



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



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

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

Spécialité : BIOLOGIE ANIMALE

Intitulé

INVENTAIRE DES MOUSTIQUES AU NIVEAU DU LAC DES OISEAUX,
ETUDE BIOECOLOGIQUE, ETUDE TOXICOLOGIQUE AVEC UN
AGONISTE DE L'HORMONE DE MUE LE METHOXYFENOZIDE SUR
Culiseta morsitans : ASPECT BIOCHIMIQUE ET POTENTIEL

Presentée par : M^{me} HAOUARI-ABDERRAHIM Jaouida

Membres de Jury :

Président : Pr. Nouredine SOLTANI	Université Badji Mokhtar Annaba
Directrice de thèse : Pr.Nassima REHIMI	Université Badji Mokhtar Annaba
Examinatrice :Pr. Karima HASSAINE	Université Tlemcen
Examineur :Pr. Malik LAAMARI	Université El-Hadj Lakhdar Batna
Examineur :Pr. Mohamed BELHAMRA	Université de Biskra
Examineur :Pr. Hamid BOUDJELIDA	Université Badji Mokhtar Annaba

Année Universitaire: 2015 -2016



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



FACULTE DES SCIENCES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

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

Spécialité : BIOLOGIE ANIMALE

Intitulé

INVENTAIRE DES MOUSTIQUES AU NIVEAU DU LAC DES OISEAUX,
ETUDE BIOECOLOGIQUE, ETUDE TOXICOLOGIQUE AVEC UN
AGONISTE DE L'HORMONE DE MUE LE METHOXYFENOZIDE SUR
Culiseta morsitans : ASPECT BIOCHIMIQUE ET POTENTIEL

Presentée par : M^{me} HAOUARI-ABDERRAHIM Jaouida

Membres de Jury :

Président : Pr. Nouredine SOLTANI

Université Badji Mokhtar Annaba

Directrice de thèse : Pr. Nassima REHIMI

Université Badji Mokhtar Annaba

Examinatrice : Pr. Karima HASSAINE

Université Tlemcen

Examineur : Pr. Malik LAAMARI

Université El-Hadj Lakhdar Batna

Examineur : Pr. Mohamed BELHAMRA

Université de Biskra

Examineur : Pr. Hamid BOUDJELIDA

Université Badji Mokhtar Annaba

Année Universitaire: 2015 -2016

Remerciements

Le travail présenté dans cette thèse a été réalisé dans le laboratoire de Biologie Appliquée dirigé par Monsieur Nouredine SOLTANI, Professeur à la Faculté des Sciences à Annaba. Je voudrai le remercier pour s'être toujours soucie de l'avancement de mes travaux, et d'avoir accepté de présider ce jury. Il a toujours fait preuve d'enthousiasme, de bonne humeur et d'encouragements qui m'ont motivé dans les périodes difficiles.

Je tiens tout particulièrement à exprimer mes plus vifs remerciements et ma profonde gratitude à Madame Nassima REHIMI, Professeur à l'Université d'Annaba de m'avoir fait confiance et proposé ce sujet. Merci pour son soutien et ses conseils qui m'ont permis de mener à bien cette thèse.

Mes plus sincères remerciements vont à Madame Karima HASSAINE Professeur de l'Université Abou Bakr Belkaid, Tlemcen, Monsieur Malik LAAMARI Professeur de l'Université EL-Hadj Lakhdar, Batna et de Monsieur Mohamed Belhamra Professeur de l'Université Mohamed Khider, Biskra pour avoir accepté d'examiner et de juger ce travail mais aussi pour le déplacement.

Ces mêmes remerciements s'adressent à Monsieur Hamid BOUDJELIDA Professeur à l'université d'Annaba pour sa gentillesse et sa sollicitude.

Un grand merci à Madame Fatiha BENDALI-SAOUDI qui m'a initié dans le travail de terrain.

Je voudrais remercier Madame Samira YEZLY-TOUIKER et Mademoiselle Amel HAMDANI Maître de conférences à l'Université d'Annaba pour leur disponibilité au laboratoire. Madame Anissa BOUAZIZ-METIAZ technicienne au laboratoire de physiologie animale et Madame Nadia CHAKOURI technicienne au laboratoire de physiologie végétale, pour leur gentillesse et disponibilité.

Je ne saurais jamais remercier ma famille et mes amis pour leur soutien permanent. Comme vous êtes nombreux je ne peux nommer tout le monde, mais je sais que vous vous reconnaitrez.

Enfin je remercie mon amie Madame Rania SELMANE- MESKACHE pour sa bonne humeur et ses encouragements.

A la mémoire de mon père

A ma mère, mon mari et mes enfants

SOMMAIRE

	Page
1. INTRODUCTION GENERALE	1
2. METHODOLOGIE.....	6
2.1 Présentation de la zone d'étude.....	6
2.1.1 Description générale et localisation du lac des Oiseaux.....	5
2.1.2 Végétation aquatique.....	6
2.1.3 Choix des stations.....	9
2.2 Matériel d'étude	11
2.2.1 Présentation de la famille des Culicidae.....	11
2.2.2 Modèle biologique.....	14
2.2.3 Présentation de l'insecticide.....	14
2.3 Méthode d'étude.....	16
2.3.1 Technique d'élevage.....	16
2.3.2 Traitement et tests de toxicité.....	16
2.3.3 Détermination des différents types morphogénétiques.....	17
2.3.4 Dosages des métabolites.....	17
2.3.5 Détermination de la durée de développement.....	21
2.3.6 Détermination du potentiel reproducteur.....	21
2.3.7 Analyses statistiques.....	22
Chapitre 1. Inventaire et détermination systématique des Culicidés du lac des Oiseaux.....	23
1. Introduction.....	23
2. Résultats.....	25
2.1 Inventaire des espèces de Culicidés.....	25
2.2 Abondance des espèces.....	26
2.3 Présentation des espèces inventoriées.....	27
Chapitre 2. Toxicité.....	34
1. Introduction.....	34
	36

2. Résultats	
2.1 Toxicité du méthoxyfénozide (RH-2485) à l'égard des adultes de <i>Cs. morsitans</i> et détermination des CL₅₀ et LC₉₀	36
2.1.1 Mortalité directe	36
2.1.2 Mortalité indirecte	40
2.2 Répartition des différents types morphogénétiques induits	44
Chapitre 3. Effet du méthoxyfénozide sur les métabolites corporels, développement et la reproduction	49
1. Introduction	49
2. Résultats	51
2.1 Effet du méthoxyfénozide sur la composition biochimique	51
2.1.1 Effet du méthoxyfénozide sur le poids.....	51
2.1.2 Effet sur le contenu en protéines.....	52
2.1.3 Effet sur le contenu en glucides.....	55
2.1.4 Effet sur le contenu en lipides.....	57
2.2 Effet du méthoxyfénozide sur la durée du développement	59
2.3 Effet du méthoxyfénozide sur le potentiel reproducteur	61
2.3.1 Effet du méthoxyfénozide sur la fécondité et sur la fertilité.....	61
2.3.2 Effet du méthoxyfénozide sur la stérilité.....	64
DISCUSSION	66
1. Etude taxonomique.....	66
2. Toxicologie du méthoxyfénozide.....	67
2.1 Tests de toxicité.....	68
2.2 Types morphogénétiques.....	69
2.3 Effet sur la composition biochimique.....	70
2.4 Effet sur la durée de développement.....	73
2.5 Effet sur la reproduction.....	73
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	76

RESUMES	77
Français.....	78
Anglais.....	79
Arabe.....	80

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	81
--	-----------

ANNEXE: Productions Scientifiques

Liste des tableaux

Tableau 1.	Dosage des protéines totales chez <i>Culiseta morsitans</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	18
Tableau 2.	Dosage des glucides chez <i>Culiseta morsitans</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	18
Tableau 3.	Dosage des lipides totaux chez <i>Culiseta morsitans</i> : réalisation de la gamme d'étalonnage.	19
Tableau 4.	Abondance relative (%) des espèces de Culicidés dans les deux gites Sud et Sud-Est du lac des Oiseaux.	26
Tableau 5.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> : Mortalité observée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$).	37
Tableau 6.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> : Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$).	37
Tableau 7.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) sur des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> : Transformation angulaire ($m \pm SD$, $n = 3$).	38
Tableau 8.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> : Analyse de la variance des données transformées.	39
Tableau 9.	Transformation en logarithmes décimaux des concentrations testées et en probits les mortalités corrigées après traitement à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> .	39
Tableau 10.	Efficacité du méthoxyfénozide (RH-2485) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> après 24h de traitement : détermination de la CL_{50} et la CL_{90} (mg/L) et leurs intervalles de confiance (95%).	40
Tableau 11.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> : Mortalité observée cumulée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$).	41
Tableau 12.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> : Mortalité corrigée cumulée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$).	41
Tableau 13.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> : Transformation angulaire ($m \pm SD$ $n = 3$).	42

Tableau 14.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> : Analyse de la variance des données transformées.	43
Tableau 15.	Transformation en logarithmes décimaux des concentrations testées et en probits les mortalités corrigées cumulées après traitement à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Cs. morsitans</i> .	43
Tableau 16.	Efficacité du méthoxyfénozide (RH-2485) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> après 24h de traitement: détermination de la CL ₅₀ et la CL ₉₀ (mg/L) et leurs intervalles de confiance (95%).	44
Tableau 17.	Pourcentage des types morphogénétiques induits par le méthoxyfénozide après traitement des larves du dernier stade de <i>Cs. morsitans</i> (m± SD n=3).	46
Tableau 18.	Pourcentage des types morphogénétiques (intermédiaires larve-pupe) induits par le méthoxyfénozide (RH-2485) après traitement des larves du dernier stade de <i>Cs. morsitans</i> : analyse de la variance (m ± SD ; n = 3).	46
Tableau 19.	Pourcentage des types morphogénétiques (pupe blanche) induits par le méthoxyfénozide après traitement des larves du dernier stade de <i>Cs. morsitans</i> : analyse de la variance (m ± SD ; n = 3).	47
Tableau 20.	Pourcentage des types morphogénétiques (pupe brune) induits par le méthoxyfénozide après traitement des larves du dernier stade de <i>Cs. morsitans</i> : analyse de la variance (m ± SD; n = 3).	47
Tableau 21.	Pourcentage des types morphogénétiques (adultes partiellement émergés) induits par le méthoxyfénozide après traitement des larves du dernier stade de <i>Cs. morsitans</i> : analyse de la variance (m ± SD ; n = 3).	47
Tableau 22.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) (CL ₅₀) sur le poids (mg) des larves du dernier stade de <i>Cs. morsitans</i> (m ± SD ; n = 3): Comparaison des moyennes entre les différentes séries.	51
Tableau 23.	Dosage des protéines totales : réalisation de la gamme d'étalonnage.	53
Tableau 24.	Effet du RH-2485 (CL ₅₀) sur le contenu en protéines (µg/individu) des larves de <i>Cs. morsitans</i> (m ± SD ; n = 3): Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules).	54
Tableau 25.	Dosage des glucides totaux: réalisation de la gamme d'étalonnage.	55
Tableau 26.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en glucides (µg/individu) des larves de <i>Cs. morsitans</i> (m ± SD ; n = 3): Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (Lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (Lettres minuscules).	56
Tableau 27.	Dosage des lipides totaux: réalisation de la gamme d'étalonnage.	57

Tableau 28.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en lipides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des larves de <i>Cs. morsitans</i> ($m \pm s$; $n = 3$): Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules).	
Tableau 29.	Effet du méthoxyfénozide (RH- 2485) sur la durée (jours) de développement des larves du quatrième stade (L4) et des nymphes de <i>Cs. morsitans</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 5$)	59
Tableau 30.	Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur la durée (jours) de développement des larves du quatrième stade (L4) et des nymphes de <i>Cs. morsitans</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 5$).	60
Tableau 31.	Toxicité du méthoxyfénozide sur la fécondité et fertilité de <i>Cs. morsitans</i> après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$).	62
Tableau 32.	Fécondité de <i>Cs. morsitans</i> après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide: analyse de la variance: ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$).	63
Tableau 33.	Fertilité de <i>Cs. morsitans</i> après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide: analyse de la variance: ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$).	64
Tableau 34.	Toxicité du méthoxyfénozide sur la Stérilité de <i>Cs. morsitans</i> après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$).	64
Tableau 35.	Stérilité de <i>Cs. morsitans</i> après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide: analyse de la variance: ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$).	65

Liste des figures

Figure 1. Situation géographique de la zone d'étude.	8
Figure 2. Végétation du lac des Oiseaux.	8
Figure 3. Localisation des gîtes larvaires.	10
Figure 4. Cycle de développement des moustiques.	13
Figure 5. Structure chimique des ecdystéroïdes et du méthoxyfénozide.	15
Figure 6. Principales étapes d'extraction des métabolites : protéines, glucides, lipides (Shibko <i>et al.</i> , 1966).	20
Figure 7 Relevé des espèces de Culicidae dans le lac des Oiseaux.	25
Figure 8. Ornementation inter-oculaire avec une touffe de longues écailles d' <i>Anopheles saccharovi</i> .	27
Figure 9. Ornementation générale sombre avec tâche d' <i>Anopheles saccharovi</i>	27
Figure 10. Tergites abdominaux de <i>Culex theileri</i> .	28
Figure 11. Palpes parsemés d'écailles claires de <i>Culiseta ochroptera</i> .	29
Figure 12. Fémur parsemé d'écailles claires de <i>Culiseta ochroptera</i> .	29
Figure 13. Tarsomère 4 plus court que le 5 d' <i>Orthopdomya pulcripalpis</i> .	30
Figure 14. Absence de pulvilli sur le tarsomère 5 d' <i>Orthopdomya pulcripalpis</i> .	30
Figure 15. Tergites abdominaux sombres d' <i>Uranotaenia unguiculata</i> .	31
Figure 16. Absence de frange d'écailles sur l'alula d' <i>Uranotaenia unguiculata</i> .	31
Figure 17. Tergites abdominaux avec bandes antérieures claires de <i>Culiseta morsitans</i> .	32
Figure 18. Effet du méthoxyfénozide(RH-2584) sur des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> après 24h de traitement ($m \pm SD$, n = 3 réplifications comportant chacune 25 individus).Les moyennes suivies de lettres différentes, indiquent une différence significative entre les traitements ($p < 0,05$).	38
Figure 19. La droite de régression des probits des moyennes de mortalité corrigée en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2 =$ Coefficient de détermination).	40
Figure 20. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de <i>Cs. morsitans</i> après 24h de traitement ($m \pm SD$, n = 3 réplifications comportant chacune 25 individus).Les moyennes suivies de	42

lettres différentes, indiquent une différence significative entre les traitements ($p < 0,05$).

- Figure 21.** La droite de régression des probits des moyennes des mortalités corrigées cumulées en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2 =$ Coefficient de détermination). 44
- Figure 22.** Types morphogénétiques après traitement au méthoxyfénozide des larves du dernier stade de *Cs. morsitans*. 48
- Figure 23.** Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le poids des larves nouvellement exuviées du quatrième stade à différents âges chez *Cs. morsitans* ($m \pm SD$, $n = 3$). 52
- Figure 24.** Dosage des protéines totales: courbe de référence expriment l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg). 53
- Figure 25.** Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en protéines (μg /individu) des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 3$). 54
- Figure 26.** Dosage des glucides totaux : courbe de référence expriment l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg). 55
- Figure 27.** Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en glucides (μg /individu) des larves nouvellement exuviées de quatrième stade de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 3$). 56
- Figure 28.** Dosage des lipides totaux: courbe de référence expriment l'absorbance à 620 nm en fonction de la quantité de lipide (μg). 57
- Figure 29.** Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en lipides (μg /individu) des larves de quatrième stade de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 3$). 58
- Figure 30.** Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur la durée moyenne (jours) de la nymphose de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 5$). 60
- Figure 31.** Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur la durée moyenne de développement (jours) de la mue imaginale de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 5$). 61
- Figure 32.** Fécondité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n = 3$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil ($p < 0,05$). 62
- Figure 33.** Fertilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n = 3$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil ($p < 0,05$). 63

Figure 34. Stérilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves nouvellement exuviées du quatrième stade avec le méthoxyfénoside ($m \pm SD$; $n= 3$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil ($p < 0,05$).

Introduction Générale

1. INTRODUCTION GENERALE

Les Culicidae ou moustiques, sont capables de s'adapter à diverses conditions climatiques où à des changements des conditions environnementales (Clements, 2000; Becker *et al.*, 2010), et donc de coloniser des écosystèmes très variés. Ainsi ils sont présents sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique, à proximité des étendues d'eau permanentes, ou temporaires, fortement polluées ou pures, grandes ou petites; même les plus petites accumulations d'eau dans les seaux, vases, pneus, empreintes de pas sont des habitats larvaires potentiels (Cléments, 2000).

Les moustiques représentent le groupe d'Arthropodes ayant l'impact sanitaire et vétérinaire le plus important (Marquardt, 2005). Leurs piqûres peuvent causer de sévères irritations pour l'Homme et les animaux (Takken & Knols, 2007; Becker *et al.*, 2010). Dans quasiment toutes les espèces de moustiques, les femelles obtiennent les protéines nécessaires pour le développement des œufs par nourriture de sang des vertébrés. Cette prise directe du fluide dans les capillaires sanguins par une piqûre, ne se résume pas seulement au désagrément passager (Failloux & Rhodain, 1999). Cette prise de sang va permettre à différentes formes de vie (virus, protozoaire, vers nématodes) d'exploiter les moustiques comme voie de transferts vers les hôtes vertébrés, pour la réalisation de leur cycle biologique.

Les maladies vectorielles, dont celles transmises par les moustiques, sont l'un des problèmes majeurs de santé publique à travers le monde. Ces maladies ont connu récemment une forte recrudescence (Morrens *et al.*, 2004) et représente aujourd'hui 14% des maladies infectieuses et 28% des maladies émergentes (Jones *et al.*, 2008) qui pèsent lourdement sur la santé publique et l'économie mondiale (Morrens *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 2008; Suaya *et al.*, 2009). L'augmentation des échanges internationaux ainsi que le réchauffement climatique, ont permis à certaines espèces de moustiques de coloniser rapidement de nouveaux milieux (Patz *et al.*, 1996; Benedict *et al.*, 2007). Ces flux migratoires ont entraîné une propagation mondiale de maladies jusque-là endémiques de certaines régions du globe (Gould *et al.*, 2010; Weaver & Reisen, 2010; Thai & Anders, 2011). On citera par exemple le Virus du West Nile (VWN) qui sévissait principalement en Tunisie et en Israël jusqu'en 1999 (Jia *et al.*, 1999). Dans la région du Maghreb, le VWN a été responsable d'épidémies en Algérie (1994) et en Tunisie (1997) et d'épizootie au Maroc (1996) (Le Guenno *et al.*, 1996; El Harrak *et al.*, 1997; Triki *et al.*, 2001). Dès lors, le virus a sévi à plusieurs reprises au Maroc (2003, 2008 et 2010) et en Tunisie (2003, 2008, 2011) (Garboudj *et al.*, 2003; Shufenecker *et al.*, 2005, Figuerola *et*

al., 2009; Ben Hassine *et al.*, 2011). Depuis son introduction à New York il ya plus de 10 ans, il n'a cessé de progresser aux états unis où il s'est durablement installé ainsi qu'au Canada et au Venezuela (Petersen & Hayes, 2004; Venkasetan & Rasgon, 2010).

Même si les facteurs ne sont pas encore totalement connus (changements climatiques) pour les uns (Guillet, 2001), mondialisation des échanges économiques et humains pour les autres (Gratz, 1999; Loubinos & Conn 2000), les maladies comme le paludisme, les filarioses, les encéphalites, la dengue et les fièvres hémorragiques apparaissent aujourd'hui en recrudescence. Ces maladies ont une importance sanitaire et socio- économique qui s'est accentuée avec les changements que subit le monde. En effet, les changements climatiques et anthropiques déclenchent l'émergence, la réémergence ou la recrudescence inattendue de certaines maladies vectorielles. Pour certaines maladies, comme le paludisme il n'existe pas de vaccins, des médicaments prophylactiques existent pour limiter l'infection mais plusieurs molécules commencent à montrer leurs limites à cause du développement de mécanismes de résistance chez les parasites (OMS, 2009). Pour la dengue, aucun vaccin ni traitement spécifique n'est encore disponible. Aussi, le contrôle de ces populations vectrices s'avère d'autant plus difficile car celles-ci sont en voie d'expansion. Pour ces maladies, le principal moyen de lutte reste le contrôle des populations de moustiques (Tolle, 2009; Becker *et al.*, 2010).

La lutte contre les moustiques et les pathogènes qu'ils transmettent s'effectue à différentes échelles, de l'élimination des gîtes larvaires à la sensibilisation des populations autochtones. L'utilisation des répulsifs appliqués directement sur la peau ou imprégnés sur les vêtements, moustiquaires et rideaux, tels que le Diethyl Toluamide (DEET) répulsif conventionnel ou l'EthylButylacetylaminopropionate (l'IR3535) répulsif biologique, est également recommandée (Fauld *et al.*, 2010).

A une échelle plus globale, les premiers moyens de lutte furent l'élimination de certaines zones humides permanentes ou temporaires (étangs, marais, marécages, étangs d'eau printanière), habitats naturels du moustique. Une prise de conscience de la valeur patrimoniale et écologique des zones humides, véritables oasis de biodiversité, a rapidement conduit à l'abandon de cette méthode en milieu rural, d'où le développement de stratégies nouvelles de luttés contre les moustiques. C'est ainsi que les premières luttés insecticides ont commencé avec la lutte chimique, utilisée à l'encontre à la fois des adultes et des larves de moustiques. La lutte à l'aide d'insecticides est actuellement le moyen le plus efficace pour lutter contre les moustiques. La découverte de la grande efficacité du DDT (Dichloro iphényl Trichloroéthane), premier insecticide de synthèse, contre divers Arthropodes, a valu le prix Nobel de médecine

à Paul Hermann Müller en 1948. La fabrication facile et peu coûteuse de cet organophosphoré a permis son utilisation massive dans le monde entier afin de contrôler les populations d'insectes, notamment les moustiques dans la lutte contre la dengue et la malaria dès 1945. Cependant, à peine un an après le début de son utilisation pour la démoustication, les premiers cas de résistance ont été identifiés (Brown & Pal 1971; Hemingway & Ranson, 2000). Une deuxième génération d'insecticides est apparue pour contourner ces résistances, tels que les organophosphorés et carbamates et les pyréthroïdes de synthèse. Tous ciblent la transmission de l'influx nerveux au niveau synaptique, soit en bloquant l'acétylcholinestérase (organophosphorés, carbamates) soit en perturbant les canaux à sodium voltage-dépendant (organochlorés, pyréthroïdes). Très persistants dans l'environnement et peu spécifiques, ces insecticides ont entraîné une adaptation rapide des moustiques et l'apparition de résistance, diminuant leur efficacité (Hemingway & Ranson, 2000). L'application abusive et désordonnée de ces insecticides dits conventionnels ont provoqué non seulement, des altérations de l'environnement, mais également des perturbations au niveau de plusieurs systèmes physiologiques (croissance, reproduction et métabolisme) chez les organismes non ciblés. Pour pallier cette situation, les recherches ont été orientées vers le développement d'une troisième génération d'insecticides comprenant notamment les insecticides biologiques parmi lesquels deux grands types ont été utilisés à l'encontre des moustiques.

Le premier type est l'utilisation d'un poisson larvivoire *Gambusia affinis* (Coykondall, 1980; Bendali-Saoudi *et al.*, 2001) et *Gambusia holbrooki* (Pates & Curtis 2005). Le deuxième type est l'utilisation des toxines produites par *Bacillus sphaericus* et *Bacillus thuringiensis var. israelensis* (*Bti*) (Bendali, 1989; Karch *et al.*, 1992; Kumar *et al.*, 1996; Charles & Nielsen-Leroux, 2000; Regis *et al.*, 2001). Cependant, de forts niveaux de résistance vis à vis du *B. sphaericus* ont été observées en populations naturelles (Yuan *et al.*, 2000; Nielsen-Leroux *et al.*, 2002). Les résistances au *Bs. sphaericus* n'entraînant aucune baisse de sensibilité au *Bti*, il est actuellement autorisé en démoustication uniquement en combinaison avec le *Bti* (Regis *et al.*, 2001).

Egalement des nouveaux composés agissant au niveau physiologique ont été synthétisés. Ils sont désignés sous le terme de régulateurs de croissance d'insectes ou IGRs (Insect Growth Regulators) (Dhadialla *et al.*, 1998). Ces insecticides sont des composés qui altèrent le profil normal du développement chez les insectes et causent des dysfonctionnements métaboliques et un développement asynchrone ce qui provoque la mort de l'insecte. Ces composés regroupent les mimétiques de l'hormone juvénile, les agonistes et les antagonistes de l'ecdysone ainsi que les inhibiteurs de la synthèse de la chitine (Chui *et al.*, 1993).

