins and vitellins).

Spinosad, in *T. absoluta* induced inhibition of pupal moult with a dose-response relationship; the DI, determined thanks to non linear regression, are of 243.50 ng for ID50 and 3881 for the ID 90. Spinosad, tested to ID50, induces detoxification mechanism which is observed within 48 hours after treatment; the increase in GSTs with the series treated compared to controls, was found at all the G0 stages of development but also in the G1. It should be noted that the induction of detoxifying enzyme is greater at the G0 compared to the G1. The profile of GSTs shows a very good correlation with that of the CAT confirming the induction of oxidative stress. An increase of CAT specific activity is recorded indeed in the two successive generations; however, adults G1 find a physiological norm. Furthermore, Spinosad induces a significant decrease in specific AChE activity at different stages of the parent generation, but also at those of the next generation; the observed effect, more drastic in G1, suggests an indirect action on this site, not target cible of the Spinosad. Spinosad causes, in *T. absoluta*, a decrease in the carbohydrates and proteins contents over the two successive generations but lipid content remains stable; the Spinosad effect on the metabolites is more drastic in G0 compared to G1. Spinosad disrupts also, vitellogenesis in females *T. absoluta* in the G0 and G1. In addition, the decrease noted in vitellogenins and ovarian yolk contents, is more important to the G0

So, for all the parameters considered, Spinosad has delayed effects which demonstrate the persistence of this pesticide. The return to basic values, observed for some parameters in adults G1, could be linked to the important detoxification process which is induced.

Keywords: *Tuta absoluta* - Spinosad – Toxicity - Oxydatif stress - Vitellogenesis - Metabolism-Delayed effects.

الملخص

استخدم Spinosad في التطبيق الموضوعي المجرى على اليرقات الناضجة من حفار أوراق البندورة *Tuta absoluta* Meyrick, 1917 وتقييمها خلال جيلين متعاقبين (G0 و G1) من أجل تسليط الضوء على التأثيرات المتأخرة الممكنة للجزيء. في البداية، تم إجراء اختبارات السمية لتوضيح الجرعات المثبطة (ID)، وقد تم اختيار DI_{50} لتقييم آثار Spinosad على مؤشرات السمية (GSTs، CAT و AChE)، والأيض الأساسية (الكربوهيدرات والبروتينات والدهون) و مؤشرات السمية التناسلية (vitellines و vitellogenines).

يسبب Spinosad عند *T. absoluta* تثبيط الانسلاخ العذراء مع وجود علاقة بين الجرعة والاستجابة. جرعات تثبيط (DI) تم تحديدها باستخدام المنحنى الغير الخطي، هي من 243.50 ng l^{-1} و DI_{50} و 3881 ng l^{-1} و DI_{90} ، اختبار Spinosad بجرعة الممية (DI_{50}) أدى الى تنشيط آلية إزالة السموم في غضون 48 ساعة بعد تلقي العلاج. زيادة GSTs، عند السلسلة المعالجة مقارنة بالشهود، وجدت في كل مراحل النمو عند G0 ولكن أيضا عند G1. وتجدر الإشارة إلى أن تحريض انزيم مزيل للسموم أكبر في G0 مقارنة G1. نتائج GSTs تبين وجود علاقة إنسجام مع (CAT) تؤكد إحداث الإجهاد التأكسدي. في الواقع، يتم تسجيل زيادة في نشاط (CAT) عند الجيلين المتعاقبين. ومع ذلك، نجد عند البالغين G1 إعادة المعايير الفسيولوجية. علاوة على ذلك أدى Spinosad إلى انخفاض كبير في نشاط (AChE) عند مختلف مراحل G0، و أيضا عند الجيل المقبل. التأثير الملحوظ، يكون بشكل كبير عند G1 يقترح هذا تأثير غير مباشر ل Spinosad على هذا الموقع الغير مستهدف. يسبب Spinosad، عند *T. absoluta*، انخفاض في محتوى الكربوهيدرات والبروتينات في الجيلين لكن يبقى محتوى الدهون مستقر. تأثير Spinosad على الأيض يكون بشكل كبير في G1 مقارنة ب G0. Spinosad أدى أيضا إلى تعطيل تكوين المح عند إناث *T. absoluta* في G0 و G1 علاوة على ذلك، يلاحظ انخفاض في محتوى vitellogenines وصفار المبيض الذي يكون أكثر أهمية في G0.

وهكذا، ولجميع المعلمات المعنية، Spinosad له تأثير غير مباشر الذي يدل على استمرار المبيد. العودة إلى القيم الأساسية لوحظت في بعض المعلمات عند البالغين G1، يمكن أن تكون مرتبطة بعملية إزالة السموم الهامة التي يسببها.

كلمات مفتاحية: *Tuta absoluta* - Spinosad - السمية - الإجهاد التأكسدي - تكوين المح - الإستقلاب - التأثيرات المتأخرة.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott, W. S. 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol* **18**: 265-267.
- Alimohamadi, N., Samih, M.A., Izadi, H. & Shahidi Noghabid, S. 2014.** Developmental and biochemical effects of hexaflumuron and spiroticlofen on the ladybird beetle, *Hippodamia variegata* (Goeze) (Coleoptera: Coccinellidae). *J. Crop Prot.* **3**: 335-344.
- Almeida, G.D., Zanuncio, J.C., Senthil-Nathan, S., Pratisoli, D., Polanczyk, R.A., Azevedo, D.O. & Serrão, J.E. 2014.** Cytotoxicity in the midgut and fat body of *Anticarsia gemmatalis* (Lepidoptera: Geometridae) larvae exerted by neem seeds extract. *Int Sci J.* **11**: 79-86.
- Alout, H., Berthomieu, A., Hadjivassilis, A. & Weill, M., 2007.** A new amino-acid substitution in acetylcholinesterase 1 confers insecticide resistance to *Culex pipiens* mosquitoes from Cyprus. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* **37**(1): 41-7.
- Al-Turaihi, E.H. 2011.** Current status and future outlook of tomato borer (*Tuta absoluta*) in the State of Qatar. EPPO/IOBC/FAO/NEPPO Joint International Symposium on management of *Tuta absoluta* (tomato borer, Lepidoptera: Gelechiidae), Agadir, Morocco, Nov 16-18.
- Amrani B. 2010.** La filière de tomate en Algérie. Des resultants probants en attendant une meilleure organization. Ed. La tribune. 10p.
- Anogwih, J.A., Mankanjuola, W.A. & Chukwu, L.O. 2013.** Spinosad Induced Cytogenotoxic Effects on the Mosquito Fish, *Poecilia Reticulata*. *J Clinic Toxicol.* S12-001.
- Anonyme, 2009 :** Production agricole, superficies. Ministère de l'agriculture et du développement rural, Alger, 18 p.
- Anonyme, 2010.** La production de la tomate sous serre dans la région de Chlef. Direction des services agricoles de la wilaya de chlef. Rapport, 8p.
- Arnó, J. & Gabarra, R. 2010.** Controlling *Tuta absoluta*, a new invasive pest in Europe. Food Quality and Safety, Sixth Framework Programme Endure Training in Integrated. *Pest Manag.* **5** : 1-8.
- Awan, D.A., Saleem, M.A., Nadeem, M.S., Shakoori, A.R.. 2012.** Toxicological and biochemical Studies on Spinosad and Synergism with Piperonyl Butoxide in susceptible and resistant Strains of *Tribolium castaneum*. *Pakistan J. Zool.* **44**(3) : 649-662.

- Ayalew, G. 2015.** “Efficacy of Selected Insecticides against the South American Tomato Moth, *Tuta Absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) on Tomato in the Central Rift Valley of Ethiopia.” *Afr Entomol.* **23**(2): 410–17.
- Badiou-Bénéteau, A., Carvalho, S.M., Brunet, J-L., Carvalho, G.A., Buleté, A., Giroud, B. & Belzunces, L.P. 2012.** Development of biomarkers of exposure to xenobiotics in the honey bee *Apis mellifera*: application to the systemic insecticide thiamethoxam. *Ecotoxicol Environ Saf.* **82**: 22–31.
- Bainy, A.C.D. 2000.** Biochemical responses in penaeids caused by contaminants. *Aquaculture*, **191**: 163-168.
- Bale, J.S., Van Lenteren, J.C. & Bigler, F. 2008.** Biological control and sustainable food production. *Philosophical Transactions of the Royal Society B.* **363**: 761-776.
- Baniameri, V. & Cheraghian, A. 2012.** The first report and control strategies of *Tuta absoluta* in Iran. *EPPO Bull.*, **42** (2): 322-324.
- Barros, E.C., Bacci, L., Picanco, M.C., Martins, J.C., Rosado, J.F. & Silva, G.A. 2015.** Physiological selectivity and activity reduction of insecticides by rainfall to predatory wasps of *Tuta absoluta*. *J Environ Sci Heal.* **50**: 45-54
- Batalla-Carrera, L., Morton, A. & Garcia-del-Pino F. 2010.** Efficacy of entomopathogenic nematodes against the tomato leafminer *Tuta absoluta* in laboratory and greenhouse conditions. *Bio Control.* **55** : 523-530.
- Bawin, T., Dujeu, D., De Backer, L., Fauconnier, M.L., Lognay, G., Delaplace, P., Francis, F., & Verheggen, F. (2015).** Could alternative solanaceous hosts act as refuges for the tomato leafminer, *Tuta absoluta*? *Arthropod Plant Interact.* **9** (4): 425-435.
- Behroozi Moghadam, E., Izadi, H., Samih, M.A., Moharramipour, S., & Mahdian, K. 2011.** Effect of insect growth regulators, temperature and overwintering on larvae of pistachio white leaf borer, *Ocneria terebintina* Stgr. (Lepidoptera: Lymantriidae). *Int J Agric Biology.* **13**: 375-380.
- Belles, X. & Piulachs, M.D. 2015.** Ecdysone signalling and ovarian development in insects: from stem cells to ovarian follicle formation. *Biochim Biophys Acta.* **1849**(2): 181-186.
- Besard, I., Mommaerts, V., Abdu-Alla, G. & Smagghe, G. 2011.** Lethal and sublethal side effect assessment supports a more benign profile of spinetoram compared with spinosad in the bumblebee *Bombus terrestris*. *Pest Manag Sci.* **67**(5): 541-547.
- Bhatta, D., Henderson, G. & Gautam, B.K. 2016.** Toxicity and Nonrepellency of Spinosad and Spinetoram on Formosan Subterranean Termites (Isoptera: Rhinotermitidae). *J Econ Entomol.* **109** (3): 1341-1349.

- Biber-Freudenberger, L., Ziemacki, J., Tonnang, H.E. & Borgemeister, C. 2016.** Future Risks of Pest Species under Changing Climatic Conditions. *PLoS One* 11(4): e0153237.
- 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**: 803-812.
- Biondi, A., Desneux, N., Amiens-Desneux, E., Siscaro, G. & Zappalà, L. 2013.** Biology and Developmental Strategies of the Palaearctic Parasitoid Bracon nigricans (Hymenoptera: Braconidae) on the Neotropical Moth *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Econ Entomol*. **106**(4):1638-1647.
- Blacquièrè, T., Smagghe, G., Van Gestel, C. A. & Mommaerts V. 2012.** Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotox*. **21**(4): 973–992.
- Bocquené G., 1996.** L'acétylcholinestérase, marqueur de neurotoxicité. Application à la surveillance des effets biologiques des polluants chez les organismes marins. *Thèse de Doctorat, Ecole Pratique des Hautes Etudes*. 250 p.
- Bond, J.G., Marina, C.F. & Williams, T. 2004.** The naturally derived insecticide spinosad in highly toxic to *Aedes* and *Anopheles mosquito* larvae. *Med Vet Entomol*. **18**: 50-56.
- Boulahbel, B., Aribi, N., Kilani-Morakchi, S. & Soltani, N. 2015.** Insecticidal activity of azadirachtin on *Drosophila melanogaster* and recovery of normal status by exogenous 20-hydroxyecdysone. *Afr Entomol*. **23**(1): 224-233.
- Bradford, M.M. 1976.-** A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilising the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.*, **72**, 248-254.
- Brisca Renuga, F. & Sahayaraj, K. 2009.** Influence of botanicals in total head protein of *Spodoptera litura* (Fab.). *J Biopest*. **2**(1): 52-55.
- Board, P.G. & Menon, D. 2013.** Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochim Biophys Acta*. **1830** (5): 3267-3288.
- Cabello, T., Gámez, M., Varga, Z., Garay, J., Carreño, R., Gallego, J. R., Fernández, F. J. & Vila, E. 2012.** Selection of *Trichogramma* spp. (Hym.: Trichogrammatidae) for the biological control of *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae) in greenhouses by an entomo-ecological simulation model. *Integrated Control in Protected Crops, Mediterranean Climate*. **80**: 171-176.
- Cabrera-Marín, N.V., Liedo, P. & Sánchez, D. 2016.** The Effect of Application Rate of GF-120 (Spinosad) and Malathion on the Mortality of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) Foragers. *J Econ Entomol*. **109** (2): 515-519.

- Calvo, F.J., Soriano, J.D., Stansly, P.A., & Belda, J.E. 2016.** Can the parasitoid *Necremnus tutae* (Hymenoptera: Eulophidae) improve existing biological control of the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae)? *Bull Entomol Res.* **28**:1-10.
- Campos, M.R., Rodrigues, A.R.S., Silva, W.M., Silva, T.B.M., & Silva, V.R.F. 2014.** Spinosad and the Tomato Borer *Tuta absoluta*: A Bioinsecticide, an Invasive Pest Threat, and High Insecticide Resistance. *PLoS ONE.* 9(8): e103235. doi:10.1371/journal.pone.0103235
- Canning-Clode, J. 2015.** Invasions in Changing Ecosystems: Vectors, Ecological Impacts, Management and Predictions. Walter de Gruyter GmbH & Co KG, Biological (ed.). 488p.
- Caparros Megido, R., Brostaux, Y., Haubruge, E., & Verheggen, F. J. 2013.** Propensity of the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), to develop on four potato plant varieties. *Am J Potato Res.* **90** (3): 255-260.
- Carvalho, S.M., Belzunces, L.P., Carvalho, G.A., Brunet, J.L. & Badiou Beneteau, A. 2013.** Enzymatic biomarkers as tools to assess environmental quality: a case study of exposure of the honeybee *Apis mellifera* to insecticides. *Environ Toxicol Chem* . **32**: 2117-2124.
- Cassier, P., Descamps, M., Lafont, R., Porchet, M. & Soyez D. 1997.** La reproduction des invertébrés : Stratégies, modalités et régulation intérêt fondamental et appliqué. *Edition Masson Paris.* 354p.
- Castañé, C., Arnó, J., Gabarra, R. & Alomar O. 2011.** Plant damage to vegetable crops by zoophytophagous mirid predators. *Biological Control.* **59**(1): 22-29.
- Castelo-Branco, M. 1992.** Flutuação populacional da traça do tomateiro no Distrito Federal. *Hortic Bras.* **10** : 33-34.
- Chaabane, M., Benchaabane, S., Kilani-Morakchi, S. & Aribi, N. 2012.** Physiotoxicity of spinosad, evaluated to two generations in *Tuta absoluta* (Lepidoptera), an invasive species, and in *Drosophila melanogaster* (Diptera), a reference model. *Bull. Soc. Zool. Fr.* **137**: 61-72.
- Chailleux, A., Bearez, P., Pizzol, J., Amiens-Desneux, E., Ramirez-Romero, R. & Desneux, N. 2013.** Potential for combined use of parasitoids and generalist predators for biological control of the key invasive tomato pest *Tuta absoluta*. *J Pest Sci.* **86**(3): 533-541.
- Chakrabarti, P., Rana, S., Sarkar, S., Smith, B. & Basu, P. 2015.** Pesticide-induced oxidative stress in laboratory and field populations of native honey bees along intensive agricultural landscapes in two Eastern Indian states. *Apidologie.* **46**(1): 107-129.
- Chermi, B. & Abbes, K. 2012.** Comparison of pheromone lures used in mass-trapping to control the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) in industrial tomato crops in Kairouan (Tunisia). *Bulletin OEPP/EPPO Bulletin.* **42**(2): 241-248.