Cette nouvelle génération d'insecticides semble avoir fait ses preuves dans la lutte contre les moustiques et les simules néarctiques aux Etats-unis d'Amérique et au Canada (Mulla & Darwazeh 1975; Dame *et al.*, 1976; Thompson & Adams 1979; Axell, *et al.*, 1980; Mian & Mulla 1982). Ces molécules agissent sur des processus physiologiques et biochimiques spécifiques chez les organismes visés (Dhadialla *et al.*, 2005) soit par le biais des deux principales hormones du développement (hormone juvénile et ecdystéroïdes) ou encore par le biais de la synthèse de la chitine, composé majeur de la cuticule (Gäde *et al.*, 1997). Les IGRs peuvent interférer avec le fonctionnement du système hormonal des insectes de différentes façons. Ces derniers peuvent imiter l'action de hormone naturelle, ils se fixent alors sur le récepteur cellulaire et entraînent une réponse normale : effet agoniste. Ils peuvent se lier au récepteur hormonal et empêcher l'émission d'un signal, ils entravent alors l'action des hormones : effet antagoniste. La toxicité de ces insecticides a été largement étudiée sur plusieurs organismes visés, les agonistes et antagonistes de l'hormone juvénile (Lim & Yap, 1996; Aribi *et al.*, 1999, 2006, Hamaidia & Soltani, 2014), les inhibiteurs de la synthèse de la chitine (Degheele, 1990; Rehim, 1993; 2004; Soltani *et al.*, 1996; Oberlander *et al.*, 1998; Rehim & Soltani, 1999; Soltani *et al.*, 1999; Djeghader *et al.*, 2013) et les agonistes et antagonistes de l'hormone de mue (Aribi *et al.*, 1999 ; Smaghe *et al.*, 1999, 2000 ; Soltani *et al.*, 2002 ; Taibi *et al.*, 2003 ; Boudjelida *et al.*, 2005; Kilani-Morakchi *et al.*, 2009, Djebbar 2009; Amira, 2014 Bouzereaa, 2014; Selmane-Meskache, 2014). Les analogues de l'hormone juvénile notamment (le méthoprène, pyriproxifène et le fénoxycarbe) retardent la métamorphose et rallongent donc la phase larvaire, ce qui conduit à la mort de l'insecte. A l'opposé, les analogues de l'ecdysone (tébufénoside, halofénoside, méthoxyfénozide) accélèrent les processus de mue. De manière générale et globale, toute absorption d'hormones exogènes ou d'analogues de synthèse (agonistes ou antagonistes) par l'insecte cible, entraînerait l'interruption de son développement ou des anomalies dans sa croissance (Dhadialla *et al.*, 2005).

Ma thèse vise à apporter des connaissances sur les espèces de culicidés inventoriées dans le lac des Oiseaux, ainsi que l'impact d'un analogue de l'hormone de mue le méthoxyfénozide sur le moustique prédominant du lac, *Culiseta morsitans*, espèce à intérêt vétérinaire. Elle s'articule autour de trois axes structurés en trois chapitres:

Axe 1: Inventaire. Des inventaires ont été établis dans deux sites différents du lac des Oiseaux (Sud et Sud-est).

Axe 2: Toxicité. Le méthoxyfénazole (RH-2485), a été testé sur les larves du dernier stade (L₄) de *Culiseta morsitans* avec la détermination des concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀). Les différents types morphogénétique sont également exposés dans le chapitre 2.

Axe 3: Métabolites et reproduction. L'efficacité du méthoxyfénazole a été testé sur la composition biochimique, développement et divers paramètres de la reproduction (fécondité, fertilité et stérilité) chez *Culiseta morsitans*.

Matériel
et
Méthodes

2. Matériel et méthodes

2.1. Présentation de la zone d'étude

La région d'El-Tarf se situe à l'extrême Nord-est de l'Algérie donc frontalière avec la Tunisie. Elle s'étend sur une superficie d'environ 2 891 Km², au Nord elle est limitée par la mer méditerranée, au Sud et au Sud-ouest par les wilayas de Souk-Ahras et de Guelma, à l'Ouest par la wilaya d'Annaba et à l'Est par la frontière Algéro-tunisienne (Fig1). Cette région abrite plusieurs sites humides classés par la convention de Ramsar 1971 (marais de la M'kharda, lac des Oiseaux, lac Noir, Aulnais de Aïn Khïar, lac Oubeïra et lac Tonga) et forme ce qu'on appelle le complexe humide d'El-kala.

2.1.1 Description générale et localisation du lac des Oiseaux

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

2.1.2 Végétation aquatique

L'eau libre du lac est occupée de l'extérieur vers l'intérieur par une variété d'espèces (Samraoui *et al.*, 1992). Les berges sont recouvertes sur une large bande (cinq mètres environ) de Sripes, de Typha, de Renouées et de Roseaux, la végétation émergée pénètre par endroits jusqu'à 70 mètres vers l'intérieur du lac (Fig 2).

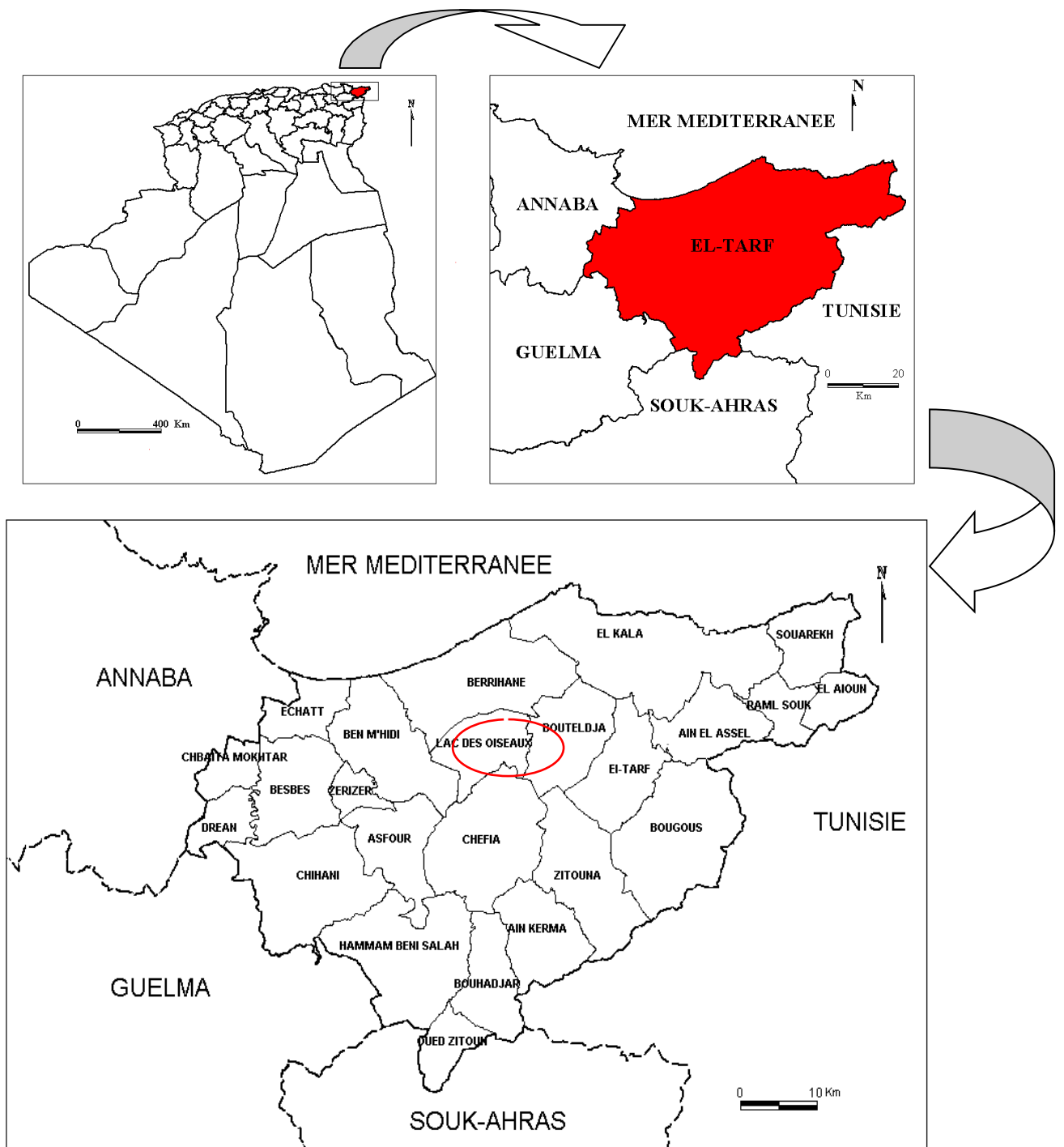


Figure 1. Situation géographique de la zone d'étude
([http:// www.google.\(dz.maps\)](http://www.google.dz.maps))



Figure 2. Végétation du lac des Oiseaux (A, B)

2.1.3 Choix des stations

Le lac des Oiseaux (wilaya d'El Tarf), a été choisi comme terrain d'étude. Cette zone présente une grande richesse écologique, abritant de nombreux oiseaux résidents et migrateurs et de nombreuses espèces de moustiques. La systématique des vecteurs constitue les fondations de l'entomologie médicale et vétérinaire, d'où notre intérêt d'y contribuer par l'identification des espèces de moustiques, avec pour objectif la détermination taxonomique grâce à des logiciels d'identifications. Les zones humides sont essentielles à la diversité des êtres vivants. Malgré une superficie réduite le lac des Oiseaux est l'habitat d'une grande diversité faunistique et floristique (flore, Oiseaux d'eau, Insectes, Batraciens, et Poissons). L'alimentation se fait naturellement par les eaux superficielles de ruissellement du bassin versant et par les eaux souterraines.

En fait le choix des gîtes larvaires a été fait après prospections sur le terrain. Les critères de choix ont été basés sur les paramètres essentiels suivants: la présence des larves, la profondeur, la végétation et l'accessibilité surtout. Au cours de cette prospection deux gîtes larvaires ont été retenus, Sud et Sud-Est du lac (Fig 3). L'étude portant sur la diversité culicidienne du lac des Oiseaux s'est déroulée durant l'année 2008-2009. Cette étude est basée sur la récolte des larves. L'échantillonnage a été fait dans deux sites différents du lac (Sud et Sud-Est). La périodicité de récolte des larves de moustiques était bimensuelle. Les prélèvements sont effectués l'aide d'une louche laquelle est déplacée d'un mouvement uniforme et sans remous. Les échantillons pré-imaginaux récoltés sont acheminés au laboratoire, où un tri des larves et des nymphes est effectué. Les nymphes sont placées dans des récipients contenant de l'eau du gîte, puis déposées dans des cages jusqu'à l'émergence, tandis que les larves ont été élevées dans des gobelets en plastique. L'eau des gobelets est une eau déchlorurée dans laquelle nous avons ajouté des aliments pour poisson d'aquarium. Cette eau est renouvelée une fois tous les trois jours. Les nymphes obtenues sont ensuite introduites dans des gobelets contenant de l'eau déchlorurée, et transférées dans des cages (20x20x20 cm³) dont l'armature est constituée de bois et les parois de tulle jusqu'à l'émergence des adultes. Pour l'identification, les adultes sont aspirés délicatement de leur cage, mis dans des petits gobelets en plastique voilés puis endormis avec de l'éther. Ils sont ensuite mis sur des lames puis identifiés sous la loupe binoculaire sur la base des critères morphologiques définis par un logiciel d'identifications : les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne (Brhunes *et al.*, 1999) .



Figure 3. Localisation des gîtes larvaires (1 et 2)
(<http://www.google.dz/maps>).

2.2 Matériel d'étude

2.2.1 Présentation de la famille des Culicidae

Apparus il ya plus de 170 millions d'années, les moustiques ou Culicidae appartiennent à la classe des Insectes de l'embranchement des Arthropodes. Caractérisés par une paire d'ailes, ces Diptères comptent plus de 3500 espèces réparties majoritairement au sein de 3 genres principaux *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* (Resh & Cardé 2003). Grâce à leurs fortes capacités d'adaptation et de vol, ils sont aujourd'hui présents partout dans le monde.

Les moustiques sont des Insectes holométaboles. Leur développement passe par une phase larvaire aquatique avant le stade adulte aérien nymphale (Clements 1992).

Le cycle de développement des Culicidae se distingue par deux phases distinctes :

- Un cycle pré imaginal qui se déroule en milieu aquatique et regroupe l'œuf, les quatre stades larvaires, et la nymphe.
- Une phase aérienne qui concerne l'adulte ou imago ((Fig 4).

Le stade Œuf: L'œuf comprend de l'intérieur vers l'extérieur ; l'embryon, la membrane vitelline pellucide, un endo-chorion épais et un exo-chorion plus ou moins pigmenté et ornementé, il est de 0,5 mm de taille (Rodhain et Perez, 1985). Au moment de la ponte il est blanchâtre et prend rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque une couleur marron ou noire (Seguy, 1951). Les œufs d'*Anopheles* sont pondus isolément à la surface de l'eau. Leur forme est plus ou moins ovoïde et pourvue latéralement de flotteurs leur permettant de conserver une position horizontale. Les œufs d'*Aedes* sont allongés, rétrécis et montrent un réseau de fines dépressions. Ils flottent horizontalement à la surface de l'eau. Les œufs de *Culex* groupés en nacelle sont cylindro-coniques et se tiennent verticalement (Pressat, 1905 in Lounaci, 2003).

Le stade larvaire : Les mues larvaires des Culicidae sont au nombre de quatre, les trois premiers stades présentent généralement des caractères chétotaxiques variables. Ce stade est aquatique. Les larves de Culicidae se différencient des autres insectes aquatiques par l'absence de pattes. Ces larves sont clairement constituées de trois parties une tête pourvue d'une paire d'antennes. Un thorax plus large que la tête. Un abdomen pourvu au niveau du huitième segment d'un siphon respiratoire.

Le stade nymphal : A la fin du quatrième stade de son développement, la larve cesse de se nourrir et devient nymphe où se fera la mise en place des organes de l'adulte. La durée est relativement courte et varie selon la température. La nymphe ne se nourrit plus et subit de profondes modifications anatomiques.

Le stade adulte : Une fois la métamorphose accomplie, les moustiques mâles émergent en premier à la surface de l'eau suivis des femelles 24 à 48 h après (Rehimi, 2004). Les adultes se nourrissent des saccharides généralement trouvés dans les nectars végétaux. Après l'accouplement les femelles ont besoin pour le développement et la maturation de leurs œufs d'un apport important en protéines qu'elles l'obtiennent par l'intermédiaire d'un repas de sang sur un hôte vertébré. Les moustiques femelles n'ont besoin d'être fécondées qu'une fois dans leur vie. Après avoir pondu dans des gîtes larvaires, la femelle va partir à la recherche d'un nouveau repas de sang. C'est à l'occasion de ce repas sanguin que la transmission de l'agent pathogène se fait. Les femelles de certaines espèces peuvent toutefois pondre sans avoir pris de repas de sang, il s'agit alors d'une ponte autogène.

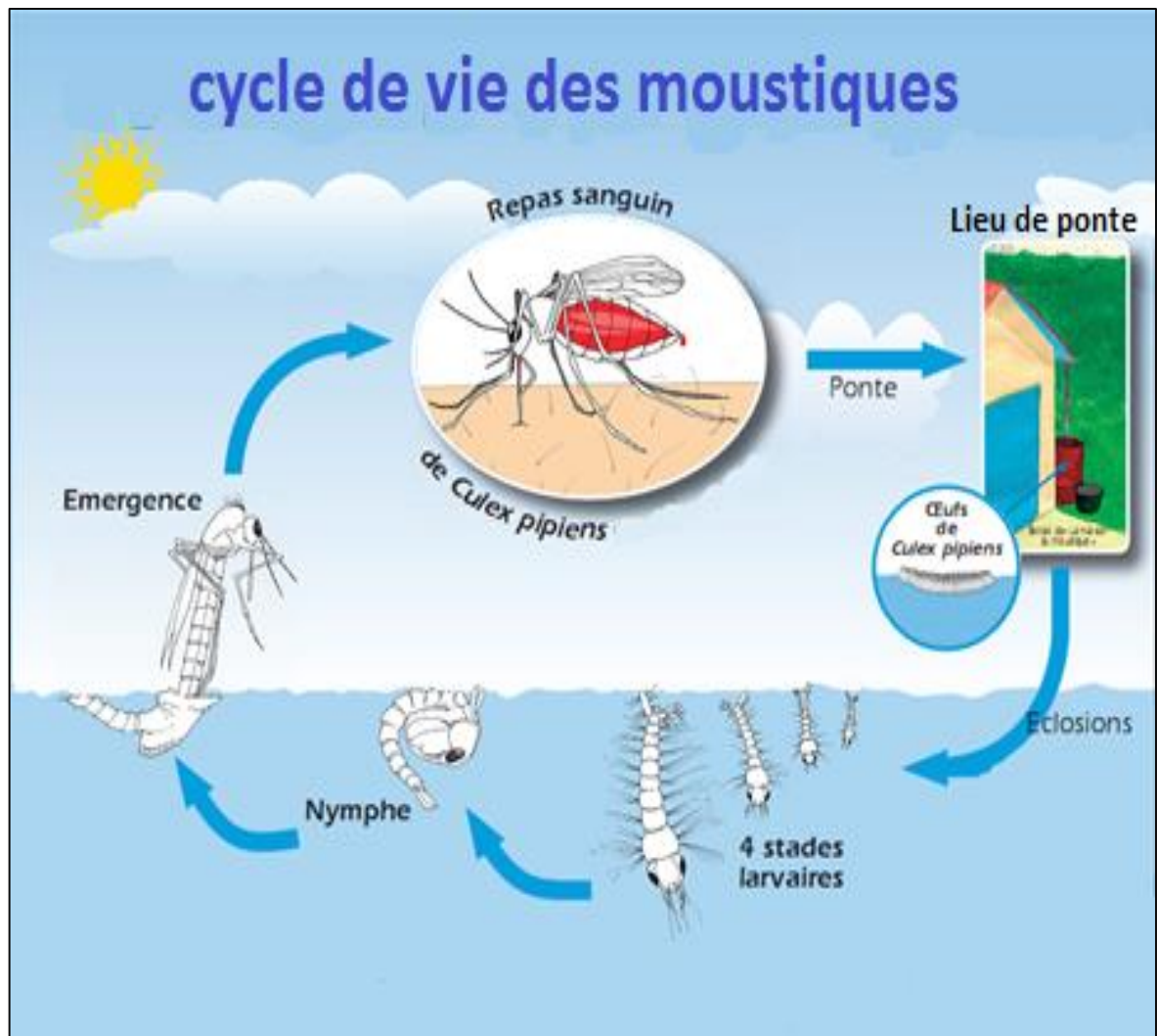


Figure 4. Cycle de développement des moustiques
(www.agglo-Var-Esterel-Méditerranée.fr/cycle_moustique.htm)

2.2.2 Modèle biologique

Le modèle biologique utilisé est un Culicidae prélevé dans le lac des Oiseaux (El tarf) lequel fera l'objet d'une étude systématique. L'espèce la plus abondante du lac servira de modèle durant notre étude.

2.2.3 Présentation de l'insecticide

Le méthoxyfénozide (RH-2485), commercialisé sous le nom de Runner ou Intrepid, Dow Agro Sciences, USA est le nom commun du N-tert-butyl-N'-(3-methoxy-o-toluoyl)-3,5-xylohydrazide. Sa formule empirique $C_{22}H_{28}N_2O_3$ et son poids moléculaire est 368,47g (Fig 5). Il appartient à la catégorie des insecticides du groupe des bisacylhydrazines qui sont des agonistes de la troisième génération de l'ecdysone. Le méthoxyfnozide (RH-2485) est un régulateur de croissance des insectes, agoniste de l'hormone de mue, 20-hydroxyecdysone (20 E), qui mime l'action de l'hormone de mue en se fixant aux récepteurs nucléaires spécifiques (EcRs) des ecdystéroïdes naturels (Wing *et al.*, 1988 ; Carlson *et al.*, 1994, Oberlander *et al.*, 1995). Son effet a été observé in vivo sur le développement et la reproduction, il perturbe également la croissance des ovocytes et la production d'ecdystéroïdes, (Dhadialla *et al.*, 2005).

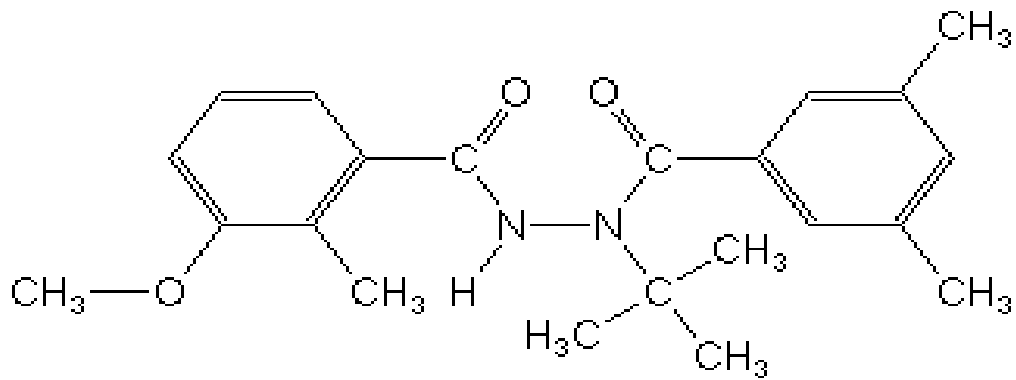
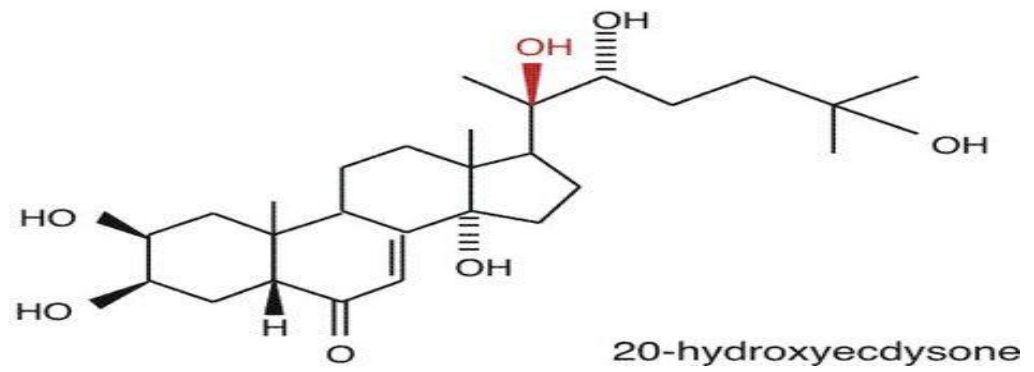
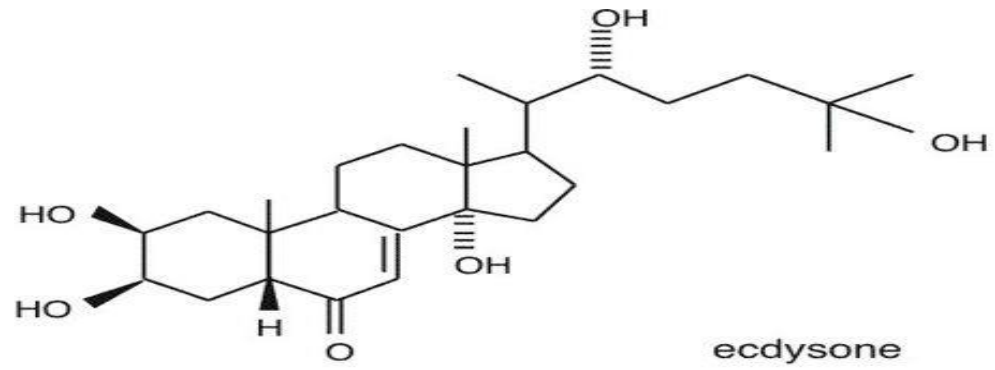


Figure 5. Structure chimique des ecdystéroïdes et du méthoxyfénoside

(<http://www.alanwood.net/pesticides/méthoxyfénoside>).

2.3 Méthode d'étude

2.3.1 Technique d'élevage

Les larves de *Culiseta morsitans* identifiées selon le logiciel: les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne (Brhunes *et al.*, 1999) proviennent du lac des Oiseaux. Cette espèce s'élève facilement. Elle est maintenue en conditions standardisées au laboratoire à une température de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ et une humidité relative de $70 \pm 5\%$. Les larves sont élevées dans des récipients contenant de l'eau déchlorurée et sont nourries tout au long de leur développement avec de la nourriture pour poisson d'aquarium qui permet apport un protéique pour la vitellogénèse (ne pas sur-doser la nourriture, car un fort développement bactérien produira un bio-film à la surface pouvant asphyxier les larves). Une fois que les larves atteignent le stade nymphal, elles sont disposées dans des cages d'élevage jusqu'à l'émergence. Des dattes ou raisins secs suspendues dans la cage constituent la nourriture sucrée des adultes. Un repas sanguin est nécessaire pour les femelles accouplées.

Les grandes cages sont privilégiées dans le cas d'élevages de masse. On optera pour les petites cages pour les essais toxicologiques.

2.3.2 Traitement et test de toxicité

Une formulation du méthoxyfénozide 22,1 % de matière active à été fournie par le professeur Smagghe (Laboratoire d'Agro zoologie Université de Gent, Belgique). Des essais préliminaires basés sur une série de dilutions nous ont permis d'obtenir les concentrations finales suivantes: 0,012, 0,024, 0,036, 0,048, 0,072 mg/L.

Dans ce travail nous avons testé les effets de l'exposition au méthoxyfénozide sur les larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Culiseta morsitans*. Les bioessais sont réalisés selon les méthodes standardisées, préconisés par l'organisation mondiale de la santé (OMS, 1983). Des lots de 25 larves sont répartis dans des gobelets contenant 200 ml d'eau déchlorurée. Trois répétitions sont préparées par concentration avec un lot témoin pour chaque répétition. Après 24h de traitement, les larves sont rincées et placées dans des nouveaux récipients contenant de l'eau déchlorurée et de la nourriture. Les taux de mortalité et de malformations sont enregistrées quotidiennement jusqu'à l'émergence des adultes.

Les données de mortalité obtenues sont transformées en unité Probit. La linéarisation des données est faite selon une droite de régression Probit = $f(\log \text{dose})$ (Finney, 1971). De cette

droite, on en déduit la CL₅₀ et CL₉₀. La méthode de Swaroop (1957), précise l'intervalle de confiance avec une probabilité de 95% deux paramètres sont nécessaires : Le premier paramètre est le slope, noté par (S), est donné par la formule

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

Le 2ème paramètre est la *f* CL 50 est donnée par la formule : $f \text{ CL}50 = S \cdot 2,77\sqrt{N}$

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

$$\text{Log } f \text{ CL}50 = \log S \cdot 2,77\sqrt{N}$$

$$f \text{ CL}50 = \text{Anti-log } 2,77 \times S / \sqrt{N}$$

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

$$\text{Limite inférieure} = f \text{ CL}50 / \text{CL}50$$

2.3.3 Détermination des différents types morphogénétiques

Durant l'étude toxicologique, en plus des mortalités enregistrées après 24 heures de traitement, toute apparition anormale des individus est notée, jusqu'à l'émergence.