- Cifuentes, D., Chynoweth, R. & Bielza, P. 2011.** Genetic study of Mediterranean and South American populations of tomato leafminer *Tuta absoluta* (Povolny, 1994) (Lepidoptera: Gelechiidae) using ribosomal and mitochondrial markers. - *Pest Manag Sci.* **67**: 1155-1162.
- Claiborne, A. 1985.** Catalase activity. In : Greenwald, R.A. (Ed.) *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research.* CRC Press, Boca Raton, FL, U.S.A. pp. 283-284.
- Clarke, J.F. 1962.** New species of microlepidoptera from Japan. *Entomol News.* **73**(4): 91-102.
- Cocco, A., Deliperi, S. & Delrio, G. 2013.** Control of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lep., Gelechiidae) in greenhouse tomato crops using the mating disruption technique. *J. Appl. Entomol.* **137**(1-2): 16-28.
- Cohen, E. 2010.** Chitin biochemistry: synthesis, hydrolysis and inhibition. *Adv. Insect Physiol.* **38**: 5-74.
- Collet, I., Posieux, I.A.G., Schweiz, A., Guesblott, K.Z.G & Van Deventer, P. 2010.** Plant research International. Ed. Wageningen, Netherlands. *Fruit. Veg. Tech.* **2** : 13-17.
- Contreras, J., Mendoza, J.E., Martínez Aguirre, M.R., Garcíavidal, L., Izquierdo, J. & Bielza, P. 2014.** Efficacy of Entomopathogenic Fungus *Metarhizium anisopliae* Against *Tuta absoluta* (Lepidoptera:Gelechiidae). *J. Econ. Entomol.* **107**: 121-124.
- Dahliz, A., Lakhdari, W., Soud, A., Hammi, H., Boucekima, H. & Belaidi, M. 2013.** Complex of natural enemies and control methods of the exotic invasive pest *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in Southern Algeria. CTAB-ISOFAR-MOAN Symposium 2013, Crop protection management in Mediterranean Organic Agriculture, 14 -16 May 2013 in Sousse, Tunisia. Book of Abstracts, Ben Kheder, M. and Neuhoff, D.Eds. p.48.
- Dammak, M., Khedher, S.B., Boukedi, H., Chaib, I., Laarif, A. & Tounsi, S. 2016.** Involvement of the processing step in the susceptibility/tolerance of two lepidopteran larvae to *Bacillus thuringiensis* Cry1Aa toxin. *Pestic Biochem Physiol.* **127**: 46-50.
- De Backer, L., Caparros Megido, R., Fauconnier, M.L., Brostaux, Y., Francis, F., Verheggen, F. 2015.** *Tuta absoluta*-induced plant volatiles: attractiveness towards the generalist predator *Macrolophus*. *Arthropod Plant Interact.* **9**(5) : 465-476.
- De Coen, W.M. & Janssen, C.R. (1997).** The use of biomarkers in *Daphnia magna* toxicity testing. IV. Cellular energy allocation: a new methodology to assess the energy budget of toxicant-stressed *Daphnia* populations. *J. Aquat. Ecosyst. Stress Recovery.* **6**: 43-55.
- De Deken, R., Speybroeck, N., Gillain, G., Sigue, H., Batawi, K. & Bossche, P.V.D. 2004.** The macrocyclic lactone « spinosad », A promising insecticide for tsetse fly control. *J Med Entomol.* **41**: 814-818.

- De Loof, A. 2008.** Ecdysteroids, juvenile hormone and insect neuropeptides: Recent successes and remaining major challenges. *Gen. Comp. Endocrinol.* **155**: 3-13.
- De Loof, A., De Haes, W., Janssen, T. & Schoofs, L. 2014.** The essence of insect metamorphosis and aging: Electrical rewiring of cells driven by the principles of juvenile hormone-dependent Ca^{2+} homeostasis. *Gen. Comp. Endocrinol.* **199**: 70-85.
- Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.M. 2007.** The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. *Annu Rev Entomol.* **52**: 81-106.
- Desneux, N., Luna, M.G., Guillemaud, T. & Urbaneja, A. 2011.** The invasive South American tomato pinworm, *Tuta absoluta*, continues to spread in Afro-Eurasia and beyond: the new threat to tomato world production. *J Pest Sci.* **84**: 403-408.
- Desneux, N., Wajnberg, E., Wyckhuys, K.A.G., Burgio, G., Arpaia, S., Narva´Ez-Va´Squez, C.A., Gonza´Lez-Cabrera, J., Ruescas, D.C., Tabone, E. & Frandon, J. 2010.** Biological invasion of European tomato crops by *Tuta absoluta*: ecology, history of invasion and prospects for biological control. *Journal of Pesticide Science.* **83**: 197-215.
- Dominguez, A., Puigmartí, M, Bosch., M.P., Rosell, G., Crehuet, R., Ortiz, A., Quero, & C., Guerrero, A.2016.** Synthesis, Functional Assays, Electrophysiological Activity, and Field Tests of Pheromone Antagonists of the Tomato Leafminer, *Tuta absoluta*. *J Agric Food Chem.* **64** (18): 3523-3532.
- Dua, V.K., Pandey, A.C., Raghavendra, K., Gupta, A., Sharma, T. & Dash, A.P. 2009.** Larvicidal activity of neem oil (*Azadirachta indica*) formulation against mosquitoes. *Malaria J.* **8**: 124-129.
- Duchateau, G. & Florkin, M. 1959.-** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Int. Physiol. Biochem.,* **67**: 306-314.
- El- Sheikh, T.A.A. 2012.** Biological, biochemical and histological effects of spinosad, *Bacillus thuringiensis var. kurstaki* and cypermethrin on the Cotton leafworm, *Spodoptera littoralis* (Boisd.), *Egypt. Acad J Biolog Sci.* **4**: 113-124.
- El-barky-Nehad, M., Dahi, H.F. & El-Sayed, Y.A. (2008).** Toxicological evaluation and biochemical impacts for radiant as a new generation of spinosyn of *Spodoptera littoralis* (Boisd.), larvae. *Egypt. Acad. J. Biolog. Sci.* **1** (2): 85-97.
- Ellman, G.L., Courtney, K.D., Andres, V. & Featherstone, R.M. 1961.** A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochem Pharmacol.* **7**: 88-95.
- EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization) 2013.** Reporting Service. No. 4: p. 3. all, D., Diatta, P., Diongue, A. and Dieng, E.O. 2013. First record of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in Senegal open access. *Fla Entomol.* **96** (2): 661-662.

- Estay, P.P. & Bruna A. 2002.** Pollila del Tomate *Tuta absoluta* (Meyrick). I. NLA *la Platina* **9**: 1- 4.
- Etebari, K., Bizhannia, A.R., Sorati, R. & Matindoost, L. 2006.** Biochemical changes in haemolymph of silkworm larvae due to pyriproxyphen residue. *Pestic. Biochem. Physiol.* **88**: 14–19.
- Fabre, M.C., Descamps, M. & Baert, J.L. 1990.** Identification and Partial Characterization of vitellin and vitellogenin from *Scolopendra cingulata* LATREILLE (Myriapoda Chilopoda). In *Proceedings of the 8th International Conference on Myriapodology*, Innsbruck, Austria. Ber. nat.-ined. Verein Innsbruck. 117-121.
- Fagan, W. F., M. A. Lewis, M. G. Neubert., Van den Driessche, P. 2002.** Invasion theory and biological control. *Ecol. Lett.* **5**:1–10.
- Fernandez, S. & Montagne, A., 1990 -** Biologica del minador del tomate, *Scrobipalpa absoluta* (Meyick). *Bol. Entomol. Venez.* **5**(12): 89-99.
- Fisher, R.A. & Yates, F. 1957.** Statical tables for biological agricultural and medical research. 5 eme edition, Olivier et Boyd. London. pp.64-66.
- Frasco, M.F. & Guilhermino, L. 2002.** Effects of dimethoate and betanaphthoflavone on selected biomarkers of *Poecilia reticulata*. *Fish Physiol. Biochem.* **26** : 149-156.
- Gabarra, R., Protecció, V. & Arnó, J. 2010.** Results of tomato leaf miner biological control experiments in greenhouse and open air crops in Catalonia [Spain]. *Phytoma España.* **217**: 66-68.
- Gacemi A. & Guenaoui Y. 2012.** - Efficacy of Emamectin-Benzoate on *Tuta absoluta* Meyrick (Lep : Gelechiidae) infesting a protected tomato crop in Algeria. *Acad. J. Entomology.* **5**(1): 37-40.
- Gäde, G. & Hoffmann, K.H. 2005.** Neuropeptides regulating development and reproduction in insect. *Physiol Entomol.* **30**: 103-121.
- Galvan, T.L., Koch, R.L. & Hutchison, W.D. 2005.** Effects of spinosad and indoxacarb on survival, development, and reproduction of the multicolored Asian lady beetle (Coleoptera: Coccinellidae). *Biol Control.* **34**(1): 108-114.
- Garcia-Mari, F. & Vercher, R. 2010.** Description, origin and expansion of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Phytoma España.* **217**: 16-20.
- Giove & Abis. 2007.** Place de la Méditerranée dans la production mondiale de fruits et légumes. Ed., Institut Agronomique méditerranéen de Bari, 22p.
- Goldsworthy, G.J., Mordue, W. & Guthkelch, J. 1972.-** Studies on insect adipokinetic hormones. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18**: 545-551.

- Gomide, E.V.A., Vilela, E.F. & Picanço, M. 2001.** Comparison of sampling procedures for *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in tomato crop. *Neotrop Entomol.* **30** (4): 697-705.
- Gong, Y., Xu, B., Zhang, Y., Gao, X. & Wu, Q. 2015.** Demonstration of an adaptive response to preconditioning *Frankliniella occidentalis* (Pergande) to sublethal doses of spinosad: a hormetic-dose response. *Ecotoxicology.* **24**(5):1141-51.
- Gontijo, P.C., Picanço, M.C., Pereira, E.J.G., Martins, J.C., Chediak, M. & Guedes, R.N.C. 2013.** Spatial and temporal variation in the control failure likelihood of the tomato leafminer, *Tuta absoluta*. *Annals of Applied Biology.* **152**:50-59.
- González-Cabrera, J., Mollà, O., Monton, H. & Urbaneja, A., 2011.** Efficacy of *Bacillus thuringiensis* (Berliner) in controlling the tomato borer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Bio Control.* **56**: 71-80.
- Goyal, M.M. & Basak, A. 2010.** Human catalase: looking for complete identity. *Protein Cell.* **1**(10): 888-897.
- Guedes, R.N.C. & Picanço, M.C. 2012.** The tomato borer *Tuta absoluta* in South America: pest status, management and insecticide resistance. *EPPO Bull.* **42**(2): 211-216.
- Guedes, R.N.C., Picanço, M.C., Matioli, A.L. & Rocha, D.M. 1994.** Efeito de inseticidas e sistemas de condução do tomateiro no controle de *Scrobipalpuloides absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *An Soc Entomol Bras.* **23**: 321-325.
- Guedes, R.N.C. & Siqueira, H.A.A. 2012.** The tomato pinworm *Tuta absoluta*: insecticide resistance & control failure. *CAB Reviews.* **55**: 1-7.
- Guenauoui, Y. & Ghelamallah, A. 2008.** *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae), nouveau ravageur de la tomate en Algérie : premières données sur sa biologie en fonction de la température. In : AFPP - 8ème Conférence Internationale sur les Ravageurs en Agriculture, Montpellier SupAgro, France, 22-23 Octobre 2008, 645-651.
- Guenauoui, Y., Dahliz, A., Bensaad, R. & Ouezzani, K. 2013.** Five years after the first record of *Tuta absoluta* Meyrick in Algeria, what do we expect from its native natural enemies? Fourth International Scientific Symposium "Agrosym 2013", October 3-6, 2013, pp. 678-682.
- Guenauoui, Y., Labdaoui, M. & Hamou, K. 2014.** Influence de la biodiversité végétale aux abords de la culture de tomate sur les entomophages de *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae). AFPP- dixième conférence internationale sur les ravageurs en agriculture Montpellier, 22 et 23 octobre 2014.
- Guillemaud, T., Blin, A., Le Goff, I., Desneux, N., Reyes, M., Tabone, E., Tsagkarakou, A., Niño, L., Lombaert, E. 2015.** The tomato borer, *Tuta absoluta*, invading the Mediterranean Basin, originates from a single introduction from Central Chile. *Sci Rep.* **5** : 8371.

- Haack, R.A., Herard, F., Sun, J.H. & Turgeon, J.J. 2010.** Managing invasive populations of Asian longhorned beetle and citrus longhorned beetle: a worldwide perspective. *Annu Rev Entomol.* 55: 521-546.
- Habig, W.H., Pabst, M.J. & Jakoby, W.B. 1974.** Glutathione S-transferase, the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem.* 249: 7130-7139.
- Haddi, K., Berger, M., Bielza, P., Cifuentes, D., Field, L.M., Gorman, K, Rapisarda, C., Williamson, M.S. & Bass, C. 2012.** Identification of mutations associated with pyrethroid resistance in the voltage-gated sodium channel of the tomato leaf miner (*Tuta absoluta*). *Insect Biochem Molecul Biol.* 42(7): 506-13.
- Hagedorn, H.H. & Kunkel, J.G. 1979.** Vitellogenin and vitellin in insects. *Annu Rev Entomol.* 24: 475-505.
- Hanafy, H.E.M. & El-Sayed, W. 2013.** Efficacy of bio-and chemical insecticides in the control of *Tuta absoluta* (Meyrick) and *Helicoverpa armigera* (Hubner) infesting tomato plants. *Aust. J. Basic App. Sci.* 7(2): 943-948.
- Hassan, M.N. & Alzaïdi S. 2009.** *Tuta absoluta* - a serious pest advancing in the Mediteranean region. Role of pheromones in management strategies. *Int Pest Control.* 51(2): 85-87.
- Hernández-Fernández, J., Ramírez, N., Fuentes, L. S. & Jiménez, J. 2011.** Molecular and biological characterization of native *Bacillus thuringiensis* strains for controlling tomato leafminer (*Tuta absoluta* Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) in Colombia. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 27: 579–590.
- Hu, J., Feng, F., Zhu, S., Sun, L., Li, G., Jiang, N., Shang, Z. & Niu, Y. 2015.** Catalase C-262T polymorphism and risk of prostate cancer: Evidence from meta-analysis. *Gene.* 558 (2): 265-270.
- Hulme, P., Miller, F., Evers, S., Philips, N., Brooks, A., Whitema, M. & Cohen, A. 2007.** Assessing the risk of significant damage at groundwater-dependent terrestrial ecosystems in England and Wales. In: Proceedings of XXXV IAH Congress « Groundwater and Ecology » (eds Ribeiro, L Chambel A & Condesso de Lelo , M.T.), Lisbon.
- Hussain, R., Mohammed, A. & Saleem, M.A. 2009.** Biochemical abnormalities produced by Spinosad on *Tribolium castaneum* adult beetles. *Indian J Agric. Biol.* 11 (3) : 241-244.
- INPV, 2008.** Nouveau déprédateur de la tomate : Etat des lieux et programme d'action. Note de l'institut National de la protection des végétaux. Ministère de l'Agriculture, Algérie, Juillet 2008, 11 p.
- INPV, 2013** - Lutte biologique contre *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera : Gelechiidae) sur tomate : Lâchers de *Nesidiocoris tenuis* Reuter pour 2012/2013. Institut National de la Protection des Végétaux –Alger, http://www.inpv.edu.dz//new_inpv/IMG/pdf/site_web_mai_2013.pdf, accessed on 02/07/2013.