2.3.4 Dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites (lipides, glucides, protéines) à été réalisée selon le procédé de (Shibko *et al.*, 1966). Les larves des séries témoins et traitées avec le méthoxyfénozide à la concentration létale (CL₅₀) à différents âges (0, 2, 4, et 6 jours), ont été préalablement pesées, puis respectivement placées dans des tubes eppendorf auxquels nous avons ajouté 1ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20%. L'essai est réalisé à raison de trois réplifications avec 5 larves par tube eppendorf et un témoin pour chaque répétition.

Après un broyage aux ultra-sons (Sonifier B-30) et centrifugation (5000 tours/mn pendant 10mn), le surnageant I est récupéré et servira au dosage des glucides. Au culot I, on ajoute 1ml d'un mélange éther/ chloroforme (V/V) et une deuxième centrifugation (5000 tours/mn pendant 10mn) permet de récupérer le surnageant II qui permettra le dosage des lipides ; le culot II sera ensuite repris dans 1ml d'eau distillée pour l'estimation des protéines totales.

Les protéines totales ont été quantifiées selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de Coomassie G 250 (BBC) comme réactif [50 mg de bleu brillant de Coomassie, 25 ml d'éthanol (95%), 50 ml d'acide orthophosphorique (85%) et compléter à 500 ml avec de l'eau distillée] et l'albumine de sérum de bœuf (B.S.A) comme standard (1 mg/ml) (Tab. 1). Les absorbances ont été lues à une longueur d'onde de 595 nm (Fig.6).

Le dosage des glucides a été réalisé selon Duchateau et Florkin (1959). Cette méthode utilise l'antrone comme réactif (150 mg d'antrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose (1 mg/ml) comme standard (Table. 2). Les absorbances ont été lues à 620 nm (Fig.6).

Les lipides ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.*, (1972) utilisant la vanilline comme réactif et une solution mère de lipides [2,5 mg d'huile de table dans 1 ml de solvant éther/chloroforme (V/V)] comme standard (Tab. 3). Les absorbances ont été lues après 30 minutes à une longueur d'onde de 530 nm (Fig. 6).

Tous les dosages ont été effectués sur des fractions aliquotes de 100 µl et les taux des différents métabolites ont été quantifiés grâce aux équations des droites de régression déterminées à partir des courbes de références.

Tableau 1 : Dosage des protéines totales chez *Culiseta morsitans*: réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

Tableau 2 : Dosage des glucides chez *Culiseta morsitans*: réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

Tableau 3 : Dosage des lipides totaux chez *Culiseta morsitans*: réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

2.3.5 Détermination de la durée de développement

Dans cette étude nous avons testé le méthoxyfénozide sur la durée de développement des larves du quatrième stade et des pupes de *Cs. morsitans*. Chaque essai comporte 25 larves du quatrième stade nouvellement exuviées qui sont exposées pendant 24 heures avec le méthoxyfénozide à une concentration létale (CL₅₀) dans des récipients remplis d'eau déchlorurée d'une contenance de 200 ml. L'essai est réalisé à raison de trois réplifications. Des lots témoins sont utilisés. Après 24 heures, les larves sont rincées et placées dans des nouveaux récipients. Les larves sont nourries jusqu'à l'émergence.

Le suivi de la durée de la nymphose et de la mue imaginale s'est déroulé quotidiennement par le comptage des exuvies larvaires, des exuvies des pupes ainsi que le comptage des individus transformés en pupes et adultes le pour les traités et les témoins.

2.3.6 Détermination du potentiel reproducteur

Les bioessais ont été réalisés sur les L₄ nouvellement exuviées de *Cs. morsitans*. L'expérience consiste à exposer des larves à différentes concentrations 0,012, 0,024, 0,036, 0,048 et 0,072 mg/L respectivement pendant 24 h dans des récipients remplis d'eau d'une contenance de 200 ml. Chaque concentration est réalisée en triplicats à raison de 25 larves par gobelet avec un témoin pour chaque réplification. Après 24 heures, les larves sont rincées et transférées dans d'autres récipients et nourries tous les deux jours. Dans le but de déterminer la fécondité (nombre total d'œufs pondus) et la fertilité (pourcentage d'éclosion des œufs), les pupes nouvellement formées sont placées dans des récipients d'eau puis transférées dans des cages jusqu'à l'émergence des adultes. C'est sur ces adultes ayant survécu au traitement que s'est déroulée notre étude. Après accouplement et deux à trois jours après la fécondation les femelles reçoivent un repas sanguin. Le nombre d'œufs pondus et le nombre d'œufs éclos sont comptés quotidiennement. La stérilité (SI) exprimée en (%) est obtenue selon la formule de Topozada (1966) :

$$\% \text{ Stérilité} = [100 - (F_t \times Fe_t / F_c \times Fe_c)] \times 100$$

F_t = fécondité des femelles traitées

Fe_t = fertilité des femelles traitées

F_c = fécondité des femelles témoins

Fe_c = fertilité des femelles témoins

2.3.7 Analyses statistiques

Les données sont représentées par la moyenne plus ou moins l'écart type pour chaque groupe d'expérience. Elles ont fait l'objet d'une analyse de la variance (ANOVA) à un seul critère de classification. Le test de Tukey a permis de classer les concentrations utilisées en groupes selon leurs effets. Enfin, la comparaison des moyennes deux à deux a été faite avec le test t de Student. Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel MINITAB (Version 16, Penn State College, PA, USA) avec un seuil de signification $p < 0,05$.

CHAPITRE 1

**Inventaire et détermination systématique
des Culicidés du lac des Oiseaux**

1. INTRODUCTION

Chez beaucoup d'espèces de moustiques (Diptères Nématocères de la famille de Culicidés) les femelles sont hémaphages. Ce groupe forme une grande famille homogène et spécifiquement très diversifiée comprenant 2800 à 3000 espèces réparties dans le monde entier (Rodhain & Perez, 1985 ; Knight & Stone, 1977). En Algérie, les plus anciens travaux réalisés sur les Culicidae d'Algérie remontent au siècle dernier, les recherches effectuées ensuite par (Clastrier, 1941) constituent avec les travaux de Senevet & Andarelli (1954, 1956) une étape importante dans la connaissance de la faune Culicidienne Algérienne.

Au cours des dernières années, la faune Culicidienne d'Algérie a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, des moustiques des différentes régions du pays. Dans la région de Guelma les travaux de (Bouina, 2008), de Souk- Ahras les travaux de (Hamaidia, 2014), de Tebessa les travaux de (Djebbar, 2009; Bouabida, 2012; Bouaziz, 2012 et Aissaoui, 2014), de Constantine les travaux de (Berchi, 2000), de Mila les travaux de (Messai *et al.*, 2010), de Collo les travaux de (Boudemagh *et al.*, 2013), et plus au nord dans la région d'Alger et Tizi-ouzou les travaux de (Lounaci, 2003). A l'Ouest du pays, des études bioécologiques ont été menées sur les moustiques de Tlemcen (Metge & Hassaine, 1998). Dans la région d'Annaba les travaux sur les moustiques de plusieurs auteurs sont à mentionner (Bendali, 1989; 2006; Rehim, 1993, 2004 ; Bendali *et al.*, 2001; Boudjelida *et al.*, 2005).

La faune culicidienne de l'Afrique du Nord est composée de 66 espèces appartenant à deux sous familles, en sept genres et en dix sous genres (Brhunes *et al* 1999) dont la richesse varie considérablement d'un pays à l'autre (Brhunes *et al*, 2000). En Algérie seules les deux sous familles Anophelinae et Culicinae sont représentées (Kettle, 1990), avec six genres : *Anopheles*, *Aedes*, *Culex*, *Culiseta*, *Orthopomyia* et *Uranotaenia*.

Certains pathogènes ayant évolué du système moustique / vertébrés assurent ainsi leur transmission que l'on qualifie de vectorielle. Les moustiques constituent le groupe de vecteur le plus important en santé publique, transmettant entre autre le paludisme (*Anopheles*), la fièvre jaune et la dengue (*Aedes aegypti*) et la filariose lymphatique (*Culex*) (Guillomot, 2006). Ces maladies vectorielles peuvent générer de fortes mortalités et morbidités chez l'homme (WHO, 2004).

A l'exception de certaines maladies humaines comme la dengue urbaine, la plupart des maladies à transmission vectorielle sont des zoonoses (touchent les animaux) où l'homme est le plus souvent un hôte accidentel. Au début des années 2000, une maladie vectorielle a occupé le devant de la scène scientifique et médiatique, c'est la fièvre du Nil occidental ou fièvre West Nile. C'est un exemple d'arbovirose émergente. Cette maladie endémique est largement distribuée en Afrique subsaharienne (Murgue, *et al.*, 2001; Zeller & Shuffenecker 2004). Le virus du West Nile a longtemps été considéré comme un arbovirus peu pathogène (Rodhain & Perez 1985), mais depuis, des épidémies ont été reportées dans le bassin méditerranéen (Murgue *et al.*, 2001). Des épidémies de plusieurs dizaines à centaines de cas sont recensés en Algérie en 1994 (Le Guenno *et al.*, 1996), en Tunisie en 1994 (Triki *et al.*, 2001).

Les Oiseaux sont considérés comme les hôtes naturels du virus du West Nile et d'autres arbovirus. Cette hypothèse s'appuie sur l'isolement régulier du virus West Nile chez les oiseaux à travers le monde (Work *et al.*, 1953 ; Bashkirtey *et al.*, 1969 ; Berezin 1971). L'Algérie comme les autres pays du Maghreb présente des conditions propices au développement du vecteur et se trouve sur le trajet de milliers d'oiseaux migrateurs provenant des pays d'Afrique et d'Europe. Les cycles de transmissions du virus West Nile ou encore du virus de l'encéphalite équine de l'est (EEE) impliquent les oiseaux comme hôtes amplificateurs et les moustiques du genre *Culex et Culiseta* comme principaux vecteurs. La lutte anti-vectorielle est un élément capital de l'éradication de ces maladies. En effet pour mieux connaître la répartition de ces vecteurs et leur évolution, il est nécessaire d'entreprendre des études bioécologiques qui permettront d'élaborer des stratégies de contrôle et de lutte contre ces insectes nuisibles.

Ce travail réalisé principalement dans le lac des oiseaux nous a permis de prospecter les différents sites, choisir les gîtes larvaires. Une fois cette première approche faite, des prélèvements des stades pré-imaginaux des moustiques ont été effectués et mis en élevage. Les adultes émergés ont fait l'objet d'une étude systématique. Grâce à un élevage de masse l'identification des espèces s'est poursuivie également sur la descendance (2 générations), qui nous a permis de déterminer et de confirmer l'espèce dominante du lac. Cet élevage a été maintenu tout le long de notre travail. Plusieurs critères ont été étudiés pour l'identification. Nous donnerons une brève description pour chacune des espèces déterminées.

2. RESULTATS

2.1 Inventaire des espèces de Culicidés

L'analyse des relevés dans la zone d'étude montre, montre que la faune culicidienne est représentée par 6 espèces, appartenant à deux sous-familles : Anophelinae et Culicinae. Les espèces inventoriées sont présentées dans la figure 7, où chaque sous famille comprend une espèce de moustique. Il apparait ainsi qu'il y a une prédominance de la sous-famille des Culicinae.

Dans la sous-famille des Anophelinae, nous distinguons une seule espèce : *Anopheles sacharovi*. La sous famille des Culicinae comprend quatre genre et 6 espèces il s'agit de *Culex theileri*, *Culiseta morsitans*, *Culiseta ochroptera*, *Orthopodomyia pulcripalpis* et *Uranotaenia unguiculata*.

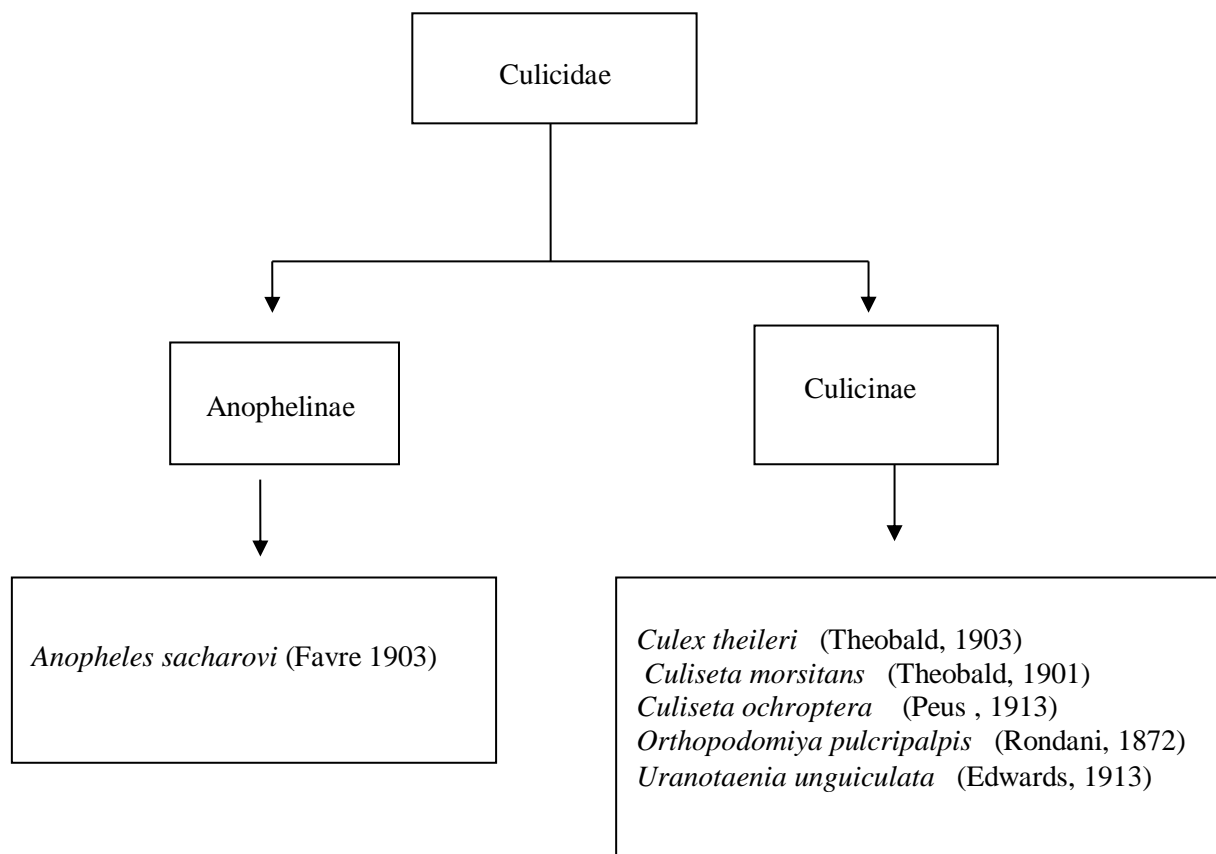


Figure 7. Relevé des espèces de Culicidae dans le lac des Oiseaux

2.2 Abondance des espèces

Le tableau 4 illustre à la fois la composition et l'abondance des espèces de la zone d'étude. Le relevé des espèces de moustiques a révélé que *Cs. morsitans* est l'espèce la plus répandue du lac, avec des taux variant de 32,32 jusqu'à 50,66% dans les gîtes Sud et Sud-Est respectivement. L'espèce la moins représentée est *An. sacharovi* avec 9,23 % seulement dans le Sud-est du lac.

Tableau 4: Abondance relative (%) des espèces de Culicidés dans les deux gîtes Sud et Sud- Est du lac des Oiseaux.

Gîtes Espèces	Sud	Sud-Est
<i>Anopheles sacharovi</i>	–	9,23
<i>Culex theileri</i>	–	21,53
<i>Culiseta morsitans</i>	50,66	32,32
<i>Culiseta ochroptera</i>	16,00	–
<i>Orthopodomyia pulcripalpis</i>	18,68	16,92
<i>Uranotaenia unguiculata</i>	14,66	20,00

2.3 Présentation des espèces inventoriées

Anopheles sacharovi Favre, 1903

Espèce multivoltine, eurygame caractéristique des zones à climat chaud. Les adultes hivernent en diapause incomplète dans les abris tels que les écuries ou étables. Leur activité peut être relancée si la température est élevée. L'aire de répartition de cette espèce comprend les pays du bassin méditerranéen central et oriental ainsi que le Moyen-Orient. Les femelles attaquent volontiers l'humain et sont également zoophile. L'espèce joue un rôle dans la transmission du paludisme surtout au Proche-Orient. L'ornementation inter-oculaire présente une touffe de longues écailles (Fig. 8) et l'aile présente des tâches marquées d'écailles sombres (Fig. 9).



Figure 8. Ornementation inter-oculaire avec une touffe de longues écailles d'*Anopheles saccharovi* (x60)

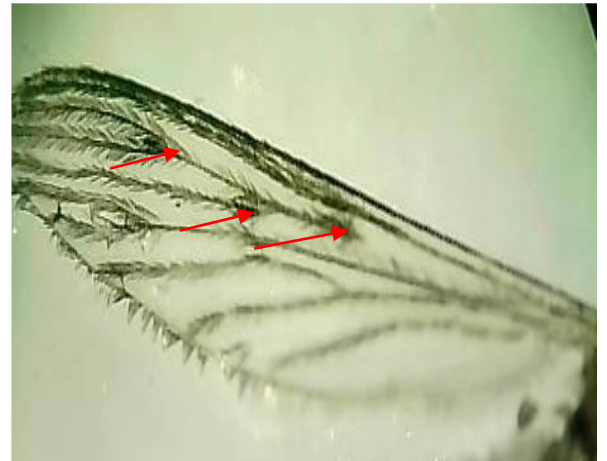


Figure 9. Ornementation générale sombre avec tâche d'*Anopheles saccharovi* (x40)

Culex theileri Theobald, 1903

L'espèce *Culex theileri* présente dans la région d'étude est aussi signalée dans plusieurs régions d'Algérie. Présente 2 ou 3 générations annuelles. La densité de ses populations est très variable d'une zone à l'autre ; elle est très présente pendant les mois d'été et d'automne. Les larves de cette espèce peuvent se rencontrer dans un grand nombre de gîtes telles que les eaux douces, où encore les eaux légèrement salées, propres ou polluées. Les gîtes sont essentiellement des mares, marais, rivières, citernes, flaques résiduelles, sources, canaux d'irrigation, rizières. Ces gîtes présentent ou pas une abondante végétation. Cette espèce présente dorsalement des écailles claires et sombres. Les écailles crème occupent la base des segments où elles forment des protubérances saillantes vers le milieu (Fig. 10).



Figure 10. Tergites abdominaux de *Culex theileri* (Gr x60)

Culiseta ochroptera Peus, 1913

Culiseta ochroptera présente 2 générations annuelles. Les larves qui éclosent à la faveur des pluies de l'automne, présente une diapause hivernale. Les premiers imagos émergent au printemps. Une seconde génération apparaît au début de l'été. Les larves se développent dans les marécages tourbeux ombragés, ou encore en bordure des lacs. Cette espèce sans importance médicale ou vétérinaire se nourrit sur les oiseaux, rarement sur les mammifères ou les humains. Les palpes des adultes sont parsemés d'écailles claires (Fig.11). Le fémur est parsemé d'écailles claires sur son 1/3 distal (Fig12).



Figure 11. Palpes parsemés d'écailles claires de *Culiseta ochroptera* (Gr x60).



Figure 12. Fémur parsemé d'écailles claires de *Culiseta ochroptera* (Gr x50).

Orthopdomya pulcripalpis Rondani, 1872

Les larves de cette espèce se développent également dans les cavités naturelles, creusées dans les troncs d'arbres, qui retiennent longuement de l'eau de pluie. Le développement pré-imaginal est assez long, il peut durer jusqu'à un an. Le tarsomère 4 de la première patte est plus court que le tarsomère 5 (Fig. 13). Les organes sensoriels portés à l'apex des tarsomère 5 sont dépourvus de pulvilli (Fig. 14).



Figure 13. Tarsomère 4 plus court que le 5 d'*Orthopdomya pulcripalpis* (Gr: x110)



Figure 14. Absence de pulvilli sur le tarsomère 5 d'*Orthopdomya pulcripalpis* (Gr: x250)

Uranotaenia unguiculata Edwards 1913

Uranotaenia unguiculata est un moustique méditerranéen signalé pour la première fois en Algérie par Senevet (1933). Les larves colonisent les marais herbeux peu profonds et riches en matières organiques d'origine végétale. Les femelles ne paraissent pas anthropophiles et seraient autogènes. Les tergites abdominaux de l'adulte sont entièrement sombres (Figure 15); les franges d'écailles sont absentes sur l'alula des ailes (Figure 16).

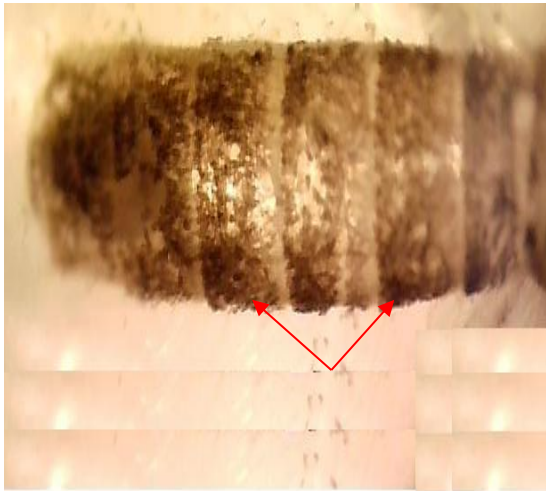


Figure 15. Tergites abdominaux sombres d'*Uranotaenia unguiculata* (Gr: x60).

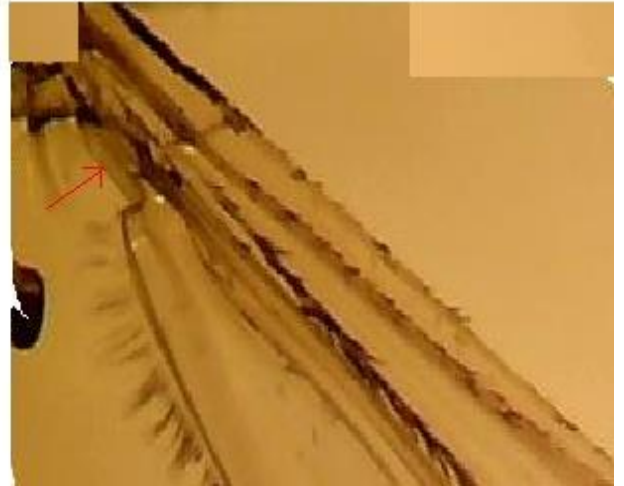


Figure 16. Absence de frange d'écailles sur l'alula d'*Uranotaenia unguiculata* (Gr: x50).

Culiseta morsitans Theobald, 1901

Le principal modèle biologique utilisé au cours de cette thèse est le moustique *Culiseta morsitans* (Théobald 1831) espèce la plus abondante du lac, essentiellement ornithophile et principal vecteur de l'Encéphalite Equine de l'Est (EEE) (Howard *et al.*, 1994). Les femelles sont peu agressives vis-à-vis des mammifères. La faune aviaire représente le principal réservoir de ce virus. Les larves apparaissent à la faveur des pluies d'automne. C'est une espèce univoltine qui se développe d'une manière ralentie (Schaffner, 1992), hiverne au stade de l'œuf (Morris *et al.*, 1976) et il ne se produit qu'une génération d'adulte de grande longévité par saison (Wood *et al.*, 1979). Les larves se développent dans les mares temporaires, mais aussi dans les drains encombrés de végétation, dont l'eau est courante. Ces gîtes peuvent être ombragés ou ensoleillés. Les œufs sont déposés isolément dans les dépressions inondables dont le fond est tapissé de débris végétaux ou sur les berges des mares en cours d'assèchement. Les œufs écloront en automne ou en hiver, lors de la mise en eau de ces gîtes. Les adultes présentent des tergites abdominaux ornés de bandes antérieures claires (Fig 17).



Figure 17. Tergites abdominaux avec bandes antérieures claires de *Culiseta morsitans* (Gr x20).

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

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

Dans l'ensemble, on observe une diversité des Culicidae dans la zone étudiée. Les résultats rapportés montrent l'existence de six espèces appartenant à 2 sous-familles avec une

prédominance de la sous-famille des Culicinae qui comprend : *Culex theileri*, *Culiseta morsitans*, *Culiseta ochroptera*, *Orthopodomyia pulcripalpis* et *Uranotaenia unguiculata* La sous-famille des Anophelinae est représentée par une seule espèce : *Anopheles sacharovi*.

CHAPITRE 2

**Toxicité et répartition des différents
types morphogénétiques.**

1. Introduction

Les maladies à transmission vectorielle sont un des problèmes majeurs de santé publique à travers le monde. Potentiellement vecteurs de pathogènes, les moustiques (Diptères Nématocères de la famille des Culicidés) constituent les insectes hématophages les plus nuisibles (Duvallet, 2002). Tous les moustiques ne piquent pas l'homme, mais par le biais du repas de sang, les espèces qui le font représentent une menace, car elles transmettent des pathogènes à l'hôte par la salive injectée au cours de la piqûre. Les moustiques sont ainsi impliqués dans la transmission de dizaines de maladies humaines ou vétérinaires comme le paludisme, encéphalites, la dengue. Dans le cas de cette dernière l'agent pathogène transmis par un moustique du genre *Aedes* est un arbovirus du flavivirus, infectant chaque année 50 millions de personnes dans le monde (OMS, 2002). Dans le cas du paludisme, maladie responsable d'un million de décès chaque année et endémique dans 107 pays, un Protozoaire du genre *Plasmodium* est transmis par une femelle du genre *Anopheles* (OMS, 2005).