- Ishaaya, I. 2001.** Biochemical processes related to insecticide action: An overview. In: Ishaaya, I. (Ed). *Biochemical sites of insecticides action and resistance*. Springer. Berlin. 1-16.
- Ishaaya I., Horowitz A.R., 1998.** Insecticides with novel mode of actions: overview. In: Ishaaya I., Degheel D. (Eds). *Insecticides with novel mode of action mechanisms and application*. Springer. Berlin Heidelberg New York, 1-24.
- Jacquet, V., Gueguen & F., Dutton, R. 2002.** – Intérêt du spinosad en viticulture pour lutter contre les lépidoptères, les thrips et la drosophile. *CIRA-AFPP*, **6** (1): 19-26.
- Kalleshwaraswamy, C. M., Shankara Murthy, M., Viraktamath, C. A. & Krishna Kumar, N. K. 2015.** “Occurrence of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in the Malnad and Hyderabad-Karnataka Regions of Karnataka, India.” *Fla Entomol.* **98**(3):970-971.
- Kirst, H.A. 2010.** Spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. *J Antibiot.* **63**(3): 101-111.
- Koller, C.N. & Raikhel, A.S. 1991.** Initiation of vitellogenin uptake and protein synthesis in the mosquito (*Aedes aegypti*) ovary in response to a blood meal. *J Insect Physiol.* **37**:703–711.
- Konuş, M. 2015.** Effects of Oxidative Stress on xenobiotic metabolizing enzymes in *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Turk J Biochem.* **40** (2):175–180.
- Korycinska, A & Moran, H. 2009.** Avis de plantes Nuisibles, n°56, la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* de l’Amérique de Sud. FERA, the Food and Environnement Rechearch. Agency. Pass, Sand Hutton, York. 4p.
- Lavialle-Defaix, C., Moignot, B., Legros & C., Lapied, B. 2010.** How does calcium-dependent intracellular regulation of voltage-dependent sodium current increase the sensitivity to the oxadiazine insecticide indoxacarb metabolite decarbomethoxylated JW062 (DCJW) in insect pacemaker neurons? *J Pharmacol Exp Ther.* **333**(1): 264-72.
- Legwaila, M.M., Munthali, D.C., Obopile, M. & Kwerepe, B.C. 2013.** Effectiveness of Spinosad Against Diamondback Moth (*Plutella xylostella* L.) Eggs and Larvae on Cabbage Under Botswana Conditions. *J Insect Sci.* **6** : 15- 21.
- Lehninger, A.L., Nelson, D.L., Cox & M.M. 1993.** Principles of Biochemistry, 2nd.ed. Worth publishers, New York 400p.
- Li, W., Zhang, J., Zhang, P., Lin ,W., Lin, Q., Li, Z., Hang, F., Zhang, Z., & Lu, Y.2015.** Baseline Susceptibility of *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) to the Novel Insecticide Spinetoram in China. *J Econ Entomol.* **108**(2):736-41.
- Li, X. 2009.** Glutathione and Glutathione-S-Transferase in detoxification mechanisms. In: Ballantyne, B., Marrs, T. & Syversen, T. (Eds). *General and Applied Toxicology*, (Third Edtion). John Wiley & Sons, Ltd, Chicheste, UK. pp.411-423.

- Lietti, M.M.M., Botto, E., & Alzogaray, R.A. 2005.** Insecticide resistance in Argentine populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Neotrop Entomol.* **34**:113-119.
- Lin, X.W. & Xu, W.H. 2016.** Hexokinase is a key regulator of energy metabolism and ROS activity in insect lifespan extension. *Aging (Albany NY).* **8**(2): 245–258
- Liu, N. & Yue X. 2000.** Insecticide resistance and cross- resistance in the house fly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* **93**: 1269-1275.
- Liu, Y., Liu, H., Liu, S., Wang, S., Jiang, R.J. & Li, S. 2009.** Hormonal and nutritional regulation of insect fat body development and function. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **71**: 16-30.
- Liu, X., Chen, M., Collins, H.L., Onstad, D., Roush, R., Zhang, Q. & Shelton, A.M. 2012.** Effect of insecticides and *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) genotype on a predator and parasitoid and implications for the evolution of insecticide resistance. *J Econ Entomol.* **105**(2): 354-62.
- Livingstone, D.R. 2001.** Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Mar Pollut Bull.* **42**: 656-666.
- Lobos, E., Occhionero, M., Werenitzky, D., Fernandez, J., Gonzalez, L.M., Rodriguez, C., Calvo, C., Lopez, G. & Oehlschlager, A.C. 2013.** Optimization of a trap for *Tuta absoluta* Meyrick (Lepidoptera: Gelechiidae) and trials to determine the effectiveness of mass trapping. *Neotrop Entomol.* **42**(5): 448-457.
- Lonare, M., Kumar, M., Raut, S., Badgujar, P., Doltade, S. & Telang, A. 2014.** Evaluation of imidacloprid-induced neurotoxicity in male rats: a protective effect of curcumin. *Neurochem Int.* **78**:122- 9.
- Lopes-Filho, F. 1990.** Tomate industrial no submédio São Francisco e as pragas que limitam sua produção. *Pesq. Agropec. Bras.* **25**(2), p. 283-288.
- Mahdi, K., Doumandji-Mitiche, B., Ababsia, A. & Doumandji S. 2011.** - Les ennemis naturels de la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) en Algérie : perspectives de lutte biologique. *AFPP, ENSA.INPV. El HARRACH Algérie*, 7p.
- Mahmoud, M.E.E. 2013.** Natural enemies of *Tuta absoulta* in Kassala State, Sudan. In: "*Tuta absoluta*: Meeting the challenge of the tomato leafminer" (Bertelsen, M., ed.), Ethiopia. pp: 26-28.
- Maier, C.T. 2001.** Exotic lepidopteran leafminers in North American apple orchards: rise to prominence, management, and future threats. *Biol Invasions.* **3**:283–293.
- Maiza, A., Aribi, N., Smaghe, G., Kilani-Morakchi, S., Benjedid, M. & Soltani, N. 2013.** Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroaches *Blattella germanica*. *Bull insect.* **66**: 11-20.

- Malher H.R & Cordes E.H. 1968.** Biological chemistry, Harper and Row. *Med Physiol.* Vol.1, C.V. Mosby Co, St Louis, 12th edn.
- Mallia, D. 2009.** Guidelines for the control and eradication of *Tuta absoluta*. Ministry for resources and rural affairs, Plant Health Department, Malta. 4p.
- Mamidala, P., Jones, S.C. & Mittapalli, O. 2011.** Metabolic resistance in bed bugs. *Insects.* 2(1): 36-48.
- Manabe, M., Kanda, S., Fukunaga, K., Tsubura, A. & Nishiyama, T. 2006.** Evaluation of the estrogenic activities of some pesticides and their combinations using MtT/Se cell proliferation assay. *Int J Hyg Environ Health.* 209: 413-421.
- Marcano, R. 2007.** Minador Pequeno de la hoja del tomate ; palomolla pequena ; Minador dle tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) 1917. Plagas Agricolas de Venezuela : Artropodos y Vertebras. *Sociedad Venezuela Entomologia.* 4p.
- Margarida, M.A. 2008.** Meneira do romareira (*Tuta absoluta*). Uma nova ameraça aproducao de tomate. (PDF). 10p.
- Martinez, S.S. & Van Emden, H.F. 2001.** Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. *Neotrop Entomol.* 30:113-125.
- Masuda, H. & Oliveira, P.L. 1985.** Characterization of vitellin and vitellogenin from *Rhodnius prolixus*. *Insect Biochem.* 15: 543-550.
- Mc Carthy, A.R., Thomson, B.M., Shaw, I.C. & Abella, A.D. 2006.** Estrogenicity of pyrethroid insecticide metabolites. *J. Environ Monit.* 8: 197-202.
- Medeiros, M.A., Vilela, N.J. & França, F.H. 2006.** Technical and economic efficiency of biological control of the South American tomato pinworm in protected environment. *Hortic Bras.* 24: 180-184.
- Megido, R.C., Haubruge, E. & Verheggen, F.J. 2012.** First evidence of deuterotokous parthenogenesis in the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *J Insect Sci.* 85(4): 409-412.
- Megido, R.C., Haubruge, E. & Verheggen, F.J., 2013.** Pheromone-based management strategies to control the tomato leafminer, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). A review. *Biotechnol Agron Soc Journal.* 17(3): 475-482.
- Michereff Filho, M., Vilela, E.F., Attygalle, A.B., Meinwald, J., Svatos, A. & Jham, G.N. 2000.** Field trapping of tomato moth, *Tuta absoluta* with pheromone traps. *J Chem Ecol.* 26: 875-881.
- Minkenberg, O.P., Lenteren, J.M. & Van, J.C. 1986.** The leafminers *Liriomyza bryoniae* and *L. trifolii* (Diptera: Agromyzidae), their parasites and host plants: a review. *Agric. Univ. Wageningen Pap.* 86(2) : 50.

- Misra, J.R., Horner, M.A., Lam, G. & Thummel, C.S. 2011. Transcriptional regulation of xenobiotic detoxification in *Drosophila*. *Genes Dev.* **25**(17): 1796-1806.
- Mohammadkhani, N. & Heidari, R., 2008. Water stress induced by polyethylene glycol and sodium chloride in two corn cultivars. *Pak. J. Biol. Sci.* **11**(1): 92-97.
- Mohite, A., Dahegaonkar, J. & Dorlikar, A. 2013. Effect of seed kernel oils of *Azadirachta indica* and *Pongamia pinnata* on carbohydrate and protein contents in fifth instar larvae of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera:Noctuidae). *Entomol Gen.* **34**:181-188.
- Molla, O., Gonzalez-Cabrera, J. & Urbaneja, A. 2011. The combined use of *Bacillus thuringiensis* and *Nesidiocoris tenuis* against the tomato borer *Tuta absoluta*. *Bio Control.* **56**: 883-891.
- Mordue, L.A.J., Morgan, E.D. & Nisbet, A.J. 2005. Azadirachtin, a natural product in insect control. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Molecular Insect Science*. Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). Elsevier, Oxford, UK. **6**: 117-135.
- Nauen, R. & Bretchneider, T. 2002. New modes of action of insecticides. *Pestic outlook.* **13** : 241- 245.
- Nayak, M.K., Collins P.J. & Pavic, H. 2002. Long term effectiveness of grain protectants and structural treatments against *Liposcelis decolor* (Pearman) (Psocoptera: Liposcelidae), a pest of stored products. *Pest Manag. Sci.*, **58**, 1223–1228.
- Noyes, J.S. 2013. Universal Chalcidoidea Database. World Wide Web electronic publication. <http://www.nhm.ac.uk/chalcidoids>.
- Oliveira, V. T. P., Berger, B., Cruz-Landim, C. & Simões, Z. L. P. 2012. Vitellogenin content in fat body and ovary homogenates of workers and queens of *Melipona quadrifasciata anthidioides* during vitellogenesis. *Insect Science.* **19**: 213–219.
- Olson, L.J. 2006. The economics of terrestrial invasive species: a review of the literature. *J Agr Resour Econ.* **35**:178-194.
- Ortego, F., López-Olguin, N.J., Ruiz, M. & Castañera, P. 1999. Effects of toxic and deterrent terpenoids on digestive protease and detoxication enzyme activities of Colorado potato beet larvae. *Pest. Biochem. Physio.* **163**:76-84.
- Öztemiz, S. 2013. Population of *Tuta absoluta* and natural enemies after releasing on tomato grown greenhouse in Turkey. *Afr J Biotechnol.* **12**(15): 1882-1887.
- Pandey, S., Ahmad, I., Parvez, S., Bin-Hafeez, B., Haque, R., Raisuddin & S. 2001. Effect of endosulfan on antioxidants of freshwater fish *Channa punctatus* Bloch: 1. Protection against lipid peroxidation in liver by copper preexposure. *Arch Environ Contam Toxicol.* **41** : 345-352.
- Parrella, M. P. & Jones, V. P. 1987. Development of integrated pest management strategies of floricultural crops. *Bull. Ent. Soc.Amer.* **33**: 28-34.

- Parveen, F. & Miyata, T. 2000.** Effects of sublethal dose of chlorfluazuron on ovarian development and oogenesis in common cutworm *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Ann Ent Soc America*. **93**: 1131-1137.
- Pfeiffer, D. G., Muniappan, R., Sall, D., Diatta, P., Diongue, A., & Dieng, E. O. 2013.** First record of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) in Senegal. *Fla Entomol.* **96**: 661-662.
- Pineda, S., Budia, F., Schneider, M.I., Gobbi, A., Vinuela, E., Valle, J. & Del Estal, P. 2004.** Effect of two biorational insecticides, spinosad and methoxyfenozide, on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) under laboratory conditions. *J. Econ. Entomol.* **97** (6): 1906-1911.
- Piri, F., Sahruga A., Ghadamyari, M. 2014.** Sublethal Effects of Spinosad on Some Biochemical and Biological Parameters of *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Plant Protect. Sci.* **50**(3): 135-144.
- Postlethwait, J.H., Bownes, M. & Jowett, T. 1980.** Sexual phenotype and vitellogenin synthesis in *Drosophila melanogaster*. *Dev Biol.* **79**(2): 379–387.
- Povolny, D. 1987.** Gnorimoschemini of Southern South America III: the *Scrobipalpuloid* genera (Insecta, Lepidoptera: Gelechiidae). *Steenstrupia*. **13**(1):1-91.
- Povolny, D. 1994.** Gnorimoschemini of South America VI: identification keys checklist of Neotropical taxa and general considerations (Insecta, Lepidoptera, Gelechiidae). *Steenstrupia*. **20**(1):1-42.
- Puig, O. & Mattila, J. 2011.** Understanding Forkhead box class O function: lessons from *Drosophila melanogaster*. *Antioxid. Redox. Signal.* **14**: 635-647.
- Rabea, E.I., Nasr, H.M. & Badawy, M.E. 2009.** Toxic effect and biochemical study of chlorfluazuron, oxymatrine, and spinosad on honey bees (*Apis mellifera*). *Arch Environ Contam Toxicol.* **58**: 722-732.
- Ragsdale, D.W., Landis, D.A., Brodeur, J., Heimpel, G.E. & Desneux, N. 2011.** Ecology and management of the soybean aphid in North America. *Annu Rev Entomol.* **56**: 375-99.
- Ramel, J.M. 2010.** *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917). L.N.P.V. Station d'entomologie Montpellier RHM : *Rev Hort.* **512** : 23-25.
- Rao, V.J., Srikanth, K., Arepalli, S.K. & Gunda, V.G., 2006.** Toxic effects of acephate on *Paramecium caudatum* with special emphasis on morphology, behaviour, and generation time. *Pest Biochem and Physiol.* **86** : 131-137.
- Rashwan, M.H. 2013.** Biochemical Impacts of Rynaxypyr (Coragen) and Spinetoram (Radiant) on *Spodoptera littoralis* (Boisd.) *Nat Sci.* **11**(8): 40-47.