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

Les premiers insecticides utilisés pour lutter contre des moustiques étaient des substances naturelles comme la nicotine et la roténone. La première molécule de synthèse, le DDT (Dichlorodiphényltrichloroéthane) fut largement utilisée à travers le monde pour combattre le typhus, les fièvres des tranchées et le paludisme pendant la 2ème guerre mondiale (Smith, 2000). Lui succédèrent une longue liste de molécules que l'on regroupe par familles aux modes différents: les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes. Malheureusement en plus de l'apparition de populations de moustiques résistants, l'emploi massif et désordonné des insecticides présente un impact sur le système écologique limitant leur utilisation, d'où l'intérêt croissant des recherches pour trouver de nouveaux agents de lutte anti- vectorielle. Ce programme de recherche a mis au point des composés nouveaux, plus sélectifs et à faible risque écotoxicologique préservant l'environnement, comme les régulateurs de croissance des insectes (IGRs).

Ce sont des produits de synthèses de troisième génération (Williams, 1956). Ce sont des insecticides biorationnels (Khater, 2011). Ils ont une stabilité métabolique supérieure à l'hormone de mue endogène (20E) (Retnakaran, *et al.*, 1995). Leur affinité vis-à-vis des sites biochimiques des insectes cibles (Ishaaya *et al.*, 2005), perturbent leur physiologie et leur développement (Retnakran *et al.*, 2005). Ces IGRs sont sélectifs et moins toxiques vis à vis des organismes non ciblés (Schneider *et al.*, 2008; Pinedae *et al.*, 2011).

Les ecdysteroides présents chez les Arthropodes et les plantes, possèdent diverses applications, au niveau pharmacologique, médicinal et agricole (Reshma *et al.*, 2013). Des molécules non stéroïdes capables de déclencher une mue ont été développées. Ces agonistes des ecdystéroïdes, représentés par les diacylhydrazines (dérivés des hydrazides de l'acide benzoïque: dibenzoylhydrazines) sont les derniers représentants d'une nouvelle classe d'IGRs (Dhadialla *et al.*, 1998; Dhadialla *et al.*, 2005). Ce sont des composés non stéroïdiens (ne possèdent pas de noyau stérol dans leur structure moléculaire mais leur action est conservée). Administrés par pulvérisation ou par ingestion aux insectes ciblés, ces agonistes miment l'action de l'hormone de mue en se fixant aux récepteurs nucléaires spécifiques (EcRs) des ecdystéroïdes naturels (Riddiford *et al.*, 2000; Beckage *et al.*, 2004; Dhadialla *et al.*, 2005; Paul *et al.*, 2006). Ces agonistes perturbent le système hormonal en induisant des mues létales et incomplètes dans divers ordres d'insectes (Dhadialla *et al.*, 2005; Dhadialla & Ross, 2007, Soltani-Mazouzi *et al.*, 2012), et la formation d'adultes malformés (Sundaram *et al.*, 2002; Bouzerra & Soltani-Mazouzi, 2012).

L'ensemble des molécules chimiques disponibles sur le marché sont toutes menacées par des phénomènes de résistances des moustiques aux insecticides. La priorité actuelle consiste donc à optimiser l'efficacité des insecticides existants et à prolonger leur durée de vie en limitant les phénomènes de résistance des moustiques. Une telle approche repose tout d'abord sur une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans les phénomènes de résistances.

Dans cette étude le méthoxyfénozide a été testé sur des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Culiseta morsitans*. Les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) ont été évaluées sur la base des essais préliminaires. D'autre part, les types morphogénétiques ont été enregistrés quotidiennement durant les essais toxicologiques.

2. RESULTATS

2.1 Toxicité du méthoxyfénozide (RH-2485) à l'égard des adultes de *Cs. morsitans* et détermination des CL₅₀ et LC₉₀

Pour évaluer la mortalité directe et indirecte, on fait appel à des lots témoins qui ne diffèrent des lots traités que par l'absence de l'insecticide testé dans les milieux d'exposition.

2.1.1 Mortalité directe

Nos résultats ont montré clairement que l'exposition au méthoxyfénozide entraînait même aux faibles concentrations testées des effets toxiques. En effet, cette exposition était associée à une augmentation de la mortalité. Le taux de mortalité observée est de $21,32 \pm 2,3\%$ pour la plus faible concentration (0,012 mg/L) et atteint $68,00 \pm 4,00\%$ pour la concentration la plus élevée (0,072 mg/L) par rapport aux témoins (Tab. 5). On corrige la mortalité observée avec la formule d'Abbot (1925) qui met en évidence l'effet réel des différentes concentrations en éliminant la mortalité naturelle des lots témoins. Les mortalités corrigées varient de $16,84 \pm 3,84\%$ pour la faible concentration 0,012 mg/L à $66,24 \pm 3,50\%$ pour la concentration la plus élevée (Tab. 6, Fig. 18).

Les taux de mortalités corrigées subissent une transformation angulaire (Tab. 7) et font l'objet d'une analyse de la variance à un seul critère de classification (Tab.8) indique un effet dose hautement significatif ($p < 0.001$). Le classement des concentrations par le test de Tukey met en évidence 4 groupes. Le premier groupe renferme les concentrations 0,012 et 0,024 mg/L, le second est représenté par les concentrations 0,024 et 0,036 mg/L, le troisième regroupe les concentrations 0,036 et 0,048 mg/L et enfin le quatrième qui englobe la concentration la plus élevée 0,072 mg/L.

Tableau 5: Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées à l'égard de *Cs. morsitans* : Mortalité observée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$)

Concentrations (mg/L) Répétitions	Témoins	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	4	20	28	40	44	64
2	8	20	32	32	44	72
3	4	24	28	36	40	68
$m \pm SD$	5,33±2,30	21,32±2,30	29,33±2,30	36±4,00	42,66±2,30	68±4,00

Tableau 6: Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées à l'égard de *Cs. morsitans*: Mortalité corrigée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$).

Concentration (mg/L) Répétitions	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	16,66	25	37,50	41,66	62,50
2	13,04	26,08	26,08	39,13	69,56
3	20,83	25,00	33,33	37,50	66,66
$m \pm SD$	16,84±3,89	25,36±0,62	32,30±5,77	39,43±1,71	66,24±3,50

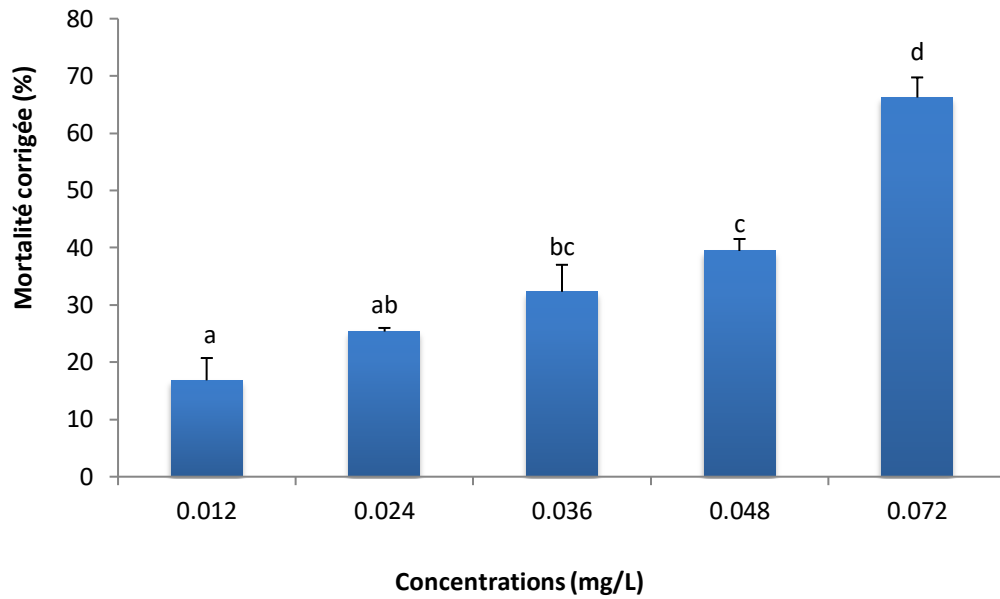


Figure 18. Effet du méthoxyfénozide(RH-2584) sur des larves nouvellement exuvées du quatrième stade de *Cs. morsitans* après 24h de traitement ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus). Les moyennes suivies de lettres différentes, indiquent une différence significative entre les traitements ($p < 0,05$).

Tableau 7. Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) sur des larves nouvellement exuvées du quatrième stade de *Cs. morsitans*: Transformation angulaire ($m \pm SD$, $n = 3$).

Concentrations (mg/L) Répétitions	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	24,35	30,00	37,46	39,82	51,94
2	21,13	30,66	30,66	38,65	56,17
3	27,27	30,00	35,06	37,46	54,94
$m \pm SD$	24,25 \pm 3,07	30,22 \pm 0,44	34,39 \pm 3,44	38,64 \pm 1,18	54,35 \pm 2,17

Tableau 8 : Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) sur des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* : Analyse de la variance des données transformées.

Source	DDL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	4	1544,45	386,11	67,75	<0,001
Erreur	10	56,99	5,70		
Totale	14	1601,43			

L'équation de la droite de régression des probits du pourcentage de la mortalité corrigée est exprimée en fonction du logarithme décimal (Tab.9, Fig.19). Le coefficient de détermination ($R^2 = 0,92$) révèle une liaison positive entre les probits et le logarithme des concentrations utilisées.

Les concentrations létales CL_{50} et CL_{90} déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement 0,059 mg/L (intervalle de confiance: 0,044 - 0,077 mg/L) et 0,262 mg/L (intervalle de confiance 0,197 -0,346 mg/L) avec un Slope de 3,12 (Tab. 10).

Tableau 9 : Transformation en logarithmes décimaux des concentrations testées et en probits les mortalités corrigées après traitement à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans*.

Concentration (mg/L)	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
Log doses	1,0791	1,3801	1,5563	1,6812	1,8572
Mortalité corrigée (%)	16,84	25,36	32,30	39,43	66,24
Probits	3,6405	4,2612	4,4408	4,6039	5,3531

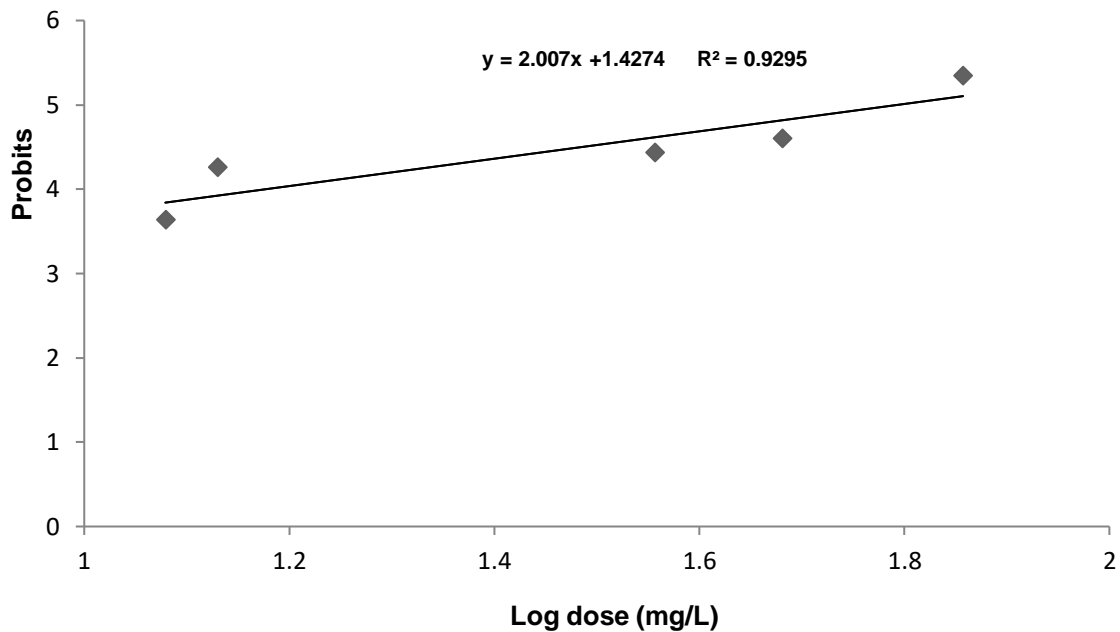


Figure 19. La droite de régression des probits des moyennes des mortalités corrigées en fonction des logarithmes décimaux des concentrations (R^2 = Coefficient de détermination).

Tableau 10 : Efficacité du méthoxyfénozide (RH-2485) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* après 24h de traitement : détermination de la CL_{50} et la CL_{90} (mg/L) et leurs intervalles de confiance (95%).

Traitement	Courbe de regression	slope	CL_{50} (mg/L) Intervalle de confiance (95%)	CL_{90} (mg/L) Intervalle de confiance (95%)
RH-2485	$y=2,007x+1,4274$	3,12	0,059 (0,044 - 0,077)	0,262 (0,197- 0,346)

2.1.2. Mortalité indirecte

Après traitement avec le méthoxyfénozide aux concentrations 0,012; 0,024; 0,036; 0,048 et 0,072 mg/L jusqu'à l'émergence, le taux de mortalité observée est de $9,33 \pm 2,30\%$ chez les séries témoins et augmente chez les séries traitées jusqu'à $89,33 \pm 2,30\%$ pour la concentration la plus élevée (0,072mg/L) (Tab. 11). Par la suite une correction des

mortalités observées a été effectuée se traduisant par un taux de mortalité cumulée corrigée qui varie de $33,79 \pm 3,81\%$ pour la plus faible concentration 0,012 mg/L à $88,20 \pm 2,69\%$ pour la concentration élevée (Tab. 12, Fig. 20). Les données ont ensuite subi une transformation angulaire (Tab. 13). L'ANOVA (Tableau 14) montre qu'il existe un effet dose très hautement significatif ($p < 0,001$). Le classement des concentrations par le test de Tukey met en évidence l'existence de cinq groupes différents, représentés respectivement par les concentrations 0,012; 0,024; 0,036; 0,048 et 0,072 mg/L.

Tableau 11: Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* : Mortalité observée cumulée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$).

Concentrations (mg/L) / Répétitions	Témoins	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	8	44	52	60	80	92
2	8	36	52	72	80	88
3	12	40	48	64	76	88
$m \pm SD$	$9,33 \pm 2,30$	$40,00 \pm 4,40$	$50,66 \pm 2,30$	$65,33 \pm 6,11$	$78,66 \pm 2,30$	$89,33 \pm 2,30$

Tableau 12: Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans*: Mortalité corrigée cumulée (%) ($m \pm SD$, $n = 3$).

Concentration (mg/L) / Répétitions	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
1	39,13	47,82	56,52	78,26	91,30
2	30,43	47,82	69,56	78,26	86,95
3	31,82	40,91	59,10	77,27	86,36
$m \pm SD$	$33,79 \pm 3,81$	$45,52 \pm 3,98$	$61,73 \pm 5,69$	$77,93 \pm 0,57$	$88,20 \pm 2,69$

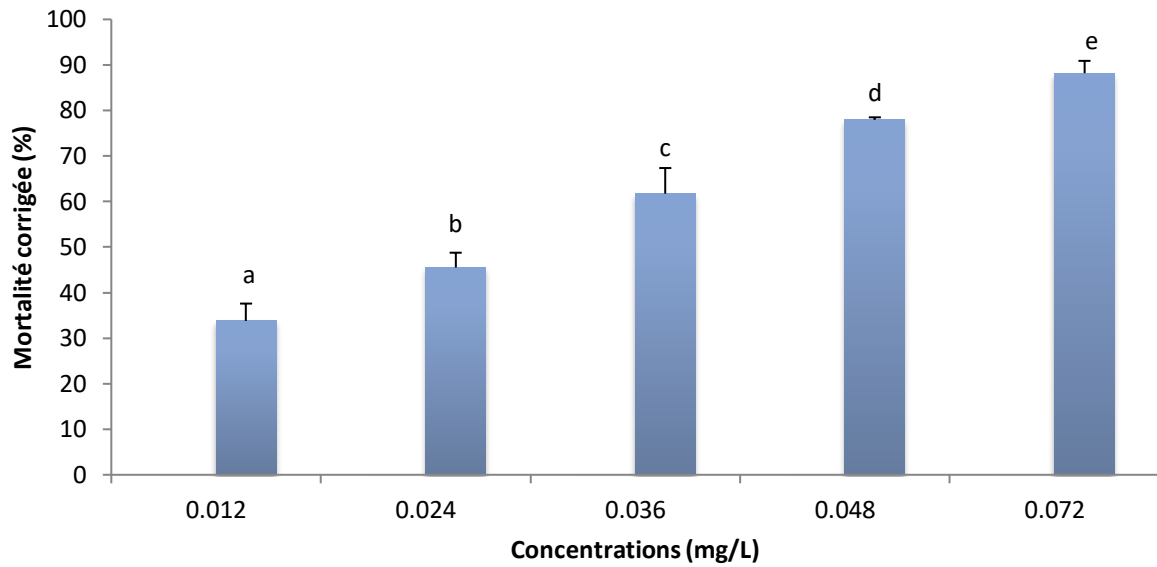


Figure 20. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* après 24h de traitement ($m \pm SD$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus). Les moyennes suivies de lettres différentes, indiquent une différence significative entre les traitements ($p < 0,05$).

Tableau 13: Effet du méthoxyfénozide (RH-2584) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* : Transformation angulaire ($m \pm SD$, $n=3$).

Concentrations (mg/L)	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
Répétitions					
1	38,65	43,85	49,02	62,03	71,57
2	33,21	43,85	56,17	62,03	68,82
3	35,44	39,82	50,18	61,34	68,03
$m \pm SD$	$35,44 \pm 2,8$ 5	$42,51 \pm 2,32$	$51,79 \pm 3,44$	$61,80 \pm 0,39$	$70,19 \pm 1,94$

Tableau 14 : Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* : Analyse de la variance des données transformées.

Source	DDL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	4	2297,00	574,25	90,7	<0,001
Erreur	10	63,76	6,38		
Totale	14	2360,76			

L'équation de la droite de régression (Tab. 15, Fig.21) est exprimée par les probits du pourcentage du taux des mortalités corrigées en fonction du logarithme décimal des concentrations du Méthoxyfénozide). Le coefficient de détermination ($R^2=0,897$), révèle une liaison positive entre les probits et le logarithme des concentrations testées. Les concentrations létales CL_{50} et CL_{90} déterminées à partir de la droite de régression sont de 0,020 et 0,057 mg/L, et leurs intervalles de confiance (0,0189-0,0453 mg/L) et (0,042-0,087 mg/L) respectivement (Tab. 16).

Tableau 15 : Transformation en logarithmes décimaux des concentrations testées et en probits les mortalités corrigées après traitement à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. morsitans*.

Concentration (mg/L)	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
Log doses	1,0791	1,3801	1,5563	1,6812	1,8572
Mortalité corrigée (%)	33,79	45,52	61,73	77,27	88,20
Probits	4,5789	4,8876	5,2976	4,6039	6,850

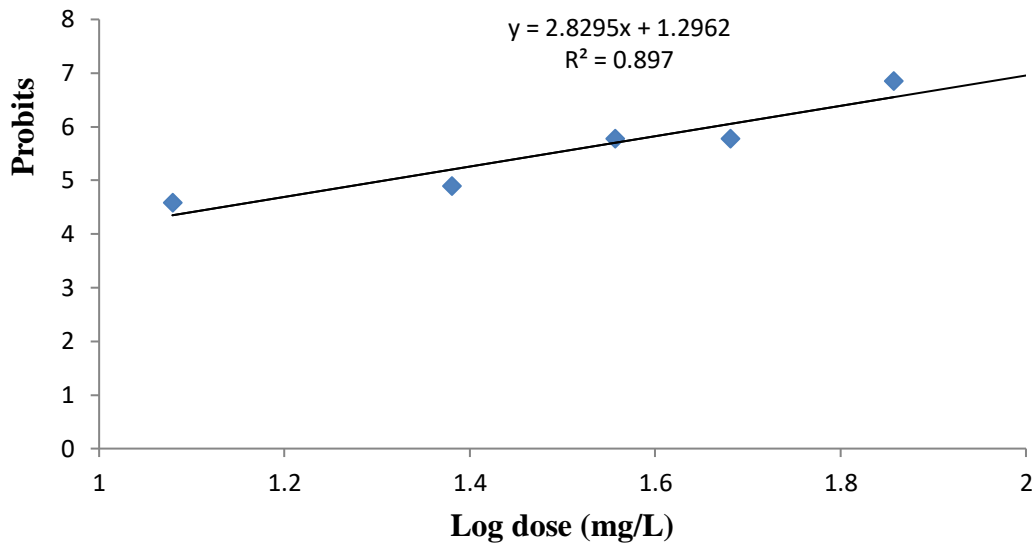


Figure 21. La droite de régression des probits des moyennes des mortalités corrigées cumulées en fonction des logarithmes décimaux des concentrations (R^2 = Coefficient de détermination).

Tableau 16 : Efficacité du méthoxyfénozide (RH-2485) à l'égard des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* après 24h de traitement : détermination de la CL_{50} et la CL_{90} (mg/L) et leurs intervalles de confiance (95%).

Traitement	Courbe de regression	Slope	CL_{50} (mg/L) Intervalle de confiance (95%)	CL_{90} (mg/L) Intervalle de confiance (95%)
RH-2485	$y = 2,829x + 1,296$	3,21	0,020 (0,018- 0,045)	0,057 (0,042- 0,087)

2.2 Répartition des différents types morphogénétiques induits après traitement

Nos résultats présentés dans le tableau 17 montre que l'exposition des larves L_4 de *Cs. morsitans* pendant 24h entraînait des perturbations morphologiques. Le pourcentage de ces types morphogénétiques est différent selon les concentrations testées. Les différents types morphogénétiques sont les suivants:

- Type 1.

. **Intermédiaire larve-pupe**: à la concentration la plus faible 0,012 mg/L sont enregistrés uniquement des intermédiaires larve-pupe atteignant $19,55 \pm 2,36\%$. L'analyse de la variance (Tab. 18) révèle un effet très hautement significatif entre les différentes concentrations ($p < 0,001$). Le classement par le test de Tukey montre l'existence de 3 groupes différents, le premier est représenté par la concentration 0,012, 0,024 et 0,036, le second par 0,036 et 0,048 mg/L et le dernier par 0,072 mg/L.

- Type 2.

. **Pupe blanche** : le blocage du processus de tannage, nous donne une puppe blanche. L'analyse de la variance (Tab. 19) indique un effet très hautement significatif ($p < 0,001$). Le test de Tukey révèle 3 groupes, le premier renferme la concentration 0,024 mg/L, le second la concentration 0,036 et 0,048 mg/L et le troisième, 0,048 et 0,072 mg/L.

- Type 3.

. **Pupe brune** : de petite taille. Les résultats de l'analyse de la variance (Tab. 20) montrent un effet très hautement significatif entre les concentrations ($p < 0,001$). Trois groupes sont obtenus, grâce au classement par le test de Tukey, le premier groupe renferme la concentration 0,024 et 0,036 mg/L, le second 0,036 et 0,048 mg/L et le dernier 0,048 et 0,072 mg/L.

- Type 4

. **Adultes partiellement émergés**: incapacité des adultes à s'exuvier, ils restent bloqués dans l'exuvie nymphale. Une analyse de la variance (Tab. 21) montre un effet très hautement significatif pour les différentes concentrations ($p < 0,001$). Le classement par le test de Tukey nous permet de distinguer trois groupes, le premier groupe comporte la concentration 0,024 et 0,036 mg/L, le second 0,036 et 0,048 mg/L et le troisième 0,048 et 0,072 mg/L.

Parmi les types morphogénétiques enregistrés la puppe blanche est le type le plus représenté avec une moyenne de $46,66 \pm 3,22$; $50,85 \pm 3,80$ et $58,38 \pm 2,88\%$, aux concentrations 0,036; 0,048 et 0,072 mg/L respectivement.

Tableau 17: Pourcentage des types morphogénétiques induits par le méthoxyfénozide après traitement des larves du dernier stade de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$, $n=3$).

Concentrations (mg/L) Types morphogénétiques	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
Intermediaire larve- pupe	19,55 \pm 2,36 a	22,22 \pm 2,58 a	24,58 \pm 2,90 ab	30,35 \pm 1,99 b	40,35 \pm 3,66 c
Pupe blanche	—	24,19 \pm 2,81 a	46,66 \pm 3,22 b	50,85 \pm 3,80 bc	58,38 \pm 2,88 c
Pupe brune	—	20,10 \pm 1,86 a	27,22 \pm 2,66 a	42,54 \pm 2,14 b	47,50 \pm 3,96 b
Adultes partiellement émergés	—	18,83 \pm 1,52 a	22,22 \pm 1,98 a	31,11 \pm 2,92 b	38,88 \pm 3,62 c

Sur la même ligne les moyennes suivies de lettres différentes, indiquent une différence significative entre les traitements ($p < 0,05$).

Tableau 18: Pourcentage des types morphogénétiques (intermédiaires larve-pupe) induits par le méthoxyfénozide (RH-2485) après traitement des larves du dernier stade de *Cs. morsitans*: analyse de la variance ($m \pm SD$; $n = 3$).

Source	DL	SC	CM	F. obs	P
Traitement	4	823,01	205,75	27,11	<0,001
Erreur	10	75,90	7,59		
Total	14	898,91			

Tableau 19: Pourcentage des types morphogénétiques (pupe blanche) induits par le méthoxyfénozide après traitement des larves du dernier stade de *Cs. morsitans*: analyse de la variance ($m \pm SD$; $n = 3$).