- Reddy, G.V. & Antwi, F.B. 2016.** Toxicity of natural insecticides on the larvae of wheat head armyworm, *Dargida diffusa* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ Toxicol Pharmacol.* **42**:156-62.
- Reyes, M., Rocha, K., Alarcón, L., Siegwart, M. & Sauphanor, B. 2012.** Metabolic mechanisms involved in the resistance of field populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) to spinosad. *Pest Biochem and Physiol.* **102**: 45-50.
- Rharrabe, K., Amri, H., Bouayad, N. & Sayah, F. 2008.** Effects of azadirachtin on post-embryonic development, energy reserves and amylase activity of *Plodia interpunctella* Hübner (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Stor. Prod. Res.* **44**: 290 - 294.
- Rinkevich, F.D. & Scott, J.G. 2012.** Reduction of *dADAR* activity affects the sensitivity of *Drosophila melanogaster* to spinosad and imidacloprid. *Pest Biochem and Physiol.* **104**(2): 163-169.
- Roditakis, E., Skarmoutsou, C. & Staurakaki, M. 2013.** Toxicity of insecticides to populations of tomato borer *Tuta absoluta* (Meyrick) from Greece. *Pest Manag Sci* **69**: 834-840.
- Sabbour, M.M. & Abdel-Rahman, A. 2013.** Efficacy of isolated *Nomuraea rileyi* and spinosad against corn pests under laboratory and field conditions in Egypt. *Ann Rev & Res in Biol.* **3**(4): 903-912.
- Shaltiel-Harpaz, L., Gerling, D., Graph, S., Kedoshim, H., Azolay, L., Rozenberg, T., Nachache, Y., Steinberg, S., Allouche, A., Alon, T. 2016.** Control of the Tomato Leafminer, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae), in OpenField Tomatoes by Indigenous Natural Enemies Occurring in Israel. *J Econ Entomol.* **109** (1):120-31.
- Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyneck, C., New hall, A., Freidman L., 1966.** A method for the sequential quantitative separation and glycogen from a single rat liverhomogenate or from a subcellular fraction, *Analyt. Biochem.*, **19**: 415-428.
- Salazar, E.R. & J.E. Araya. 2001.** Respuesta de la polilla del tomate, *Tuta absoluta* (Meyrick), a insecticidas en Arica. *Agricola Técnica.* **61**: 429-435.
- Sarfraz, M., Dossall, L.M. & Keddie, B.A. 2005.-** Spinosad: a promising tool for integrated pest management. *Outlook Pest Manag.* **16** (2): 78-84.
- Sawczyn, B. Dolezych, M. Klosok, M. Augustyniak, D. Stygar, R.J. Buldak, M. Kukla, K. Michalczyk, I. Karcz-Socha, & Zwirska-Korczala K. 2012,** Alteration of carbohydrates metabolism and midgut glucose absorption in *Gromphadorhin portentosa* after subchronic exposure to imidacloprid and fenitrothion. *J Environ Sci Heal A.* **47**: 1644-1651.
- Saxena, A., & Kesari, V.P. 2016.** Lack of genotoxic potential of pesticides, spinosad, imidacloprid and neem oil in mice (*Mus musculus*). *J Environ Biol.* **37** (2):291-5.

- Seplyarsky, V., Weiss, M. & Haberman, A. 2010.** *Tuta absoluta* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae), a new invasive species in Israel. *Phytoparasitica*. **38** (5): 445-446.
- Shelton, A. M., & B. A. Nault. 2004.** Dead-end trap cropping: a technique to improve management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Crop Prot.* **23**: 497–503.
- Shibko, S. P., Koivistoinen, C., Tratynek, A., Newhall & L., Friedman. 1966.** A method for the sequential quantitative separation and determination of protein. RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Anal Biochem.* **19**: 415 - 528.
- Silva, G.A., Picanco, M.C., Bacci, L., Crespo, A.L., Rosado, J.F. & Guedes, R.N. 2011.** Control failure likelihood and spatial dependence of insecticide resistance in the tomato pinworm, *Tuta absoluta*. *Pest Manag Sci.* **67**: 913-92.
- Siqueira, H.A., Guedes, R.N. & Picanco, M.C. 2000.** Insecticide resistance in populations of *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Agric Forest Entomol.* **2**:147-153.
- Siqueira, H.A.A., Guedes, R.N.C., Fragoso, D.B. & Magalhaes, L.C. 2001.** Abamectin resistance and synergism in Brazilian populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Int J Pest Manag.* **47**: 247-251.
- Snoussi S A., 2010 -** *Etude de base sur la Tomate en Algérie.* Rapport. Université Saad Dahlab, Blida.3 p.
- Soderlund, DM. 1997.** Pharmacokinetic behavior of enantiomeric pyrethroid esters in cockroach. *Peiplaneta americana* L. *Pest Biochem Physiol.* **12** : 38-48.
- Somers, J., Nguyen, J., Lumb, C., Batterham, P. & Perry, T. 2015.** In vivo functional analysis of the *Drosophila melanogaster* nicotinic acetylcholine receptor D α 6 using the insecticide spinosad. *Insect Biochem Molecul Biol.* **64**: 116-127.
- Souza, J.C., Reis, P.R. & Salgado, L.O. 1992.** *Tracea do Tomateiro: Historico, Reconhecimento, Biologia, Prejuřozos e Controle,* Belo Horizonte: EPAMIG.
- Spencer, K.A. 1973.** Agromyzidae (Diptera) of economic importance. *Series Entomologica.* **9**: 418.
- Speranza, S., Virla, E. & Huemer, P. 2009.** *Tuta absoluta*, riconoscerla per gestirla. *Terra Vita* **25**: 44-47.
- Suckling, D.M. & Brockerhoff, E.G. 2010.** Invasion biology, ecology, and management of the light brown apple moth (Tortricidae). *Annu Rev Entomol.* **55**:285-306.
- Sugumaran, M. 2010.** Chemistry of cuticular sclerotization. *Adv. Insect Physiol.* **39**: 151-209.

- Swevers, L., Raikhel, A.S., Sappington, T.W., Shirk, P. & Iatrou, K. 2005.** Vitellogenesis and post-vitellogenic maturation of the insect ovarian follicle. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, Oxford, U.K.
- Taha, A.M., Homam, B.H., Afsah, A.F.E. & EL-Sharkawy, F.M. 2012.** Effect of trap color on captures of *Tuta absoluta* moths (Lepidoptera: Gelechiidae). *Inter. J. Environ. Sci. Engineer.* **3**: 43-48.
- Tamam, B. M., Ghadamyari, M., Sahragard, A. & Karimi-Malati, A. 2014.** Sublethal Effects of Spinosad on Some Biochemical Parameters of *Xanthogaleruca luteola* (Müller) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Plant Protect. Sci.* **50**(4): 199–206.
- Thakore, Y. 2006.** The biopesticide market for global agriculture use. *Ind Biotechnol.* **2** (3): 194-208.
- Thompson, G.D., Dutton R. & Sparks, T.C. 2000.** Spinosad a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Manag Sci.* **56**: 696-702.
- Tine, S., Tine-Djebbar, F., Aribi, N. & Boudjelid H. 2015.** Topical Toxicity of Spinosad and Its Impact on the Enzymatic Activities and Reproduction in the Cockroach *Blatta orientalis* (Dictyoptera: Blattellidae). *Afr Entomol.* **23** (2) : 387–396.
- Tofangsazi, N., Cherry, R.H., Beeson, R.C. Jr., & Arthurs, S.P. 2015.** Concentration-Response and Residual Activity of Insecticides to Control *Herpetogramma phaenopteralis* (Lepidoptera: Crambidae) in St. Augustinegrass. *J Econ Entomol.* **108** (2):730-5.
- Tomé, H.V.V., Cordeiro, E.M.G., Rosado, J.F., & Guedes, R.N.C., 2012.** Egg exposure to pyriproxyfen in the tomato leafminer *Tuta absoluta*: ovicidal activity or genhavioural-mediated hatching mortality? *Annals of Applied Biology.* **160** : 35-42.
- Tomé, H.V.V., Martins, J.C., Corrêa, A.S., Galdino, T.V.S., Picanço, M.C. & Guedes, R.N.C. 2013.** Azadirachtin avoidance by larvae and adult females of the tomato leafminer *Tuta absoluta*. *Crop Prot.* **46** : 63-69.
- Torres, J.B., Faria, C.A., Evangelista, W.A. & Pratissol, D. 2001.** Within-plant distribution of the leaf miner *Tuta absoluta* (Meyrick) immatures in processing tomatoes, with notes on plant phenology. *Int J Pest Manag.* **47**: 173-178.
- Urbaneja, A., González-Cabrera, J., Arnó, J. & Gabarra, R. 2012.** Prospects for the biological control of *Tuta absoluta* in tomatoes of the Mediterranean basin. *Pest Manag Sci.* **68**(9): 1215-1222.
- Urbaneja, A., Vercher, R., Navarro, V., Garcia Mari F. & Porcuna, J.L. 2007.** La polilla del tomate, *Tuta absoluta*. *Phytoma.* **194**:16-23.