Source	DL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	3	2196,50	732,20	71,17	<0,001
Erreur	8	82,3	10,3		
Total	11	2278,8			

Tableau 20: Pourcentage des types morphogénétiques (pupe brune) induits par le méthoxyfénozide après traitement des larves du dernier stade de *Cs. morsitans*: analyse de la variance ($m \pm SD$; $n = 3$).

Source	DL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	3	1490,92	496,97	64,69	<0,001
Erreur	8	61,46	7,68		
Total	11	1552,38			

Tableau 21: Pourcentage des types morphogénétiques (adultes partiellement émergés) induits par le méthoxyfénozide après traitement des larves du dernier stade de *Cs. morsitans*: analyse de la variance ($m \pm SD$; $n = 3$).

Source	DL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	3	742,09	247,36	35,63	<0,001
Erreur	8	55,54	6,94		
Total	11	797,63			

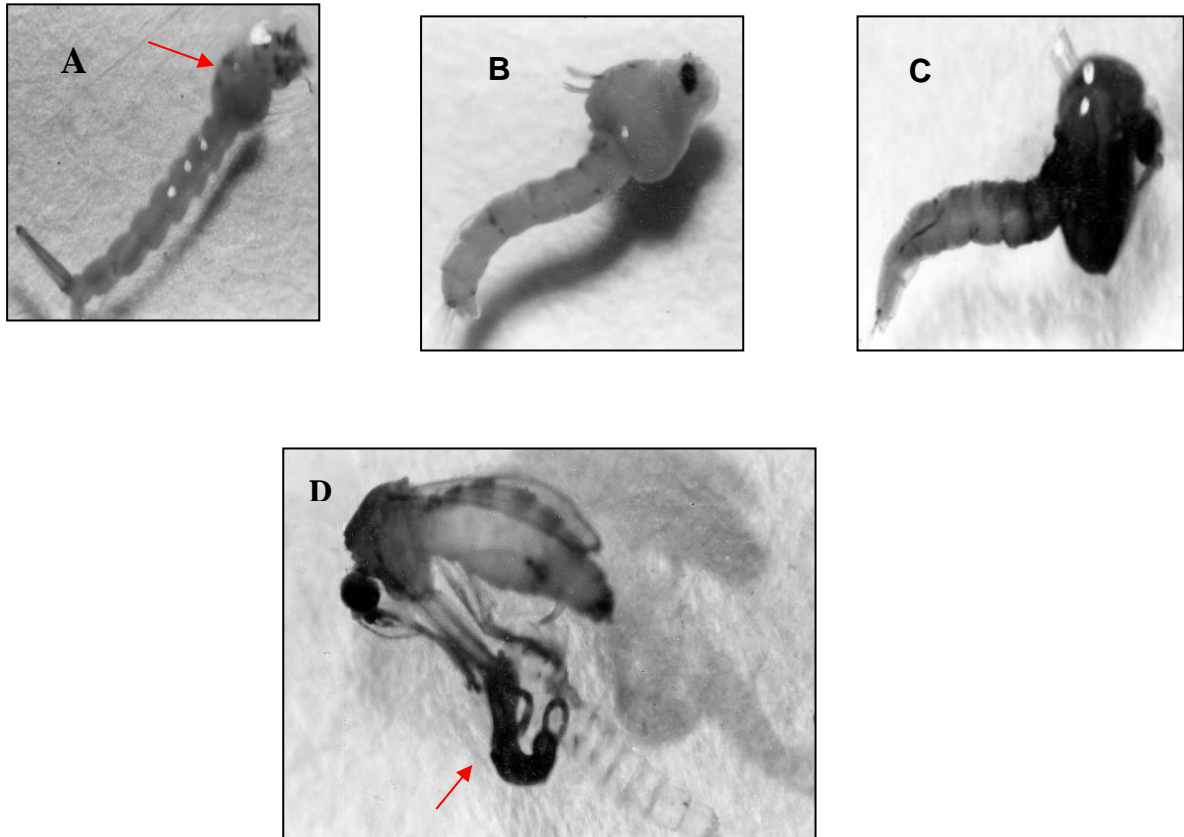


Figure 22. Types morphogénétiques après traitement au métoxyfénozide des larves du dernier stade de *Cs. morsitans*

- A: Intermédiaire larve- pupe (Gr:13 x)
- B: Pupa blanche (Gr:18 x)
- C: Pupa brune (Gr:18 x)
- D: Adulte partiellement émergé (Gr: 18x)

CHAPITRE 3

**Effet du méthoxyfénozide sur les
métabolites, développement et sur la
reproduction.**

1. Introduction

Les processus biologiques assurant le cycle de vie des organismes, la croissance, le développement, la reproduction et la maintenance nécessitent d'importants besoins en termes d'allocation énergétique (Kooijman 2000). La maintenance rassemble les coûts liés aux processus nécessaires à la vie de l'organisme. Par exemple, les coûts énergétiques associés au métabolisme protéique, afin notamment d'assurer le renouvellement des systèmes enzymatiques sont inclus dans la quantité d'énergie allouée à la maintenance. Les autres coûts dits de production, regroupent la croissance, le développement et la reproduction. Le cadre général regroupant la dynamique de tous ces processus et des flux associés suit le principe de l'homéostasie, qui s'applique à l'ensemble de l'organisme (masse structurelle et réserves) tout au long de sa vie (Kooijman 2000). Selon ce principe, la composition chimique des composants cellulaires est stable, bien que leurs durées de vie soient limitées, ces derniers sont constamment renouvelés grâce à la machinerie cellulaire.

Parmi les grandes fonctions consommatrices d'énergie (développement, croissance, reproduction et maintenance), Briegel (2003) a fortement contribué à la compréhension des processus physiologiques de base, comme la digestion, l'excrétion, l'oogenèse, la synthèse de réserves ou encore les capacités de vol et des stratégies énergétiques associées, chez des espèces de moustiques. Il a par ailleurs été montré chez de nombreuses espèces d'insectes que les réserves nutritionnelles stockées durant la phase larvaire peuvent être directement réallouées à d'autres fonctions au stade adulte (Boggs & Fogel 2005 in Reim *et al.*, 2006). Des processus impliqués dans la tolérance ou la résistance au stress entrent en compte quant à la gestion des ressources énergétiques (Sawabe & Mogi 1999, Marron *et al.*, 2003).

Le développement post-embryonnaire des insectes est caractérisé par des mues successives permettant la croissance et le changement morphologique de l'animal (Nijhout, 1994 ; Riddiford, 1996). Cet état physiologique dépend des molécules biologiques appelées hormones ; essentiellement les ecdysteroides et les hormones juvéniles (Braquart, 1998; Dhadialla *et al.*, 2005). La croissance et la métamorphose de ces insectes sont contrôlées par l' α et β ecdysone, cette dernière est la plus active (Doane, 1973).

Les fonctions de l'ecdysone dans la biologie reproductive des insectes varient grandement d'une espèce à l'autre. Ce sont chez les moustiques anautogènes que son activité gonadotrope a été la plus étudiée et décrite, plus particulièrement chez le moustique de la fièvre jaune, *Aedes aegypti* (Dallaire, 2003). Le volume des moustiques peut influencer

quelques paramètres essentiels tel que le volume du repas sanguin consommé, le degré de son utilisation dans les voies métaboliques et le nombre d'œufs qui arrivent à maturation (Rehimi, 2004; Djebbar, 2009). Lors du développement larvaire l'hémolymphe subit des modifications métaboliques diverses. Ceci est lié aux différents états physiologiques tels que la nymphose, mue imaginale et diapause (Nowosielski & Patton, 1965). Ces derniers ont remarqué des forts changements des concentrations protéines, acides aminés et lipides. Ces modifications métaboliques intenses sont liées aux divers systèmes hormonaux et sont contrôlés par un mécanisme neuroendocrinien (Gade *et al.*, 1997) ou à leur transport de site de stockage (le corps gras) via l'hémolymphe vers les organes utilisateurs, notamment la cuticule (Dapporto *et al.*, 2008) et pour la vitellogénèse (Zhou & Miesfeld, 2009). Le corps gras est l'organe de la conversion et de stockage des lipides, des glucides et des protéines (Chapman, 1998; Arrese & Soulages 2010). Chez les moustiques, la synthèse des lipides et des protéines se fait au niveau de cet organe au quatrième stade larvaire (Timmermann & Briegel, 1999). Le taux des glucides et des lipides chez l'adulte est le résultat des réserves stockées pendant le stade larvaire (Clements, 1996).

Les études moléculaires ont révélé que les effets des agonistes de la 20E sur la reproduction des insectes étaient dus à la perturbation de l'expression génique dans la cascade de la hiérarchie de la vitellogenèse et / ou choriogenèse (Swevers & Iatrou 1999, 2003; Sun *et al.*, 2003). L'effet d'un analogue de l'ecdysone, le méthoxyfénozide a été observé *in vivo* sur le développement et la reproduction, en réduisant la fécondité et la fertilité sur différents modèles biologiques (Saenz-de-Cabezón *et al.*, 2005; Dhadialla *et al.*, 2005; Djebbar, 2009; Rodriguez *et al.*, 2010; Bouzareaa, 2014; Selmane-Meskache, 2014).

Dans ce chapitre nous envisageons d'évaluer l'efficacité du méthoxyfénozide et de déterminer si ce composé a un impact sur la composition biochimique des métabolites, la durée de développement, et le potentiel reproducteur de *Culiseta morsitans* espèce d'importance vétérinaire.

2. RESULTATS

2.1 Effet du méthoxyfénozide sur la composition biochimique

Le méthoxyfénozide a été administré à la CL₅₀ (0,059 mg/L) à des larves nouvellement exuviées du quatrième stade. Les effets de ce composé ont été évalués sur poids corporel à différents âges (0, 2, 4, et 6 jours), puis sur le contenu en protéines, glucides et lipides de ces mêmes individus. La variabilité des résultats entre les témoins et les traités a été évaluée statistiquement à partir du test «t» de student.

2.1.1 Effet du méthoxyfénozide sur le poids

Les résultats obtenus révèlent une augmentation progressive du poids corporel chez les témoins, qui est significative à 2 jours ($p = 0,010$). Chez les séries traitées par le méthoxyfénozide à la CL₅₀ une augmentation très significative est aussi remarquée à 4 jours ($p = 0,009$). La comparaison statistique des valeurs entre les individus témoins et traités révèle une réduction significative du poids à 2 jours ($p = 0,010$), 4 jours ($p = 0,027$) et à 6 jours ($p = 0,042$) (Tab.22, Fig.23).

Tableau 22: Effet du méthoxyfénozide (RH–2485) (CL₅₀) sur le poids (mg) des larves du dernier stade (L4) de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 3$): Comparaison des moyennes entre les différentes séries.

Traitement Age (Jours)	Témoins	RH - 2485
0	1,46 ± 0,27 A a	1,24 ± 0,10 A a
2	3,09 ± 0,30 B a	1,55 ± 0,09 A b
4	3,53 ± 1,06 B a	2,63 ± 0,37 B b
6	4,97 ± 0,39 B a	3,20 ± 0,71 C b

Les moyennes suivies de lettres différentes ne sont pas significatives au seuil $p > 0,05$.

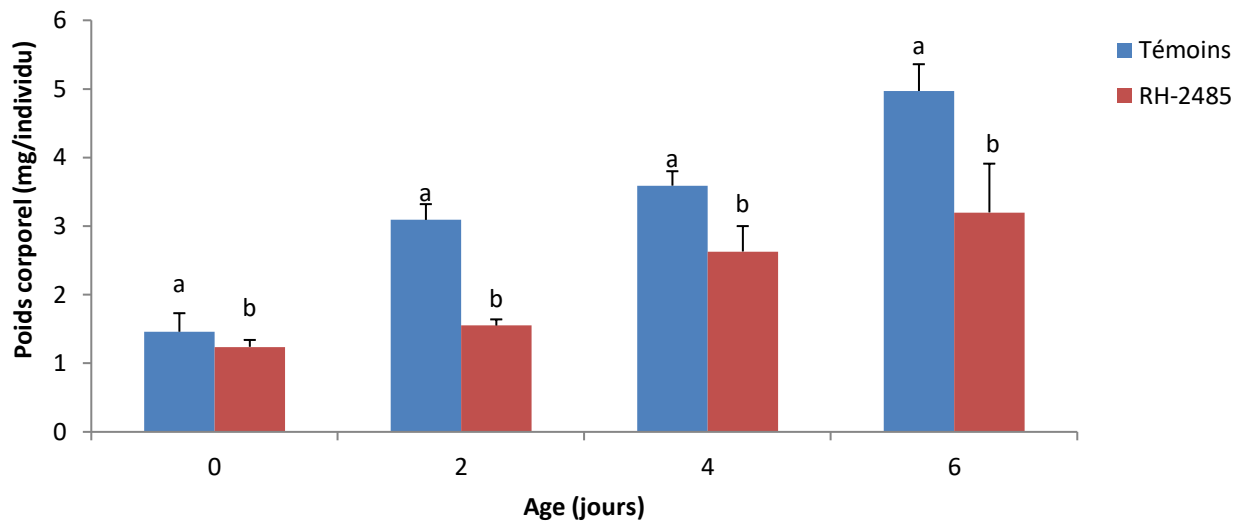


Figure 23. Effet du méthoxyfénozide (RH–2485) sur le poids des larves nouvellement exuviées du quatrième stade à différents âges chez *Cs. morsitans* ($m \pm SD$, $n = 3$).

2.1.2. Effet sur le contenu en protéines

Une courbe de référence établie à partir d'une gamme d'étalonnage standard des protéines nous a permis d'en déterminer les absorbances à partir desquels nous avons dosé les protéines.

D'après la droite de régression $y = 0,0106x + 0,006$, nous avons calculé les quantités de protéines des larves du quatrième stade à différents âges chez *Cs. morsitans* (Tab. 23, Fig. 24). Nous remarquons que le contenu en protéine augmente progressivement chez les témoins et brusquement dès le quatrième jour chez les traités où il atteint respectivement des valeurs maximales à 6j (32,68 et 28,77 μ g/ind) (Tab.24, Fig. 25).

La comparaison des moyennes entre les témoins et traités montre une réduction significative du contenu en protéines à 2 jours ($p = 0,010$), 4 jours ($p = 0,017$) et à 6 jours ($p = 0,028$).

Tableau 23: Dosage des protéines totales : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité d'albumine (μg)	0	20	40	60	80	100
Absorbances (D.O)	0	0,221	0,404	0,705	0,828	1,061

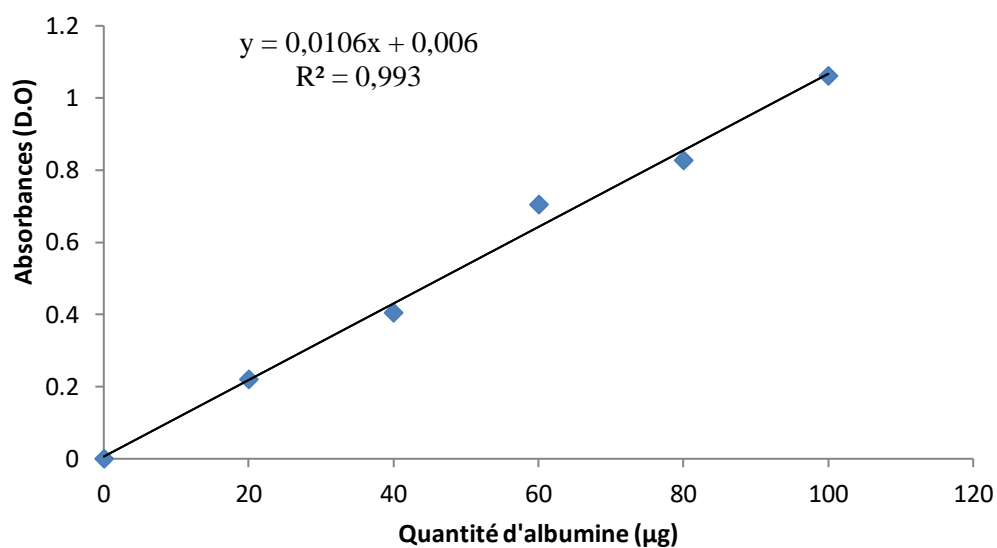


Figure 24. Dosage des protéines totales: courbe de référence exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg).

Tableau 24: Effet du RH-2485 (CL₅₀) sur le contenu en protéines (µg/individu) des larves de *Cs. morsitans* (m ± SD ; n = 3): Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules).

Traitement \ Age (jours)	Témoins	RH - 2485
0	8,86 ± 2,67 A a	8,47 ± 3,38 A a
2	27,91 ± 0,73 B a	17,2 ± 0,56 B b
4	28,30 ± 3,91 B a	20,52 ± 2,10 B b
6	32,68 ± 0,99 B a	28,77 ± 1,51 C b

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil p < 0,05

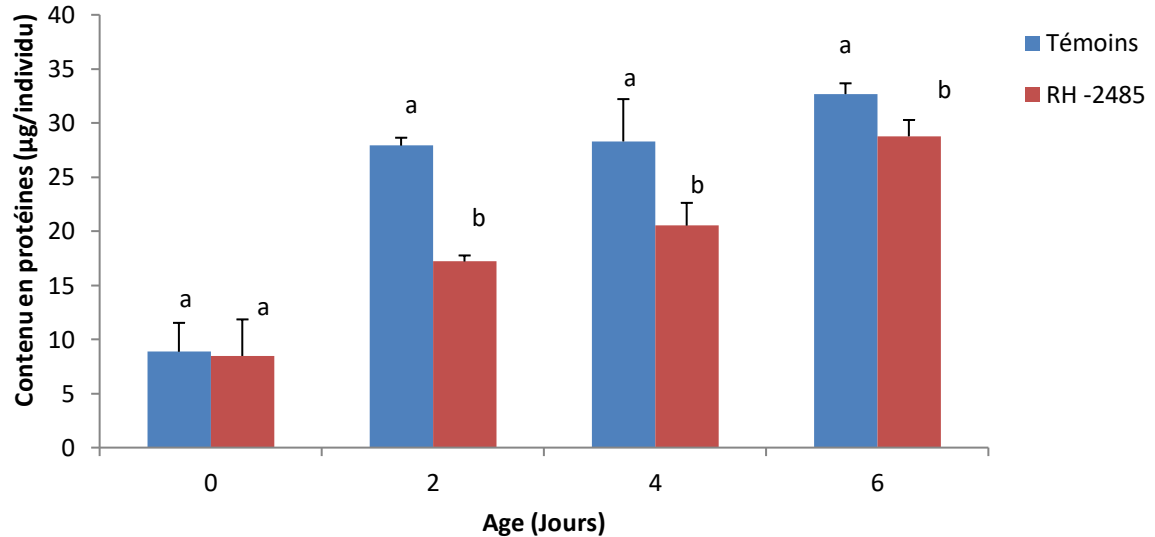


Figure 25. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en protéines (µg/individu) des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* (m ± SD ; n = 3)

2.1.3 Effet sur le contenu en glucides

La quantification des glucides a été faite à partir d'une courbe de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucides obtenus par la gamme d'étalonnage

(Tab.25, Fig. 26). Les résultats révèlent une variabilité du contenu en glucides entre les traités et les témoins (Tab. 26, Fig. 27). Un effet significatif est enregistré à 2 jours ($p = 0,027$) et à 6 jours ($p = 0,033$). La comparaison statistique des valeurs, entre les individus témoins n'indique aucune augmentation significative ($p > 0,05$) par ailleurs une augmentation significative du contenu est révélée à 4 jours ($p < 0,05$) entre les séries traitées.

Tableau 25: Dosage des glucides totaux: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité d'albumine (μg)	0	20	40	60	80	100
Absorbances (D.O)	0	0,164	0,396	0,591	0,766	0,960

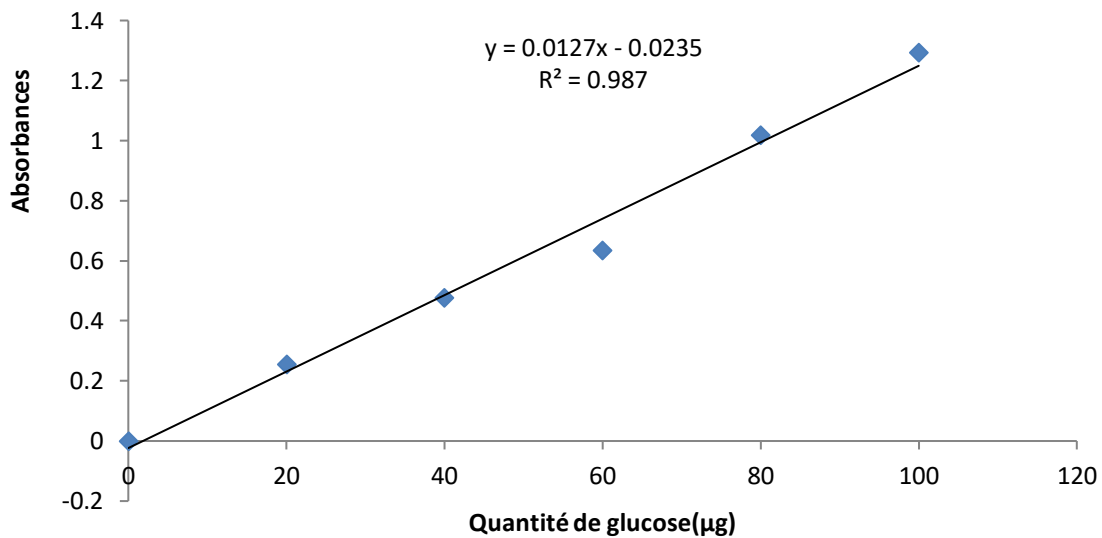


Figure 26. Dosage des glucides totaux : courbe de référence expriment l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg).

Tableau 26. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en glucides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des larves de *Cs. morsitans* ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$): Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (Lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (Lettres minuscules).

Traitement \ Age (jours)	Témoins	RH - 2485
0	20,42 \pm 2,68 A a	18,15 \pm 2,79 A a
2	25,32 \pm 5,56 A a	11,97 \pm 2,40 A b
4	31,45 \pm 1,86 A a	20,88 \pm 2,14 B a
6	33,99 \pm 4,44 A a	24,14 \pm 1,87 B b

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil $p < 0,05$

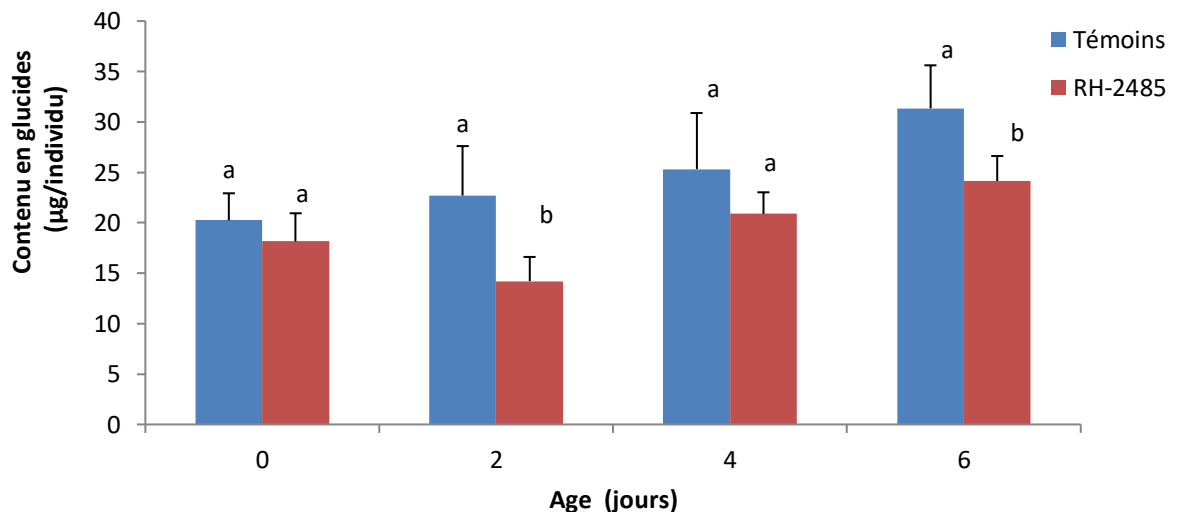


Figure 27. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en glucides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des larves nouvellement exuviées de quatrième stade de *Cs. morsitans* ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$)

2.1.4 Effet sur le contenu en lipides

Les absorbances mentionnées dans le tableau 27 ont été réalisées à partir d'une gamme d'étalonnage standard les lipides, lesquels nous ont permis à partir d'une droite de régression de calculer les quantités des lipides des larves de *Cs. morsitans* (Fig. 28).

Les résultats de ce dosage présentés dans le tableau 28 et figure 29 révèlent une variation par rapport aux témoins. Une différence significative est enregistrée à 2 jours ($p = 0,006$) et à 6 jours ($p = 0,019$). Par contre dans les séries témoins, il n'existe pas de différence significative ($p > 0,05$), alors que chez les traités cette différence se situe entre 0 jours et le 2^{ème} jour.

Tableau 27: Dosage des lipides totaux: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité de lipide (μg)	0	20	40	60	80	100
Absorbances (D.O)	0	0,086	0,161	0,255	0,344	0,407

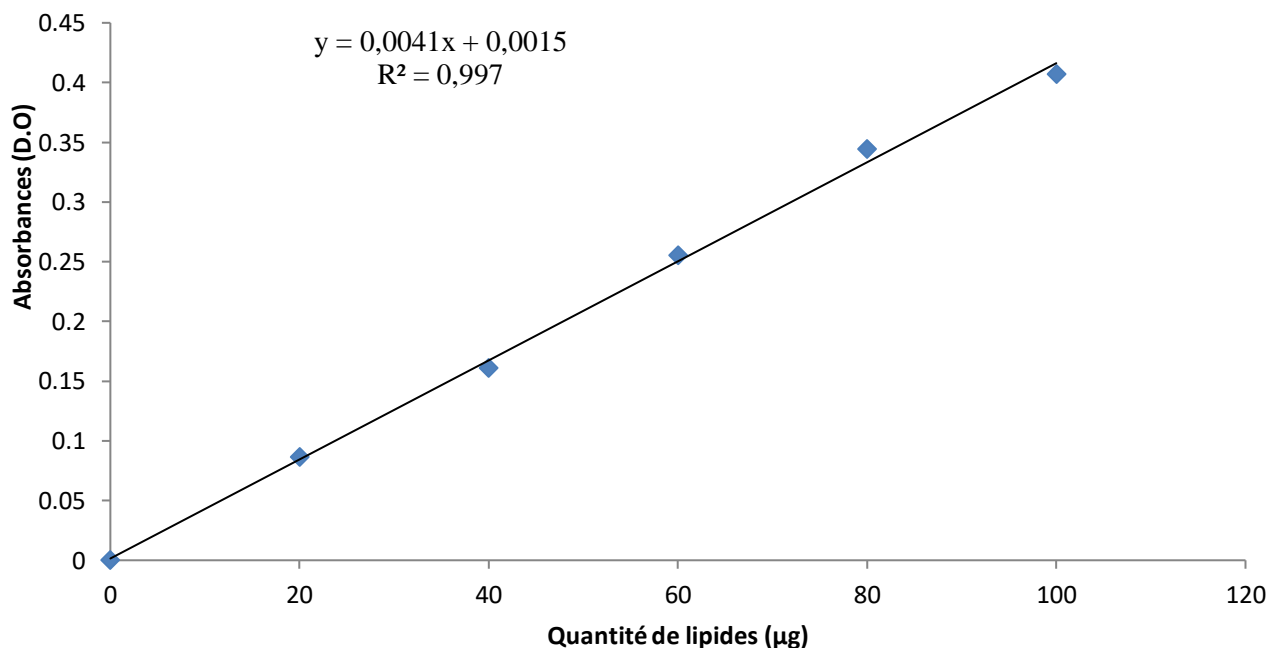


Figure 28. Dosage des lipides totaux: courbe de référence exprimant l'absorbance à 620 nm en fonction de la quantité de lipide (μg).

Tableau 28. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en lipides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des larves de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 3$): Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules).

Traitement \ Age (jours)	Témoins	RH - 2485
0	11,58 \pm 0,90 A a	10,17 \pm 1,10 A a
2	13,42 \pm 1,83 A a	6,35 \pm 1,27 B b
4	16,16 \pm 4,8 A a	12,60 \pm 1,49 B a
6	24,75 \pm 3,74 A a	15,94 \pm 1,52 B b

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil $p < 0,05$

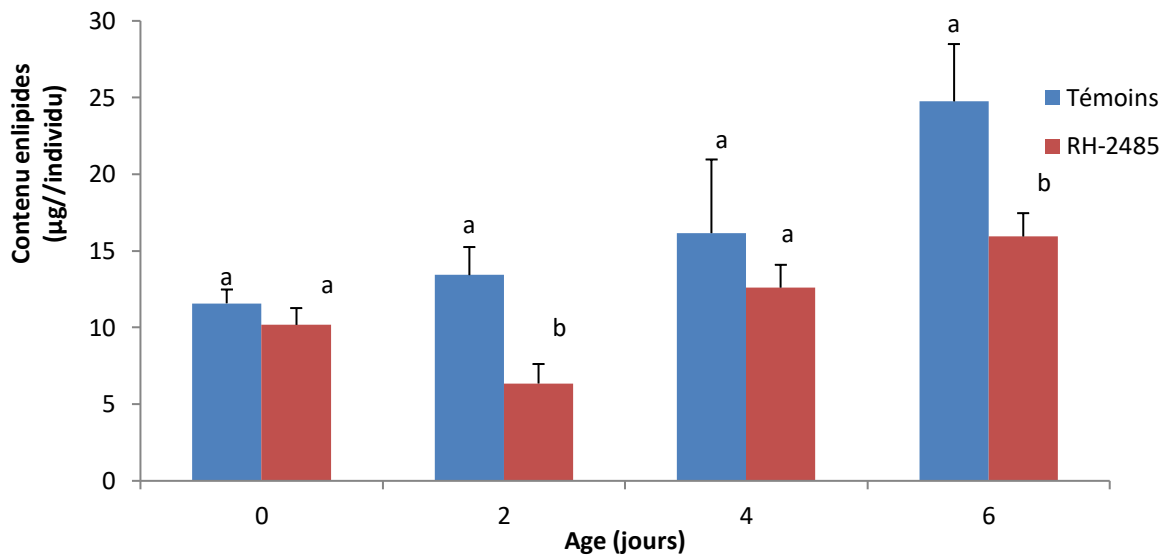


Figure 29. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en lipides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des larves de quatrième stade de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 3$).

2.2 Effet du méthoxyfénozide sur la durée de développement

Le suivi de la durée de développement des larves du quatrième stade et des pupes (nymphe) de *C. morsitans* après traitement au RH-2485 montre une accélération du développement. D'ailleurs les résultats consignés dans les tableaux 29 et 30 et figures 30 et 31, mettent en évidence une nette influence du méthoxyfénozide sur la durée de développement des larves du stade 4 et des nymphes.

La durée moyenne de développement des L4 des séries traitées est de $4,90 \pm 1,04$ jour alors que les L4 des séries témoins achèvent leur développement au bout de $7,12 \pm 1,73$ jour. Enfin la durée de la mue imaginale est de $1,65 \pm 0,47$ jours pour les séries traitées contre 2,62 jours pour les témoins. La comparaison entre témoins et traités montre une différence très significative de la durée de développement pour les larves du quatrième stade ($p < 0,001$). Une différence significative a aussi été révélée au cours de la mue imaginale entre les séries témoins et traitées ($p < 0,05$).

Tableau 29 : Effet du méthoxyfénozide (RH- 2485) sur la durée moyenne (jours) de développement des larves du quatrième stade (L4) et des nymphes de *Cs. morsitans* (m \pm SD; n = 5).

Répétitions \ Traitement	L4		Nymphe	
	Témoins	RH-2485(CL ₅₀)	Témoins	RH-2485(CL ₅₀)
1	7,37 \pm 1,21	4,33 \pm 1,02	2,55 \pm 0,68	1,33 \pm 0,47
2	6,22 \pm 1,66	4,14 \pm 1,05	2,11 \pm 0,56	1,66 \pm 0,47
3	7,26 \pm 1,43	4,62 \pm 1,21	2,25 \pm 0,43	1,85 \pm 0,37
4	7,15 \pm 1,28	4,87 \pm 0,92	2,90 \pm 0,73	1,60 \pm 0,48
5	7,12 \pm 1,73	4,90 \pm 1,04	2,50 \pm 0,67	1,50 \pm 0,50
m \pm SD	7,12 \pm 1,47	4,51 \pm 1,21	2,62 \pm 0,72	1,65 \pm 0,47

Tableau 30: Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur la durée moyenne (jours) de développement des larves du quatrième stade (L₄) et des nymphes de *Cs. morsitans* (m ± SD; n = 5).

Traitement / Stades	Témoins	RH-2485 (CL ₅₀)	Test « t »
L ₄	7,12 ± 1,73 a	4,51 ± 1,21 b	p = 0,000*** p < 0,001
Nymphe	2,62 ± 0,72 a	1,65 ± 0,47 b	p = 0,013* p < 0,005

Les moyennes suivies des lettres différentes sont significatives au seuil p < 0,05

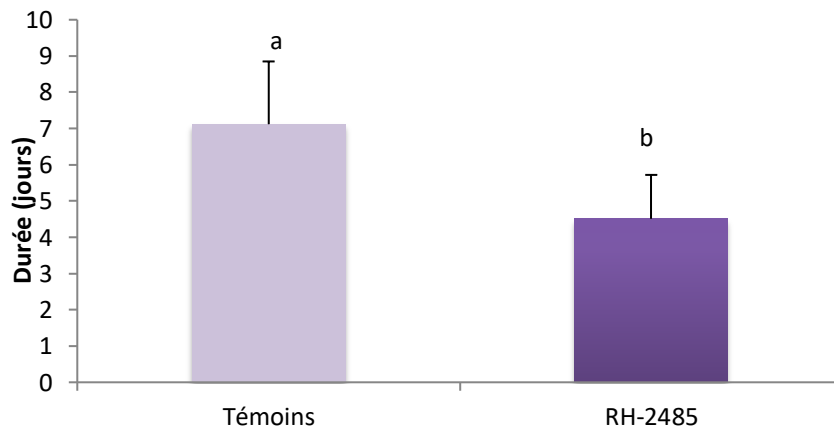


Figure 30. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur la durée moyenne (jours) de la nymphose de *Cs. morsitans* (m ± SD ; n= 5).

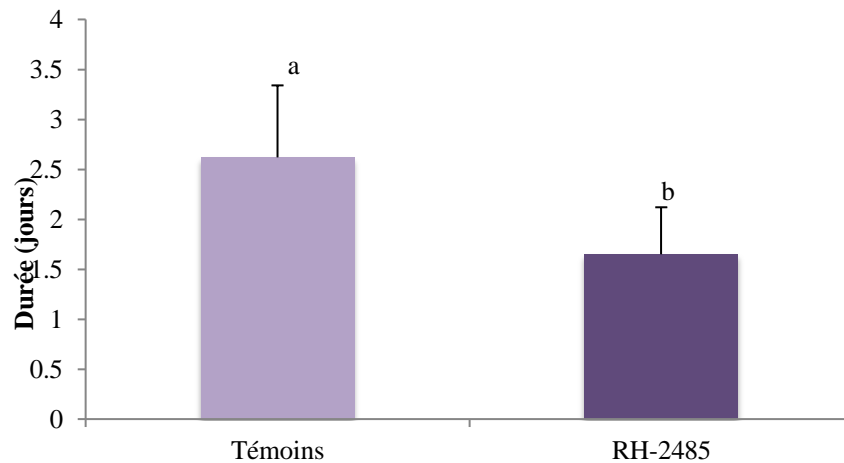


Figure 31. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur la durée moyenne de développement (jours) de la mue imaginale de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n=5$).

2.3. Effet du méthoxyfénozide sur le potentiel reproducteur

Le méthoxyfénozide appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. morsitans* a été évalué sur la fécondité et la fertilité, dans les conditions expérimentales (Température $25 \pm 2^\circ\text{C}$, humidité relative $70 \pm 5\%$). Les individus ayant survécu au traitement, ont présenté des perturbations des paramètres de reproduction (fécondité, fertilité).

2.3.1. Effet du méthoxyfénozide sur la fécondité et sur la fertilité

Le traitement effectué sur les larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* présente un effet différé sur les paramètres de la reproduction des adultes qui survivent. En effet, la molécule testée (méthoxyfénozide), a affecté considérablement, la reproduction de *Cs. morsitans*, en produisant un pourcentage élevé de stérilité. Chez les témoins, une production moyenne de $262 \pm 7,32$ œufs contre $96,67 \pm 5,51$ œufs à une concentration plus élevée $0,048$ mg/L. Aucun œuf pondu à la concentration la plus élevée $0,072$ mg/L (Tab.31, Fig. 32). Le taux de fertilité chez les témoins est de 100% , contre $37,82 \pm 3,18 \%$ à $0,048$ mg/L. (Tab 31, Fig. 33).

Tableau 31: Toxicité du méthoxyfénozide sur la fécondité et fertilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n=3$)

Traitement (mg/L)	Témoins	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072

Fécondité	262±7,21 a	218,67 ±6,11 b	179,00±4,00 c	138,33±3,51 d	96,67±5,51 e	-----
Fertilité (%)	100±0,00 a	91,73±3,60 b	67,52±4,04 c	54,20±3,79 d	37,82±3,18 e	-----

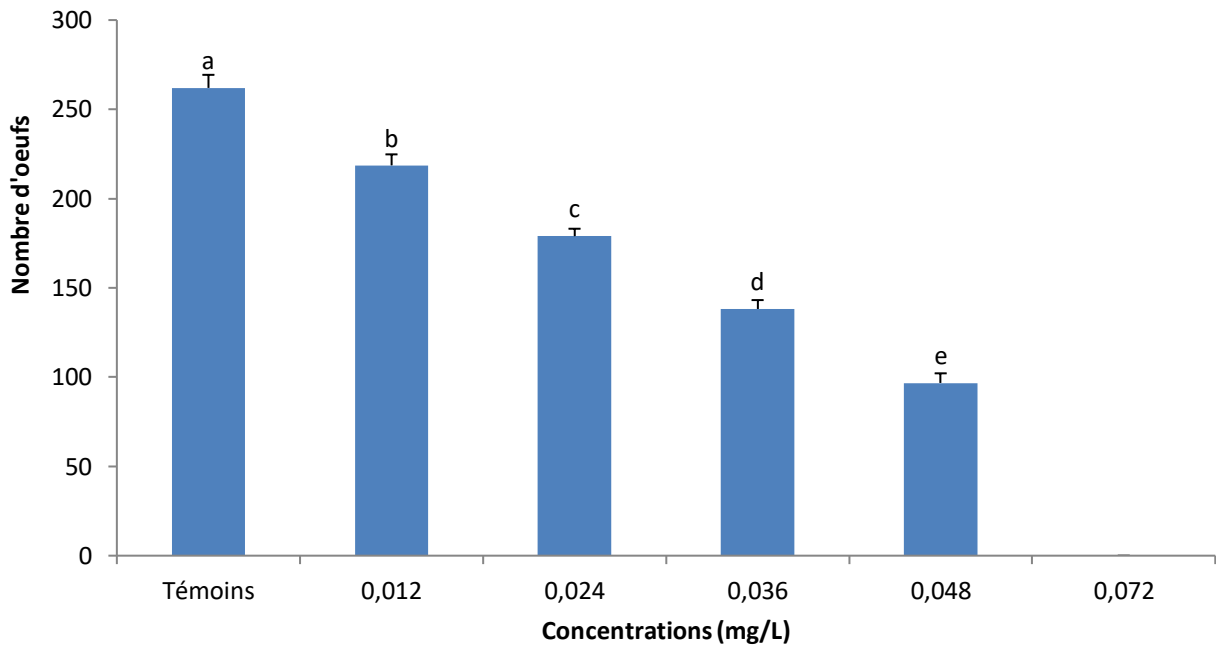


Figure 32. Fécondité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n= 3$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil ($p < 0,05$).

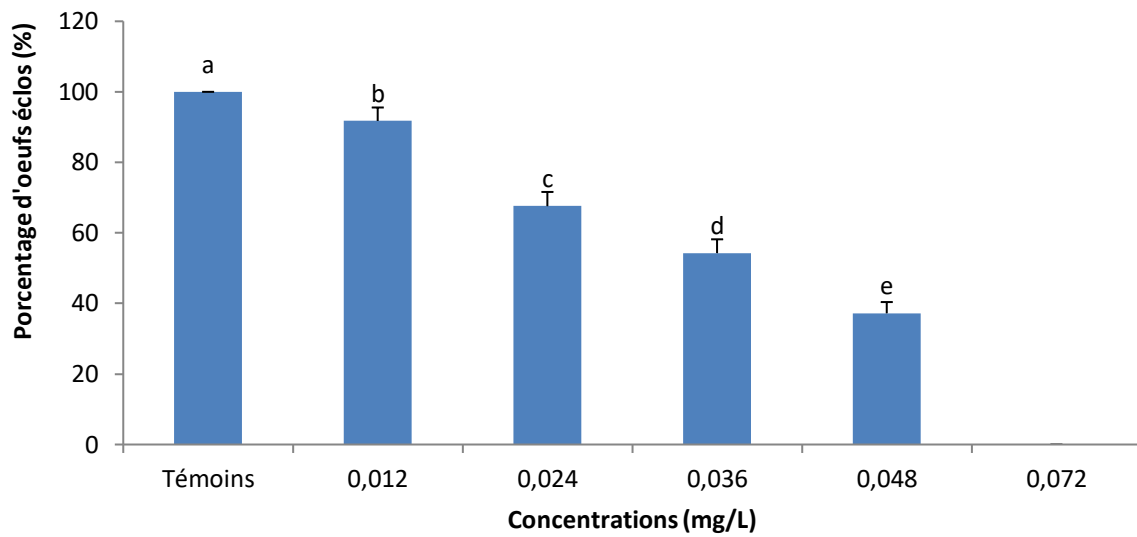


Figure 33. Fertilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n= 3$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil ($p < 0,05$).

L'ANOVA (Tab. 32 et 33) des données obtenues montre un effet traitement très hautement significatif $p < 0,001$. Le test de Tukey permet le classement des différentes concentrations en 5 groupes. Les résultats montrent, une réduction significative $p < 0,001$ du nombre d'œufs pondus comparés aux témoins. De même, la fertilité est significativement $p < 0,001$ réduite. Notons également une fertilité nulle à la concentration la plus élevée (0,072mg/).

Tableau 32: Fécondité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide: analyse de la variance: ($m \pm SD$; $n= 3$).

Source	DL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	4	50684,90	12671,20	428,08	< 0,001
Erreur	10	296,00	29,60		
Total	14	50980,90			

Tableau 33: Fertilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide: analyse de la variance: ($m \pm SD$; $n= 3$).

Source	DL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	4	8107,90	2027,0	188,58	<0,001
Erreur	10	107,50	10,70		
Total	14	8215,40			

2.3.2 Effet du méthoxyfénozide sur la stérilité

L'effet différé du méthoxyfénozide a affecté considérablement la fertilité de *Cs. morsitans*, se traduisant par une stérilité évoluant progressivement avec l'augmentation des concentrations. Le taux de stérilité est de $24,05 \pm 1,38$ % à la concentration la plus faible 0,012 mg/L, $87,0 \pm 2,46$ % pour la concentration 0,048 mg/L et 100% à la concentration la plus élevée (0,072 mg/L) (Tableau 33, Figure33). En effet l'analyse de la variance (Tableau 34) révèle un effet très hautement significatif $p < 0,001$. Le test de Tukey nous permet de distinguer cinq groupes comportant respectivement les concentrations 0,012, 0,024, 0,036, 0,048 et 0,072 mg/ L.

Tableau 34. Toxicité du méthoxyfénozide sur la Stérilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n= 3$).

Traitement (mg/L)	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
Stérilité (%)	$24,05 \pm 1,38$ a	$54,13 \pm 2,37$ b	$72,10 \pm 3,02$ c	$87,06 \pm 2,46$ d	$100 \pm 0,00$ e

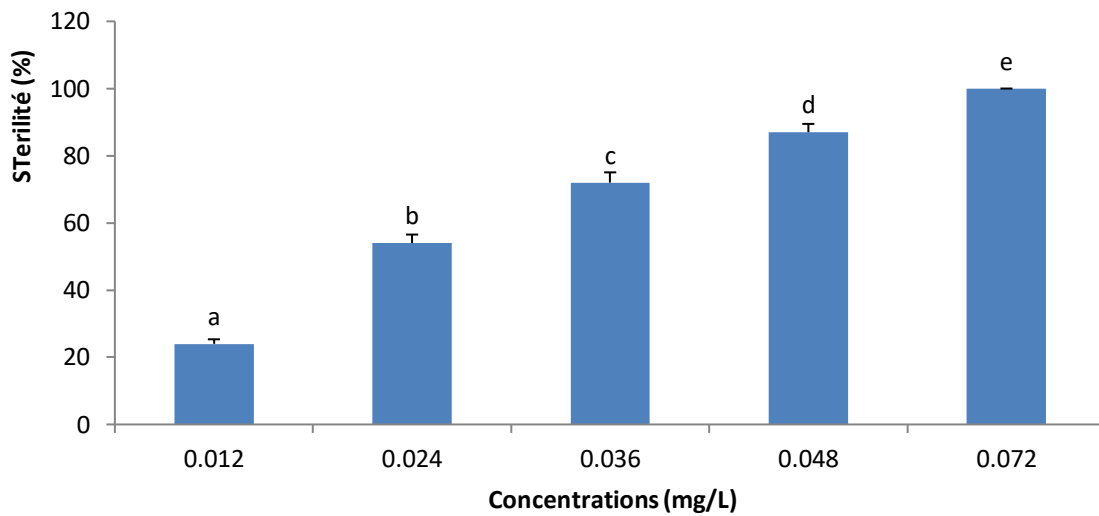


Figure 34. Stérilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves nouvellement exuviées du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n= 3$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil ($p < 0,05$).

Tableau 35: Stérilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide: analyse de la variance: ($m \pm SD$; $n= 3$).

Source	DL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	4	15062,49	3765,62	840,76	<0,001
Erreur	10	44,79	4,48		
Total	14	15107,28			

DISCUSSION

Discussion

1. Etude taxonomique

Un inventaire des Culicidés peuplant le lac des Oiseaux nous a permis de recenser différentes espèces. Dans l'ensemble, on observe une diversité des Culicidae avec une prédominance de la famille des Culicinae. A cet effet, l'analyse des relevés dans la zone d'étude montre, que la faune culicidienne est représentée par 6 taxons, appartenant à deux sous-familles : Anophelinae et Culicinae. Dans la sous-famille des Anophelinae, nous distinguons une seule espèce : *Anopheles sacharovi*. La sous famille des Culicinae comprend quatre genres et 6 espèces il s'agit de *Culex theileri*, *Culiseta morsitans*, *Culiseta ochroptera*, *Orthopodomyia pulcripalpis* et *Uranotaenia unguiculata*.

D'après Hassaine (2002), *Cx. theileri* et *Ur. unguiculata* figurent parmi les espèces à très large répartition et sont répandues dans l'Afrique méditerranéenne d'Est en Ouest. Seguy (1924) mentionne pour la première fois la présence de *Cs. morsitans* à Alger, confirmé par Senevet & Prunelle (1928). Par ailleurs, Ghidini (1934) signale la présence des larves de *Cs. morsitans* en Lybie, alors qu'au Maroc, cette espèce a été citée une seule fois à Tanger (Charrier, 1924). Plus tard Gaud (1953) et Trari (1991) précisent qu'ils n'ont jamais trouvé cette espèce au Maroc. Berchi (2000), a noté 7 espèces de Culicidae appartenant à deux sous familles, alors que Hassaine (2002), dans la région Ouest d'Algérie (Tlemcen), a révélé la présence de 20 espèces de Culicidae. De son côté, Djebbar (2009) et Bouabida *et al.*, (2012) signalent respectivement l'existence de 10 et 9 taxons appartenant à une seule sous famille celle des Culicinae ou *Culex* et *Culiseta* sont les taxons les mieux représentés. Brunhes *et al.*, (2000), rapportent que la faune Culicidienne d'Algérie est riche de 48 espèces. Cette diversité réside dans la climatologie et la diversité des biotopes offerts au développement des Culicidés. Une étude sur la biosystématique des Culicidés effectuée par Lounaci (2003) dans quatre stations de la région orientale d'Alger, du marais de Réghaia et de l'oued Sébaou de Tizi Ouzou a permis de recenser 13 taxons appartenant à la sous-famille des Culicinae. Il s'agit de la tribu des Aedini et des Culicini représentées respectivement par les genres *Aedes* et *Culex*. Selon Faurie *et al.*, (1980), le nombre d'espèces inventoriées est fonction du nombre d'individus récoltés.

La répartition des espèces de Culicidae dans les deux sites d'étude, montre que les genres *Anopheles* et *Culex* existent uniquement dans le gîte 2 (Sud-est du lac); *Culiseta ochroptera*

dans le gîte 1 (Sud du lac). Les résultats de l'abondance relative révèle que *Cs. morsitans* est l'espèce la plus représentée L'espèce *An. saccharovi* est le moustique le moins rencontré. Lors de notre prospection nous avons constaté la présence de polluants beaucoup plus dans le gîte 1. Les polluants les plus rencontrés sont des matières plastiques telles que les bouteilles et les sacs d'emballage, les morceaux de cartons, des tissus et des papiers de tout genre, les débris de matières organiques animaux et végétaux. La rareté des larves d'Anophelinae dans les gîtes pourrait être expliquée par le fait que les gîte larvaires ne présentent pas toutes les conditions requises et favorables à leur développement. Ceci serait en rapport avec la nature du gîte où les larves d'Anophelinae ont été récoltées, qui est moins polluée. La quantité en matière organique en décomposition détermine la couleur de l'eau et le rôle positif que joue ce facteur dans le choix du biotope larvaire a été mis en évidence par Bentley *et al.*, 1981.

Les gîtes larvaires des moustiques sont variés et sont susceptibles d'être contaminés par divers polluants. En raison de leurs modes de vie et d'alimentation, les larves de moustiques dans leur environnement, sont susceptibles d'être exposées à des polluants diverses pouvant entraîner des réponses très variées sur leur biologie.

D'une manière globale, cette première partie nous a permis de mettre en évidence que le lac des Oiseaux abrite une faune culicidienne variée parmi laquelle figure une espèce essentiellement ornithophile *Culiseta morsitans* potentiellement vectrice d'arbovirus responsables de l'encephalite équine de l'est (EEE).

2. Toxicologie du méthoxyfénozide

De nombreuses stratégies ont été mises en œuvre pour lutter contre les moustiques, allant de l'éradication des zones humides jusqu'à l'utilisation d'insecticides efficaces mais peu spécifiques. Aujourd'hui, les gîtes où se développent leurs larves sont souvent pollués par des xénobiotiques environnementaux. Il a été démontré que l'exposition de populations de moustiques à des polluants au stade larvaire peut moduler des phénomènes de résistance/tolérance aux insecticides chimiques, notamment par l'augmentation des activités enzymatiques de détoxification (Poupardin *et al.*, 2008; Riaz *et al.*, 2009; Poupardin *et al.*, 2012). A court terme ou à long terme certains xénobiotiques peuvent modifier l'expression de certains gènes de détoxification autrement dit l'induction d'enzymes de détoxification capables de métaboliser certains insecticides pouvant augmenter leur tolérance vis-à-vis des insecticides.