- Vacas, S., Alfaro, C., Primo, J. & Navarro-Llopis, V. 2011. Studies on the development of a mating disruption system to control the tomato leafminer, *Tuta absoluta* Povolny (Lepidoptera: Gelechiidae). *Pest Manag Sci.* **67**(11): 1473-1480.
- Vercher, R., Calabuig, A. & Felipe, C. 2010. Ecología, muestreos y umbrales de *Tuta absoluta* (Meyrick). *Phytoma* **217**: 23-26.
- Verslycke, T., Vercauteren, J., Devos, C., Moens, L., Sandra, P. & Janssen, C.R. 2003. Cellular energy allocation in the estuarine mysid shrimp *Neomysis integer* (Crustacea: Mysidacea) following tributyltin exposure. *J Exp Mar Biol Ecol.* **288**: 167-179.
- Vivan, L.M., Torres, J.B. & Veiga, A.F.S.L. 2003. Development and reproduction of a predatory stinkbug, *Podisus nigrispinus*, in relation to two different prey types and environmental conditions. *Bio Control.* **48**:155-168.
- Wang, D., Gong, P., Li, M., Qiu, X. & Wang, K. 2009. Sublethal effects of spinosad on survival growth and reproduction of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pest Manag Sci.* **65**: 223-227.
- Wang, D., Qiu, X., Ren, X., Zhang, W. & Wang, K. 2009. Effects of spinosad on *Helicoverpa amirigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China: tolerance status, synergisme and enzymatic responses *Pest Manag Sci.* **65**(9): 1040-1046.
- Wang, D., Wang, Y.M., Liu, H.Y., Xin, Z. & Xue, M. 2013. Lethal and sublethal effects of spinosad on *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* **106**: 1825-31.
- Wanner, K. W., Helson, B. V. & Harris, B. J. 2000. Laboratory and field evaluation of Spinosad against the gypsy moth, *Lymantria dispar*. *Pest Manag Sci.* **56**: 855-860.
- Wanner, KW., Helson, B.V. & Harris, B.J. 2002. Laboratory evaluation of two novel Strategies to control First- instar gypsy moth larvae with spinosad applied to tree trunks. *Pest Manag Sci.* **58**: 817-27.
- Ware, G. W. & Whitacre, D. M. 2004.- *The pesticide book.*- Meister Publications, Willoughby, USA.
- Wenning, R.J., Di Giulio, R.T. & Gallaghe, E.P. 1988. Oxidant mediated biochemical effects of paraquat on the ribbed mussel, *Geukensia demissa*. *Aquat. Toxicol.* **12**: 157-170.
- Yalçın M., Mermer S., Kozaci Ld. & Turgut C., 2015. Insecticide resistance in two populations of *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) from Turkey. *Türk. entomol. derg.* **39** (2): 137-145.
- Yildirim, N.C., Benzer, F. & Danabas, D. 2011. Evaluation of environmental pollution at Munzur river of Tunceli applying oxidative stress biomarkers in *Cappota trutta* (Heckel, 1843). *J Ann Plant Sci.* **21**(1): 66-71.

- Yin, X.H., Wu, Q.J., Li, X.F., Zhang, Y.J. & Xu, B.Y. 2009.** Demographic changes in multigeneration *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) after exposure to sublethal concentrations of spinosad. *J Econ Entomol.* **102**: 357-65.
- Zappala, L., Bernardo, U., Biondi, A., Cocco, A., Deliperi, S., Delrio, G., Giorgini, M., Pedata, P., Rapisarda, C., Garzia, G.T. & Siscaro, G. 2012.** Recruitment of native parasitoids by the exotic pest *Tuta absoluta* in Southern Italy. *Bull insect.* **65** (1): 51-61.
- Zappalà, L., Biondi, A., Alma, A., Al Jboory, I.J., Arnò, J., Bayrama, A., Chailleux, A., El Arnaouty, A., Gerling, D., Guenaoui, Y., Shaltiel Hapaz, L., Siscaro, G., Stavrinides, M., Tavella, L., Vercher Aznar, R., Urbaneja, A., Desneux, N. 2013.** Natural enemies of the South American moth, *Tuta absoluta*, in Europe, North Africa and Middle East, and their potential use in pest control strategies *J Pest Sci.* **86** (4): 635-647.
- Zhang, Y. & Xi, Y. 2014.** Fat Body Development and its Function in Energy Storage and Nutrient Sensing in *Drosophila melanogaster*. *Tissue Sci Eng.* **6**:1.
- Zidan, N.H. 2015.** Hepato- and nephrotoxicity in male albino rats exposed to malathion and spinosad in stored wheat grains. *Acta Biol Hung.* **66**(2):133-48.

ANNEXE

Production Scientifique

PUBLICATIONS

1. **Benchaabane, S., Aribi, N., Kilani-Morakchi S. & Chaabane M. 2016.** Delayed toxic effects of spinosad on G1 progeny of an invasive species, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Afr Entomol.* **24**(2): 412- 420.
2. **Chaabane, M., Benchaabane, S., Kilani-Morakchi, S. & Aribi, N. 2012.** Physiotoxicity of spinosad, evaluated to two generations in *Tuta absoluta* (Lepidoptera), an invasive species, and in *Drosophila melanogaster* (Diptera), a reference model. *Bull. Soc. Zool. Fr.* **137**: 61-72.

COMMUNICATIONS

Internationales

1. **M. Chaabane, S. Benchaâbane, S. Kilani-Morakchi, N. Aribi, 2011.** Physiotoxicité du Spinosad (pesticide naturel), évalué sur deux générations chez *Tuta absoluta* (Lepidoptera), et chez *Drosophila melanogaster* (Diptera). Congrès de la Société Zoologique de France, 13-16 septembre 2011, Nice, France.
2. **S. Benchaâbane, M. Chaabane, S. Kilani-Morakchi, N. Aribi, 2013.** Neurotoxicité du Spinosad, évalué sur deux générations chez *Tuta absoluta* (Lepidoptera) et *Drosophila melanogaster* (Diptera). 3^{ème} Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie et d'Ichtyologie, 6-10 Novembre 2012, Marrakech, Maroc.
3. **S. Benchaâbane, M. Chaabane, S. Kilani-Morakchi, N. Aribi, 2013.** Toxicité du Spinosad et évaluation des glutathion S-transférases au cours de deux générations successives chez *Tuta absoluta* (Lepidoptera). Congrès International « 50 ans de Formation et de Recherche », ENSA, 22-24 Avril 2013, Alger, Algérie.
4. **M. Chaabane, S. Benchaâbane, S. Kilani-Morakchi, N. Aribi, 2014.** Effets différés du spinosad sur les vitellogénines et les vitellines ovariennes chez *Drosophila melanogaster*. 8^{ème} Conférence Internationale Francophone d'Entomologie, 23-27 juin 2014, Hammamet, Tunisie.
5. **M. Chaabane, S. Benchaâbane, S. Kilani-Morakchi, N. Aribi, 2015.** Evaluation des effets différés d'un biopesticide, le spinosad, chez *Drosophila melanogaster* (Diptera). Congrès international de Biologie Animale USTO-MB, 29-décembre 2015, Oran, Algérie.