L'importante rémanence de ces insecticides dans l'environnement et le développement de phénomènes de résistance chez les insectes cibles, ont conduit à la nécessité de développer de nouveaux insecticides, tels que les régulateurs de croissance des Insectes (IGRs), parmi lesquels figure le méthoxyfénozide, objectif de notre étude

2.1. Tests de toxicité

L'évaluation des potentialités des IGRs dans le contrôle des moustiques a fait l'objet de recherches intensives (Cornel *et al.*, 2000). Bien que ces composés soient très toxiques pour les insectes, ils sont sans danger pour les mammifères et l'environnement (Smagghe *et al.*, 2012). Egalement, ces composés ont été largement utilisés dans notre laboratoire notamment sur les moustiques et sur d'autres espèces d'insectes (Rehimi & Soltani, 1999; Rehimi, 2004; Taibi *et al.*, 2003; Boudjelida *et al.*, 2005; Aribi *et al.*, 2006; Khebbeb *et al.*, 2008; Soltani-Mazouni & Hami, 2010; Bouzeraa & Soltani-Mazouni, 2012; Alouani *et al.*, 2014; Selmane-Meskache, 2014).

Nos essais expérimentaux par le méthoxyfénozide sur les larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* ont mis en évidence un effet toxique significatif, affectant considérablement la mortalité des larves et des stades suivant. L'une des conséquences de cette mortalité revient principalement à une mue accélérée voire incomplète des larves. Ce même effet a été observé dans d'autres groupes de Diptères tel que *Chironomus tentans* de la famille des Chironomidae (Smagghe *et al.*, 2000). Beckage *et al.*, (2004) ont testé la potentialité du méthoxyfénozide (RH-2485), du tébufénozide (RH-5992) et du RH-5849 à l'égard d'*Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* et *Anopheles gambiae*, et le méthoxyfénozide s'est avéré le plus toxique avec des concentrations létales CL_{50} respectives de 128,5; 31,2; and 27,5 $\mu\text{g/L}$. Ainsi, ces analogues de l'ecdysone ont été classés selon leur efficacité en RH-2485 > RH-5992 > RH-5849.

D'autres travaux démontrent l'efficacité de cette molécule dans différents groupes d'Insectes, chez les Diptères comme *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* avec des CL_{50} respectives de 25 et 24,54 $\mu\text{g/L}$ (Djebbar, 2009) ou encore contre le Lépidoptère *Spodoptera littoralis* (Smagghe *et al.*, 2000) qui révèle une CL_{50} de l'ordre de 1,15 mg/L. Nos essais toxicologiques sur les larves du dernier stade *Cs. morsitans*, montrent un effet toxique significatif du méthoxyfénozide avec une CL_{50} de 0,059 mg/L qui se traduit par une mortalité croissante avec l'augmentation des différentes concentrations. Des effets létaux et sublétaux sur *Spodoptera frugiperda*, ont été également observés par le traitement des larves du cinquième stade jusqu'à

la nymphose avec le méthoxyfénozide incorporé à la nourriture (Zarate *et al.*, 2011). En comparant nos résultats à ceux cités précédemment nous pouvons avancer l'hypothèse selon laquelle la variabilité de la toxicité du méthoxyfénozide est dépendante de l'espèce. En effet *Cs. morsitans* est moins sensible que *Cx. quinquefasciatus*, *An. gambiae*, *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata* mais plus sensible qu'*Ae. aegypti* et *S. littoralis*. D'autres expériences ont montré que le méthoxyfénozide (RH-2485) est plus efficace que le tébufénozide (RH-5992) (Ishaaya *et al.*, 1995 ; Smaghe *et al.*, 1999), confirmés par d'autres essais prouvant que l'affinité du RH-2485 aux récepteurs est très grande par rapport à celle du RH-5992 chez *Plodia interpunctella* (Pyralidae) (Carlson *et al.*, 2001). Dans l'étude de l'activité résiduelle du méthoxyfénozide et du tébufénozide, les résultats obtenus montrent que les œufs de *Cydia pomonella* sont plus sensibles aux deux produits testés que les œufs de *Molesta grapholita* (Lépidoptera : Tortricidae) (Borchet *et al.*, 2004), et que le RH-2485 avec une CL₅₀ de 0,049 mg/kg était quatre fois plus efficace que le RH-5992 avec une LC₅₀ de 0,185 mg/kg chez *Diatraea grandiosella* (Lepidoptera: Crambidae) (Trisyono & Chippendale, 1997). L'activité comparée de trois agonistes des ecdystéroïdes l'halofénozide (RH-0345), le tébufénozide (RH-5992) et le RH-5849 a été examinée par application topique chez *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). Les DL₅₀ ont été estimées respectivement à 5,10, 0,05 et 0,005 µg/insecte (Hami *et al.*, 2005). Cette différence pourrait avoir pour origine la variabilité interspécifique dans la structure du récepteur de l'ecdysone des différents ordres d'insectes (Smaghe *et al.*, 1996 a). Williams *et al.*, 2002, proposent que la susceptibilité variable aux agonistes des ecdystéroïdes puisse être associée à l'induction de l'ecdystéroïde 26-hydroxylase (ecdysteroid-26-hydroxylase), une enzyme responsable du métabolisme des ecdystéroïdes.

Selon Soin *et al.*, (2010) la différence de toxicité in vivo et in vitro des agonistes de l'hormone de mue (RH-2485, RH-5992 et le RH-0345) et la spécificité de ces molécules chez deux espèces de Lépidoptères *Bombix mori* et *S. littoralis*, n'est pas basée sur l'activation différente des récepteurs (EcR/USP) dans les deux espèces mais cela peut être du aux paramètres in vivo dont l'importance relative reste à déterminer par exemple, la perméabilité de la cuticule, l'absorption/l'excrétion par l'intestin et la détoxification métabolique.

2.2 Types morphogénétiques

Il a été démontré que les IGRs affectaient le processus de mue en provoquant plusieurs types morphogénétiques. Des travaux ont démontré que l'administration des agonistes d'ecdystéroïdes, induit des mues précoces et incomplètes dans différents groupes d'insectes (Boudjelida *et al.*, 2005; Dhadialla *et al.*, 2005; Hammi *et al.*, 2005; Djebbar, 2009; Gelbic *et al.*,

20011; Zarate *et al.*, 2011).

Parmi les malformations enregistrées au cours de notre étude suite au traitement par le méthoxyfénozide, notons la présence d'intermédiaires larves-pupe, pupes blanches, pupes brunes et des adultes partiellement émergés. Ces malformations sont le résultat d'une perturbation du développement qui se manifeste par des mues rapides, donc incomplètes, qui affecte la nymphose et la mue imaginale. Dhadialla *et al.*, 1998, 2005, rapportent que le méthoxyfénozide accélère l'activation des gènes codant pour des protéines cuticulaires et la mise en place de la nouvelle cuticule, d'où l'explication de cette perturbation. L'incapacité aux adultes à s'exuvier relève probablement de l'inhibition de l'hormone d'éclosion par la persistance du méthoxyfénozide dans l'organisme de ces derniers. Les atteintes morphogénétiques identiques ont été observées chez différentes espèces d'insectes traités au méthoxyfénozide comme *Aedes aegypti* (Darvas *et al.*, 1998), le Coléoptère *Harmonia axiridis* (Carton *et al.*, 2003), le Lépidoptère *Spodoptera frugiperla* (Zarate *et al.*, 2011) et *Ephestia kuehniella* (Bouzeraa, 2014). Ces malformations ont été aussi observées chez *Cx. pipiens* (Boudjelida *et al.*, 2005; Amira, 2014) et chez *Ephestia kuehniella* (Hammi *et al.*, 2005) avec le halofénozide. Des types morphogénétiques ont été également observés chez *Cx. pipiens* avec d'autres IGRs comme le Flucycloxuron (Andalin), le Triflumuron (Alsystin), le Teflubenzuron (Dart) (Rehimi *et al.*, 1999), l'azadirachtine (Alouani *et al.*, 2009, 2013), le Kinoprene (Hamaidia, 2014) et le Novaluron (Djaghader *et al.*, 2013).

2.3 Effet sur la composition biochimique

Les paramètres biochimiques peuvent constituer un important outil de diagnostic pour évaluer les effets toxiques d'un insecticide. Chez les insectes, l'hémolymphe subit des modifications métaboliques diverses au cours du développement (larve, pupa, adulte) qui sont liées aux différents états physiologiques de l'insecte (Nowosielski & Patton, 1965). Ces modifications métaboliques intenses sont liées aux différents systèmes hormonaux et neurosécrétoires (Buck, 1953; Marty, 1968; Lamy 1969). Les dosages biochimiques des métabolites corporels de *Cs. morsitans* ont mis en évidence une réduction du poids des larves après traitement par le méthoxyfénozide. La réduction significative de la croissance pondérale des larves L4 de deux jours est très marquée, par rapport aux témoins. Cette réduction serait probablement due au rôle anti-appétant du méthoxyfénozide qui peut s'expliquer par une réduction des réserves énergétiques, allouées à la croissance (contenus en lipide et en glucides)

dans les cellules de stockage des moustiques ou encore par la mobilisation de ces ressources pour l'initiation des processus de détoxication. Une récupération de la croissance pondérale a été observée dès le 4^{ème} jour dans les séries traitées. Ces résultats suggèrent que la durée d'exposition favoriserait cette perturbation de la croissance pondérale. Des résultats similaires ont été obtenus avec *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* ou une diminution significative du poids corporel a été obtenue lors du traitement par le méthoxyfénozide et l'halofénozide (Djebar, 2009), également avec *Cx. pipiens* après traitement par l'halofénozide (Amira, 2014). D'autres travaux sont en accord avec nos résultats ou l'application d'analogues d'hormones de mue a inhibé le gain de poids des larves de *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) (Carton *et al.*, 2003). Nos propres observations confirment également les résultats établis par Bouaziz *et al.*, (2011), Djeghader *et al.*, (2013) après traitement des larves de *Cs. longiareolata* et *Cx. pipiens* avec le novaluron qui est un IGRS inhibiteur de la chitine. Cette diminution de poids a été aussi obtenue après traitement des larves de *S. littoralis* avec le méthoxyfénozide, le buprofezin et le pyriproxifen (Pineda *et al.*, (2007), Nasr *et al.*, (2010)). Cependant l'exposition du Coléoptère *Tenebrio molitor* à l'halofénozide n'entraîne aucune modification de la croissance pondérale (Lakbar, 2000). Résultat également observé avec le RH-5849 et le tébufénozide chez *Spodoptera exigua* (Smagghe & Degheele, 1994).

Les métabolites jouent un rôle essentiel dans la physiologie des insectes principalement dans diverses réactions pouvant assurer la catalyse biochimique ainsi que la régulation. Une diminution dose-dépendante des protéines totales a été notée chez *Cs. morsitans*. Chez les moustiques autogènes par exemple les protéines stockées aux stades larvaires sont utilisées pour l'oogenèse. Cependant chez les moustiques anautogènes, le repas sanguin représente la principale source de protéines nécessaires (Briegel, 1985). Quant aux glucides ils représentent une source d'énergie importante et servent à l'élaboration des produits génitaux et des structures membranaires. Troy *et al.*, (1975) ont démontré que les lipides représentent 35% de la composition des ovocytes chez *Aedes aegypti*. L'élévation du contenu lipidique avant l'émergence aurait un rôle dans l'induction du développement ovarien chez les moustiques anautogènes (Sawabe & Moriyabashi 2000).

Dans notre étude le dosage des principaux constituants réalisé dans le corps entier des larves du dernier stade de *Cs. morsitans*, révèle une modification de la composition biochimique. Des fortes concentrations en protéines dans l'hémolymphe sont en rapport avec la synthèse de la nouvelle cuticule (Bourguet & Exbrayat, 1977). Chez *Diatraea grandiodella*, des concentrations élevées sont observées au cours du stade larvaire et diminuent par la suite au

stade nymphale (Chippendale, 1970). Le même phénomène est observé chez *Laspeyresia pommonella* (Sieber & Benz, 1978). Nos résultats révèlent une diminution des protéines totales, glucides et des lipides chez les individus traités par le méthoxyfénozide comparés aux individus témoins. La réduction de la quantité des protéines induite par le méthoxyfénozide chez les larves de *Cs. morsitans* est également observée avec d'autres IGRs sur différentes espèces d'insectes. Ces résultats sont semblables à ceux de Abd El-Mageed, 2008 et Ghoneim *et al.*, 2012 avec un autre analogue de l'hormone de mue, le tébufénozide. Egalement l'halofénozide (RH-0345) appliqué aux femelles adultes de *Blattella germanica* (Diptera) nouvellement exuviées réduit les taux hémolymphatiques (Rouibi, 2002) ainsi que chez *T. molitor* (Soltani *et al.*, 2002). Les effets des IGRs sur le taux des protéines, glucides et lipides chez les moustiques et chez d'autres espèces d'insectes ont fait l'objet de plusieurs études notamment chez *Aedes aegypti* (Ziegler & Ibrahim, 2001); *Anopheles gambiae* (Kaufmann & brown, 2008); l'acide mévalonique (anti-JH) et le chlorfluazuron sur *Spodoptera littoralis* (Amer, 1990; Ghoneim, 1994); le novaluron (inhibiteur de la synthèse de chitine) sur *Culiseta longiareolata* (Bouaziz *et al.*, 2011) et *Culex pipiens* (Djeghader *et al.*, 2013); le buprofezin, l'hexaflumuron, le lufenuron (inhibiteurs de la synthèse de la chitine), le tébufénozide (analogue de la 20-E) et le pyriproxifen (analogue de l'hormone juvénile) sur *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) (Assar *et al.*, 2010); le pyriproxifen, le tébufénozide et le lufenuron sur *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae) (Hamadah *et al.*, 2012). Les travaux de Djebbar, 2009 ont montré que le contenu en protéines totales, glucides et lipides diminuent après traitement avec le méthoxyfénozide et l'halofénozide chez *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*. Egalement Amira (2014) démontre que l'halofénozide perturbe le taux des protéines, glucides et lipides chez *Cx. pipiens*. Une baisse de la protéinémie est observée aussi chez *S. littoralis* après traitement avec le RH-5849 (Smaghe & Degghele, 1992). La modification dans la concentration des protéines résulte du changement de volume d'hémolymphe sous l'effet de l'insecticide (Sugumaran, 2010) d'où la diminution de la teneur de protéines des larves traitées. Cette réduction est expliquée par l'effet des IGRs sur les cellules neurosecrétices responsables de la synthèse des protéines (Bakr *et al.*, 2007), par l'inhibition de la synthèse et le métabolisme d'ADN ou l'interférence des analogues d'ecdysone avec la synthèse de protéines (Padmaje & Rao 2000).

Au terme de cette étude il semblerait que le méthoxyfénozide exerce un effet cytotoxique sur les paramètres biochimiques par rapport aux témoins. Les perturbations quantitatives observées dans ce travail, peuvent être liés à la capacité des IGRs de modifier la synthèse ou le transport de certains métabolites et de perturber le fonctionnement de l'organisme (Leonardi *et al.*, 2001;

Rodriguez-Ortega *et al.*, 2003).

2.4 Effet sur la durée de développement

Les processus de mue et de la métamorphose sont contrôlé par des hormones et neurohormones (Gilbert *et al.*, 2002; Lafont *et al.*, 2005; Gilbert & Rewitz, 2009). Les hormones de mue ou ecdystéroïdes sont des activateurs primaires du développement des insectes et leurs rôles dans la régulation de la mue et la métamorphose sont bien caractérisés (Spindler *et al.*, 2009). Les conditions telles que la température, l'humidité relative, la photopériode ou la nature de la nourriture, modifient les durées de développement (Rehimi, 1993).

Le méthoxyfénozide, testé à la CL₅₀ sur les larves du dernier stade de *Cs. morsitans* entraîne des perturbations du temps de développement. En effet ce travail a pu mettre en évidence que le méthoxyfénozide entraîne une accélération des processus de la mue qui se manifeste par un raccourcissement significatif de la durée la nymphose et de la mue imaginale comparativement aux témoins. Ce même effet est aussi observé chez le Lépidoptère *Spodotera littoralis* (Pineda *et al.*, 2007) et chez *Spodoptera frugiperda* (Zarate *et al.*, 2011) ou le méthoxyfénozide a affecté le développement larvaire. L'accélération de la nymphose a donné naissance à des formes non viables (larve- puppe). Ceci serait vraisemblablement dû à un phénomène de saturation hormonale chez les individus traités. Des effets similaires sont aussi rapportés chez d'autres insectes comme *Platinota idaeulis* avec le tébufénozide (Biddinger *et al.*, 2006). En effet la 20E initie le processus de mue (Truman & Riddiford, 2007). L'apolyse larvo-nymphale se produit et se termine avant le pic larvaire de la 20E, par contre, l'apolyse nympho-adulte commence au début de l'augmentation du taux de la 20E nymphale. L'interaction dans l'homéostasie de ces hormones avec des sources exogènes d'hormone ou encore avec leurs analogues de synthèse peut conduire à une perturbation dans le développement des insectes cibles (Jenkins *et al.*, 1992).

2.5 Effet sur la reproduction

L'évolution de la fécondité des femelles peut être directement reliée à l'acquisition des ressources. Lors de la maturation, la demande énergétique est dirigée par les besoins en vitellogenèse et les autres processus précédant la ponte (Novoseltsev *et al.* 2003). De nombreuses études réalisées sur divers ordres d'insectes ont démontré que le processus de la reproduction est sous le contrôle de la 20E et l'hormone juvénile (Engelmann, 1979 ; Davis *et*

al., 1990 ; Cusson *et al.*, 1994 ; Gäde & Hoffman, 2005). Toute interférence dans l'homéostasie de ces hormones avec des sources exogènes (agonistes ou antagonistes) peuvent entraîner des anomalies dans la croissance des ovocytes, la formation des œufs, et l'embryogenèse (Smagghe *et al.*, 2003). A cet effet différents travaux ont démontré la toxicité des IGRs sur le potentiel reproducteur. Les agonistes des ecdystéroïdes en général peuvent affecter la fécondité et/ou la fertilité chez des différents ordres d'insectes (Knight, 2000; Sun *et al.*, 2000; Osorio *et al.*, 2008; Pineda *et al.*, 2009; Luna *et al.*, 2011). Notre étude révèle que le traitement des larves du dernier stade de *Cs. morsitans* avec le méthoxyfénozide affecte certains paramètres de la reproduction. Une réduction significative de la fécondité et de la fertilité a été observée avec l'augmentation des concentrations. Aucune ponte n'a été enregistrée à la concentration la plus élevée (0,072mg/L). Il semble que les concentrations nécessaires pour réduire le potentiel reproducteur des femelles doivent être très élevées pour induire une stérilité importante. Ces effets peuvent être le résultat de l'interférence du méthoxyfénozide avec la synthèse de la vitellogénine (Pineda *et al.*, 2007). Hammi, *et al* (2005), Soltani- Mazouzi, *et al.*,(2012) et Bouzeraa (2014) ont également rapporté que la fécondité et la fertilité des femelles d'*E. kueniella* ont été affecté par un traitement au méthoxyfénozide par application topique. Ce même effet a été observé chez le Lépidoptère *Spodoptera litura* (Shahout, 2011), et également chez *Spodoptera exigua* ou une réduction significative de la fertilité a été enregistrée (Christian-Luis & Pineda, 2010). Chez de nombreuses familles de Lépidoptères telles que les Crambidae, Noctuidae, Pyralidae, et Tortricidae une réduction de la fécondité (Smagghe *et al.*, 1996 b; Rodriguez *et al.*,2001) et une réduction de la fertilité (Smagghe & Degheele 1994; knight, 2000) ont été enregistrées avec un autre analogue de l'hormone de mue , le tébufénozide.

Par ailleurs de nombreux travaux ont démontré chez plusieurs espèces d'Insectes que le tébufénozide, l'halofénozide et le méthoxyfénozide affectent négativement la fécondité et la fertilité des Diptères, Coléoptères et des Lépidoptères comme le Diptère *Chironomus riparius* ((Tassou & Shultz, 2013), les Coléoptères *Leptinotarsa decemlineata* (Farinos *et al.*, 1999) et *Tenebrio molitor* (Taibi *et al.*,2003)], les Lépidoptères *Ephestia kuehniella* (Khebeb *et al.*,2008) et *Platynota idealus* (Biddinger & Hull, 1999). Les travaux de Daas-Maamcha (2006) ont rapporté également que l'application de plusieurs mimétiques de l'hormone de mue tels que le méthoxyfénozide, le tébufénozide, et l'halofénozide sur les femelles *Eupolybothrus mudicornis* (Myriapode) affectait la vitellogénèse.

Récemment d'autres expérimentations ont été réalisées avec d'autres régulateurs de croissance des insectes, analogues de l'hormone juvénile chez le Coléoptère *Rhizopertha dominica*, le traitement par le méthoprène a provoqué une réduction de la fécondité des femelles

(Athanassiou, *et al.*, 2011). Egalement des travaux antérieurs avec d'autres IGRs tels que le piriproxyfène et le diflubenzuron, utilisés sur des larves de moustiques du genre *Ae. aegypti*, révèlent une réduction significative du potentiel reproducteur (Kamal & Khater, 2010).

Les effets des analogues de l'hormone de mue sur la reproduction ont été largement étudiés et se sont avérés très variables, suivant le stade de développement, le moment du traitement ou la méthode de traitement utilisée (Dallaire *et al.*, 2004). En effet Moulton *et al.*, (2002) montrent que la potentialité du méthoxyfénoside à l'égard des Lépidoptères est plus importante par ingestion que par application topique.

Globalement les résultats de cette étude démontrent clairement les potentialités du méthoxyfénoside à l'égard du moustique *Cs. morsitans*. En effet les concentrations létales de ce composé peuvent affecter le développement des larves du dernier stade engendrant des perturbations se traduisant par des mues précoces. Les signes manifestes, sont des types morphogénétiques induisant des individus non viables. Outre ces perturbations morphologiques, ce mimétique de l'hormone de mue testé affecte le poids corporel, ainsi que le contenu des principaux métabolites (protéines, lipides, glucides). Ceci suggère un effet dépressif de ce composé sur le système reproducteur des survivants chez *Cs. morsitans*, en interférant avec des processus physiologiques sous contrôle endocrinien.

CONCLUSION

Conclusion et perspectives

L'usage intensif ces dernières années des pesticides en particulier les insecticides, a conduit à une contamination importante de l'environnement et à l'apparition d'effets néfastes sur de nombreux organismes vivants comme l'Homme et les animaux. Malgré leur interdiction ces produits restent très utilisés, notamment dans le domaine agricole. Le problème de la contamination se pose donc encore pour de nombreuses années. Un programme de recherche a mis au point des composés nouveaux, plus sélectifs, moins toxiques pour les organismes non ciblés et à faible risque écotoxicologique, les régulateurs de croissance des insectes (IGRs). Ainsi, le principal objectif de notre travail était d'étudier les effets de l'un de ces composés le méthoxyfénoside analogue le l'hormone de mue sur des larves de moustiques.

Les moustiques génèrent une nuisance importante. Les gîtes où se développent leurs larves sont souvent pollués par des xénobiotiques environnementaux (les pesticides par exemple) qui leur permettent de les tolérer provoquant ainsi leur prolifération. Cette étude fournit une évidence de la présence d'une biodiversité culicidienne dans le lac des Oiseaux (EL-Tarf). Dans un premier temps nous avons prospecté ce site pour lister les gîtes abritant les stades pré-imaginaux. Notre choix s'est limité à deux gîtes (Sud et Sud-est du lac) lesquels sont accessibles et surtout aussi par rapport à l'abondance de cette faune.

L'analyse des relevés dans la zone d'étude, montre que la faune culicidienne est représentée par 6 espèces, appartenant à deux sous-familles : Anophelinae et Culicinae. Les espèces inventoriées appartiennent à deux sous familles Il apparait ainsi une prédominance de la sous-famille des Culicinae. Dans la sous-famille des Anophelinae, nous distinguons une seule espèce : *Anopheles sacharovi*. La sous famille des Culicinae comprend quatre genre et 6 espèces il s'agit de *Culex theileri*, *Culiseta morsitans*, *Culiseta ochroptera*, *Orthopomyia pulcripalpis* et *Uranotaenia unguiculata*. *Culiseta morsitans*, modèle utilisé dans notre étude est l'espèce la plus abondante.

Les essais réalisés avec le méthoxyfénoside (RH-2485) ont montré une toxicité à l'égard des larves du dernier stade (L₄) de *Cs. morsitans* induisant une mortalité significative par rapport aux témoins. Ces tests toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations létales CL₅₀ et CL₉₀ et révèlent des effets insecticides avec une relation dose-réponse.

Testé à la concentration létale CL_{50} le méthoxyfénozide a révélé une activité insecticide en perturbant la croissance pondérale, des larves avec une significativité surtout pour les larves de deux jours. Le méthoxyfénozide a aussi affecté le contenu en protéines, glucides et lipides des séries témoins et traités au cours des différents âges, avec un effet très marqué, à deux jours. Par ailleurs des perturbations du développement ont fait apparaître des types morphogénétiques suite à une accélération de la nymphose et de la mue imaginale. Ce résultat suggère la persistance et l'accumulation des agonistes de l'hormone de mue dans les tissus. En effet le traitement par le méthoxyfénozide a montré une réduction de la fécondité et fertilité des adultes qui ont survécu au traitement des larves induisant une stérilité très significative aux concentrations les plus élevées. Les résultats obtenus sont accord avec des travaux antérieurs qui confirment l'efficacité de ces agonistes de l'hormone de mue.

La grande spécificité de ces IGRs fait de ces composés une excellente alternative aux insecticides chimiques contre la lutte des larves de moustiques.

Il serait intéressant de compléter ce travail en évaluant l'effet du RH-2485 sur l'aspect endocrinien par l'analyse quantitative de l'hormone de mue et d'évaluer l'effet de cette molécule avec des concentrations sublétales, sur les différents stades larvaires et à différents temps d'exposition.

RESUMES

Résumé

Les connaissances sur les insectes hématophages, vecteurs de pathogènes sont l'une des composantes majeure de la biodiversité afin d'élaborer des stratégies de contrôle et de lutte. Une étude a été réalisée au travers d'un modèle (Diptera: Culicidae) dans le lac des Oiseaux (Wilaya d'El-Tarf). Au cours de ce travail deux approches combinant l'aspect taxonomique et toxicologique ont été menées.

La première partie relève d'une étude systématique sur les Culicidés, prélevés à l'état larvaire et nymphal au niveau de deux gîtes (Sud et Sud-Est du lac). L'identification a été réalisée sur les adultes issus de l'élevage, en laboratoire. L'espèce *Culiseta morsitans* d'importance vétérinaire déterminée comme l'espèce la plus abondante du lac, et servira de modèle durant notre étude.

L'étude toxicologique deuxième aspect de notre travail a été réalisée en vue de tester l'effet d'un régulateur de croissance des insectes (IGRs) le méthoxyfénozide, analogue de l'hormone de mue sur les larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans*. Les résultats obtenus mettent en évidence un effet dose-réponse. Le méthoxyfénozide provoque également l'apparition des différents types morphogénétiques, formes non viables tels que des intermédiaires larves-pupes, pupes blanches, pupes brunes et adultes partiellement émergés.

La dernière partie de cette étude a été menée en vue d'évaluer l'effet du méthoxyfénozide sur plusieurs aspects physiologiques (poids, analyse quantitative des métabolites, développement et reproduction) chez les différents stades de *Cs. morsitans*. Les résultats montrent que le méthoxyfénozide utilisé à la concentration létale CL₅₀ à l'égard du quatrième stade larvaire à différents âges (0, 2, 4 et 6) jours diminue significativement le poids, le contenu en protéines, glucides et lipides corporel des larves de *Cs. morsitans*, par rapport aux témoins, avec un effet plus marqué à 2 jours. Le traitement par le méthoxyfénozide des larves nouvellement exuviées du dernier stade (L₄) affecte également significativement la durée de développement de la nymphose et de la mue imaginale de *Cs. morsitans* traduisant une accélération de la mue.

Enfin, sur les adultes qui survivent au traitement des larves, on note une réduction de la fécondité et fertilité qui se traduit par un taux de stérilité qui atteint 100% à la concentration la plus élevée (0,072mg/L).

Mots clés: Lac des Oiseaux, Culicidés, *Culiseta morsitans*, Régulateurs de croissance des insectes, Métoxyfénozide, Types morphogénétiques, Développement, Reproduction.

Abstract

Knowledge about blood-sucking insects, disease vectors is one of the major biodiversity components to develop control strategies and control. A study was conducted through a model (Diptera: Culicidae) in Lake of the Birds (Wilaya of El-Tarf). During this work two approaches combining taxonomic and toxicological aspects have been conducted.

The first part, reports a systematic study of the Culicidae. Larvae and pupae specimens originally collected from at two cottages (South and South-East) of Lake Bird, were reared under laboratory conditions. The identification was carried out on adults. The species *Culiseta morsitans* veterinary importance determined as the most abundant species of the lake, and serve as a model for our study.

The toxicological study, the second aspect of our work was carried out to test the effect of an insect growth regulator (IGRs) Methoxyfenozone, a non-steroidal ecdysteroid agonist against last-instar larvae of *Culiseta morsitans*. The results show a dose-response effect. The compound also induced morphogenetic abnormalities, unsustainable forms such as larvae-pupae intermediate, white pupae, brown pupae and adults partially emerged.

The last part of this study was to evaluate the effect of méthoxyfénozone on many physiological aspects (weight, quantitative analysis of metabolites, development and reproduction in *Cs. morsitans*). The results show that méthoxyfénozone used in LC₅₀ lethal concentration with respect to the fourth instar at different ages (0, 2, 4 and 6) days significantly reduces the weight, the content of proteins, carbohydrates and lipids body larvae of *Cs. morsitans* compared to control, with a higher effect at 2 days. The tested compound disturbed the development by the reduction of the developmental duration of the fourth instar larvae (L₄) and the pupae instar, reflecting accelerated molting.

Finally adults of *Cs. morsitans* derived from early fourth instar treated with méthoxyfénozone exhibited alterations in reproductive parameters (fecundity and fertility). The tested compound strongly affected the reproduction of *Cs. morsitans* by producing a high percentage of sterility which increased to 100% at the higher concentration (0.072mg/L).

Key words: Lake Bird, Culicidae, *Culiseta morsitans*, Insect Growth Regulator, Methoxyfenozone, Morphogenetic abnormalities, Development, Reproduction.

الملخص

إن التعرف عن الحشرات المتغذية على الدم و ناقلات الأمراض هي واحدة من المكونات الرئيسية للتنوع البيولوجي لتطوير استراتيجيات للمراقبة و مكافحتها . وقد أجريت الدراسة من خلال نموذج (ثنائية الأجنحة : البعوض) في بحيرة الطيور (ولاية الطارف). خلال هذا العمل قد قمنا بالجمع بين الجوانب التصنيفية والسمية.

الجزء الأول تضمن دراسة تصنيفية للبعوض و الذي تم جمعه في كل من طور اليرقات و العذارى على مستوى منطقتين (جنوب و جنوب شرق البحيرة). إن تحديد النوع اجري على الحشرات الكاملة الناجمة عن التربية في المختبر. إن النوع *Culiseta morsitans* ذو الأهمية البيطرية هو الأكثر وفرة في البحيرة و النموذج المستعمل خلال دراستنا.

إن دراسة السمية هو الجانب الثاني الذي تم تنفيذه لأجل اختبار تأثير احد منظّمات نمو الحشرات المتمثل في Methoxyfenozide الميتوكسيفينوزيد المشابه لهرمون الانسلاخ على يرقات الطور الرابع حديثة الانسلاخ

أظهرت النتائج وجود تأثير طردي للتراكيز المستعملة. كما أدى إلى ظهور عدة أنماط مورفولوجية منها الأشكال غير المستدامة كالحالات الوسطية بركة-عذراء ، عذراء بيضاء ، عذراء بنية و حشرة كاملة منسلخة جزئياً.

اجري الجزء الأخير من الدراسة لتقييم تأثير Méthoxyfénozide على العديد من الجوانب الفسيولوجية (الوزن، التحليل الكمي للأبيض ، التطور و التكاثر) .

أظهرت النتائج أن Méthoxyfénozide المستعمل بالتركيز المميت لـ 50٪ من اليرقات في الأعمار مختلفة (0، 2، 4 و 6) أيام يحدث انخفاض معنوي للوزن ، كمية البروتينات ، السكريات و الليبيدات الكلية لليرقات مقارنة بالشاهد مع وجود تأثير أكبر في اليوم الثاني .

إن المعاملة بمشابه هرمون الانسلاخ على يرقات الطور الرابع حديثة الانسلاخ اثر أيضا على مدة التطور العذراء و انسلاخ الحشرة الكاملة للبعوضة و المتضح من خلال إسراع عملية الانسلاخ. و أخيراً، سجلنا على الحشرات الكاملة الناجمة عن المعاملة انخفاض في نسبة الخصوبة و التي تترجم بنسبة عمق 100٪ بعد المعاملة بأعلى تركيز 0.072 ملغ/لتر.

الكلمات المفتاحية: بحيرة الطيور ، البعوض ، *Culiseta morsitans* ، منظّمات نمو الحشرات

Méthoxyfénozide، الأنماط المورفولوجية ، التطور ، التكاثر.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott, W.B. 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J Econ Entom.* 18, 265-267.
- Abd El-Mageed E.N. 2008.** Physiological effects of certain bioagents and an insect growth regulators on the cotton leafworm *Spodoptera littoralis* (Bosid.) (Noctuidae: Lepidoptera). M.Sc. Thesis, Fac. of Agric., Ain Shams Univ.
- Aïssaoui L. and Boudjelida H. 2014.** Larvicidal activity and influence of *Bacillus thuringiensis* (Vectobac G), on longevity and fecundity of mosquito species. *Euro. J. Exp. Bio.* 4 (1), 104- 109.
- Alouani, A., Rehim, N., and Soltani N. 2009.** Larvicidal activity of a Neem tree extract (Azadirachtin) against mosquito larvae in the republic of Algeria. *Jordan J Bio Sci.* 2(1),15-22.
- Alouani, A, Rehim, N. and Soltani N. 2013.** Bioefficacy of Azadirachtin controlling *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae). *Jordan J Bio Sci.* 6(3), 217-222.
- Alrubeai, H.F. and Gorell, T. A.1982.** Electrophoretic analysis of testicular protein components in the developing *Tenebrio molitor*. *Insect. Biochem.* 12, 171-175.
- Amer M.S. 1990.** Effects of the anti-JH synthesis (Mevalonic acid) on the main metabolites of *Spodoptera littoralis*. *Egypt. J. Appl. Sci.* 5(1), 82-91.
- Amira, K. 2014.** Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires et l'effet d'un régulateur de croissance, RH-0345 sur le développement et la reproduction de *Culex pipiens*. Thèse de Doctorat Troisième Cycle, en Biologie Animale Environnementale. Option: Reproduction et développement. Université d'Annaba.
- Aribi, N., Quennedy, A., Soltani ,N. and Delbecque, J.P. 1999.** L'initiation de la métamorphose chez *Zophobas atratus* (Coleoptera : Tenebrionidae) effets des ligatures et des régulateurs de croissance . *Ann.Soc. Entomol. Fr.* (NS35) 59-64.
- Aribi N., Smaghe G., Lakbar S., Soltani-Mazouni N. and Soltani N. 2006.** Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, on development of the mealworm, *Tenebrio molitor*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 84, 55–62.
- Arrese E.L. and Soulages J.L. 2010.** Insect fat body: energy, metabolism, and regulation. *Annu. Rev.Entomol.*,55:207-225.
- Assar A.A., Abo El-Mahasen M.M., Khalil M.E. and Mahmoud S.H. 2010.** Biochemical effects of some insect growth regulators on the house fly, *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). *Egypt Acad. J. Biolog. Sci.* 2(2),33-44.

- Athanassiou, C.G., Arthur F. H. and Throne J. E., 2011.** Efficacy of layer treatment with methoprene for control of *Rhizopertha dominica* (Coleoptera: Bostrychidae) on wheat, rice and maize. *Pest Manag Sci.* 67, 380–384.
- Axtell, R.C., Rutz, D.A. and Edwards, T.D. 1980.** Field tests of insecticides and insect growth regulators for the control of *Culex quinquefasciatus* in anaerobic animal waste lagoons. *Mosquito News.* 40, 36-42.
- Bakr, R.F., Abdel Fattah, H.M. and Mohamed, E.K. 2007.** Effect of chitin synthesis inhibitor, lufenuron on the development, haemolymph and antennal sensilla of *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (Orthoptera: Acrididae). *African J. Biol. Sci.* 3 (2), 35-43.
- Bashkirtsev, V.N., Chumakov M.P. Berezin V.V., Butenko A.M., Zavadova T.I. and Stolbov D.N., 1969.** Isolation of new strains of West Nile virus in Astrakhan region. V Symposium of the study of role of migrating birds in distribution of arboviruses, Novosibirsk, URSS : p. 182.
- Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Madon, M., Dahl, N.C. and Kaiser, A. 2010.** Mosquitoes and Their Control, Second edition. *European Mosquito Bulletin* 28, 246.
- Beckage, N.E., Marion, K.M., Walton, W.E, Wirth, MC, Tan. and F.F. 2004.** Comparative larvicidal toxicities of three ecdysone agonists on the mosquitoes *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus*, and *Anopheles gambiae*. *Arch Insect Biochem physiol.* 83, 115-123.
- Bellés, X. 2005.** Vitellogenesis directed by juvenile hormone. In: *Reproductive Biology of invertebrates*, Vol. 12, Part B: Progress in vitellogenesis, A. S. Raikhel (ed), Science Publishers, Enfield, USA/Plymouth, UK., pp. 157-197.
- Bellés, X., and Maestro, J.L. 2005.** Endocrine peptides and insect reproduction. *Invert. Repro. Develo.* 47 (1), 23-37.
- Bendali-Saoudi F. 1989.** Etude de *Culex pipiens* : Anautogène, Biologie. Lutte (*Bacillus thuringiensis israelensis* serotype H14, *Bacillus sphaericus* 1593 et 2 espèces d'*Hydracariens*). Magister en Biologie Animale. Option Arthropodologie. Université d'Annaba.
- Bendali, F., Djebbar F. and Soltani N. 2001.** Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, 57 (4): 255-265
- Bendali-Saoudi F. 2006.** Etude bioécologique, systématique et biochimique des Culicidae (Diptera : Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte biologique anticulicidienne. Thèse de Doctorat d'Etat en Sciences Naturelles, option Biologie Animale, Département de Biologie, Université d'Annaba .

- Benedict, M.Q., Levine R.S., Hawley, W.A. and Lounibos, L.P. 2007.** Spread of the tiger: Global risk of invasion by the mosquito *Aedes albopictus*. *Vector-Born and Zoonotic Diseases*. 7(1), 76-85.
- Ben Hassine, T., Hammani, S., ELghoul, H. and Ghram, H. 2011.** Detection of circulation of West Nile virus in equine in the north-west of Tunisia. *Bull Soc Patho Exot.* 104,126-271.
- Bentley, M.D., Mac Daniel, I.N., Yatagai, H.P., Lee, H.P. and Maynard, R. 1981.** Oviposition attractants and stimulants of *Aedes triseriatus* (Say) (Diptera: Culicidae). *Environnement Entomol.* 10, 186-189.
- Berchi, S. 2000.** Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutte. Thèse Doctorat es sciences, Université de Constantine. 133p.
- Berezin, V.V. 1971.** Investigation of the ecology of arboviruses in river deltas of the Caspian and Azov Seabasins] translation from Russian by NAMRU3 - T1160. Unpublished Thesis, Moska, SSRR, Inst Polio VirusEntsef Akad Nauk. 37 p.
- Biddinger, D.J. and Hull A. 1999.** Sublethal effects of selected insecticides on the growth and reproduction of a laboratory susceptible strain of tufted apple bud moth (Lepidoptera: Tortricidae). *J Econ Entomol.* 92, 314-324.
- Biddinger, D., Hull, L., Huang, H., McPheron B. and Loyer, M. 2006.** Sublethal effects of chronic exposure to tebufenozide on the development, survival, and reproduction of the tufted apple bud moth (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Econom. Entomol.*, 99, 834-842
- Bouabida, H., Djebar, F. and Soltani, N. 2012.** Etude systématique et écologique des moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique.* 65, 99-103.
- Bouaouina A. 2008.** Inventaire des moustiques de la région de Guelma et évaluation du méthoxyfénazole sur les larves d' *Ochlerotatus nigripis* .L. Thèse de magistère en Biologie et Physiologie Animale. Université d'Annaba
- Bouaziz A., Boudjelida H. and Soltani N. 2011.** Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Annu. Biol. Res.* 2(3), 134-143.
- Bouaziz, A. 2012.** Inventaire et lutte contre les moustiques dans la région semi- aride (Tebessa). Thèse de doctorat Biologie Animale. Université d'Annaba, Département de Biologie.
- Boudemagh, N., Bendali Saoudi, F. and Soltani, N. 2013.** Inventory of Culicidae (Diptera: Nematocera) in the region of Collo (North-East Algeria). *Annals of biological Research.* 4 (3), 1-6.

- Boudjelida, H., Bouaziz A., Thomas S., Smaghe G. and Soltani N. 2005.** Effects of ecdysone agonist halofenozide against *Culex pipiens*. *Pest.Biochem.Physiol.*,83:115-123.
- Bourguet, J.P. and Exbrayat,J.M. 1977.** Quelques aspects de la croissance du développement sexuel du métabolisme chez *P. japonicus*. Influence des facteurs externes. Thèse doctorat de spécialité. Université USTL, Montpellier France. 128p.
- Bouzeraa, H., and Soltani-Mazouni, N. 2012.** Effets du méthoxyfénozide et du tébufénozide sur le développement et quelques paramètres de la reproduction d'*Ephestia kuehniella* après traitement des mâles et des femelles. *Bull. Soc. zool. Fr.* 137(1-4), 157- 167.
- Bouzeraa, H. 2014.** Evaluation de l'impact de deux mimétiques de l'hormone de mue (RH-2485 et RH-5992) sur les gonades mâles d'*Ephestia kuehniella*, un Lépidoptère ravageur des denrées stockées: Aspect structural, biochimique et hormonal. Thèse de doctorat Biologie Animale. Université d'Annaba, Département de Biologie.
- Braquart, C. 1998.** Rôle des ecdystéroïdes et des hormones juvéniles au cours du développement des insectes (Cycle de mue de mue et reproduction). Thèse de Doctorat. Université de Bourgogne. Dijon. France
- Briegel, H. 1985.** Mosquito reproduction, incomplete utilization of the blood meal protein for oogenesis. *J.Insect.physiol.*31,15-21.
- Briegel, H. 2003.** Physiological bases of mosquito ecology. *Journal of Vector Ecology.* 28 (1), 1- 11.
- Brown, A. W. and Pal, R. 1971.** Insecticide résistance in Arthropods. *Public health papers.* 38(0), 1-4.
- Brunhes, J., Rhain, A., Geoffroy, B.,Angel, G. and Hervy, J. P. 1999.** Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche et de développement de Montpellier (France).
- Brunhes, J., Hassain, K. and Hervy, J., 2000.** Les espèces de l'Afrique méditerranéenne : espèces présentes et répartition (Diptera, Nematocera). *Bull. Ent. France.* 105 (2), 195-204.
- Carlson, G.R., Dhadialla, T.S., Hunter, R., Jansson, R.K., Jany, C.S., Lidert, Z. and Slaweki, R.A. 2001.** The chemical and biological properties of methoxyfenozide, a new insecticidal ecdysteroid agonist. *PestManag Sci.* 57, 115–119.
- Carton, B., Smaghe, G. and Tirry, L. 2003.**Toxicity of two ecdysone agonists, halofenozide and methoxyfenozide, against the multicolored Asian lady beetle *Harmonia axyridis* (Col., Coccinellidae). *J Appl Ent.* 127, 240-242.
- Chapman, R.F. 1998.** The insects: structure and function. 4th ed. Cambridge: Cambridge

University Press.

- Charles, J.F., Nielsen-LeRoux, C. 2000.** Mosquitocidal bacterial toxins: Diversity, mode of action and resistance phenomena. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz* .95, 201-206.
- Charrier, H., 1924.** Les moustiques de la région de Tanger. *Bull soc Pathol Exoc.* 17, 570-572.
- Chippendale, G.M. 1970.** Metamorphic changes in fat body proteins of the southwest corn borer, *Diatraea grandiosella*. *J. Insect. Physiol.*, **16** : 1057-1068.
- Christian-Luis, R and Pineda, S., 2010.** Toxicity and sublethal effects of methoxyfenozide on *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) *J. Econom. Entomol.*, 103, 662-667.
- Chui, V.W.D., Koo, C.W. and Lo, W.M. 1993.** Laboratory evaluation of vectobac[®] - 12AS and teflubenzuron against *Culex* and *Aedes* mosquito larvae under different physical conditions. *Environment International*. 9, 193-202.
- Clastrier, J. 1941.** Sur la présence en Algérie d'*Orthopodomya pulcripalpis*. *Rodani. Arch. Inst. Pasteur. Alg.* 19 (4), 443- 446.
- Clements A.N. 1996.** The biology of mosquitoes. London : Chapman and Hall. v. 1.
- Clements, A.N. 2000.** The Biology of Mosquitoes: Development, Nutrition and Reproduction, vol.1. CABI Publishing, New York, N.Y.
- Cornel AJ, Stanich MA, Farley D, Mulligan FS. and Byde G. 2000.** Methoprene tolerance in *Aedes nigromaculis* in Fresno County, California. *J. Am. Mosq Control Assoc.* 16, 223-228.
- Coykendall, R.L. 1980.** Fishes in California mosquito control. C. M. V. C. A. Press, Sacramento, CA: 63p.
- Cusson M.C.G., Carruthers K. Wyatt G. R. Tobe S. S. and Mc Neil J. N., 1994.** Regulation of vitelogenin production in army word moth, *Pseudaletia unipuncta*. *Journal of Insect physiology*. 40, 183-199.
- Daas-Maamcha, O. 2006.** Etude biologique de deux espèces de Myriapodes Chilipodes : *Eupolybothrus nudicornis* et *Lithbius forficatus*. Effets de traitement hormonaux et insecticides sur l'ovogenèse .Thèse de Doctorat. Université d'Annaba. Algérie. 191p.
- Dallaire, R. 2003.** Effets sous-létaux du tébufénozide, un régulateur de croissance d'insectes, sur la communication chimique et le succès reproducteur chez *Choristoneura fumeferana* et *C. rosaceana* (Lepidoptera : Tortricidae). Mémoire pour l'obtention du

grade de maître ès sciences (M.Sc).

Dallaire, R., Labrecque, A., Marcotte, M., Bauce, B. & Delisle, J. 2004. The sublethal effects of tebufenozide on the precopulatory and copulatory activities of *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. Ent. Exp. Appl. 112 (3), 169-181.

Dame, D.A., Lowe, R.E., Wichterman, G.J., Cameron, A.L., Baldwin, K.F., Miller T.W. 1976. Laboratory and field assessment of insect growth regulators for mosquito control. Mosquito News. 36, 462-472.

Dapporto, L., Lambardi D., Turillazzi, S. 2008. Not only cuticular lipids: first evidence of differences between foundresses and their daughters in polar substances in the paper wasp *Polistes dominulus* J. Insect Physiol. 54 (1), 89-95.

Darvas, B., Pap, L., Kelemen, M., Igar L.A. 1998. Synergistic effects of verbulin with dibenzoylhydrazine-type ecdysteroid agonists on larvae of *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). J Econ Entomol. 91(6), 1260-1264.

Davis, R. E., Williams D. R., Turner, P.C., Rees, H. H., 2006. Characterization in relation to development of an ecdysteroid agonist-responsive cytochrome P 450, CYP18A1, in Lepidoptera. Arch. Biochem. Biophys. 453, 2-10.

Degheele, P.1990. Chitin synthesis inhibitors: Effect on cuticle and components. J. Casida (ed). Pesticides and alternatives. pp : 377-388. Elsevier. Amsterdam .

Dhadialla, T.S., Carlson, G.R., Le D.P. 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. Annu. Rev. Entomol. 43, 545- 569.

Dhadialla, T.S, Retnakaran A, Smagghe, G. 2005. Insect growth and development disrupting insecticide. In: Gilbert, LI, Kostas I, Gill S. (Eds) Comprehensive Insect Molecular Science. Pergamon Press, New York, NY. 6, 55-116.

Dhadialla, T.S. & Ross, R. 2007. Bisacylhydrazines: novel chemistry for insect control. In: Modern crop Protection Compounds. W. Kramer & U. Schirmer (eds), Wiley-VCH, Weinheim. 773-796.

Djebbar, F. 2009. Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide et métoxyfénozide) à l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* : toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse Doctorat es sciences, Université d'Annaba. 170p.

Djeghader, N., Boudjelida, H., Bouaziz A. and Soltani N. 2013. Biological effects of a benzoylphenylurea derivative (Novaluron) on larvae of *Culex pipiens* (Diptera:

- Culicidae). Adv. Appl. Sci. Res. 4(4), 449-456.
- Doane, W.W.** 1973. Developmental systems : Insect, S. J. Counce et C.H. Waddington, Academic Press, London. 2, 291 p.
- Duvallet, G., 2002.** Epidémiologie et manifestation chimique de l'infection à virus *West Nile*. Changement climatique et maladies à vecteurs, Nice,-20 novembre 2001, Environnement, Risque et santé, 1 (n° special 1) : S57- 60.
- El Harrack, M., Le Guenno, B., Gounon, P. 1997.** Isolement du virus West Nile au Maroc. *Virologie*. 1, 248-249.
- Engelmann, F. 1979.** Insect vitellogenin identification, biosynthesis and role in vitellogenesis. In : Treherne J. E., Berridge M. J., wigglesworth V. B. (Eds). Advances in insect physiology, New York, academic Press, 49-108.
- Failloux, A.B & Rhodhain, F. 1999.** Apport des études de génétique des populations de moustiques (Diptera: Culicidae) en entomologie médicale. Exemples choisis en Polynésie française. *Annales de la Société Entomologique de France*. 35(1), 1-16.
- Farinos GP, Smaghe G, Tirry L, Castañera P. 1999.** Action and pharmacokinetics of a novel insect growth regulator, halofenozide, in adult beetles of *Aubeonimus mariaefranciscas* and *Leptinotarsa decemlineata*. *Arch Insect Bioch Physiol*. 41, 201-213
- Faulde, M.K., Albiez, G. and Nehring, O. 2010.** Insecticidal , acaricidal and rapellent effects of DEET- and IR3535-impregnated bed nets using a novel long-lasting polymer-coating technique. *Parasitology Research*.106 (4), 957-965).
- Faurie, C., Ferra, C. and Medori, P., 1980.** *Ecologie*. (eds.) Baillièrre J. B., Paris, 1091.
- Finney D J J.1971.** Probit analysis 3rd ed. Cambridge University Press, London and New York;
- Figuerola, J., Baouab, R.E., Soriguer, R., Fassi-Fihri, O., Liorente, F. and Jimenez-Clavero, M.A. 2009.** West Nile Virus Antibodies in Wild Birds, Morocco, 2008. *Emerg Infect Dis*. 15 (10), 1651-1653.
- Gäde, G., Hoffman N.H. and Spring, J.H. 1997.** Hormonal regulation in insects: Facts, Gaps, and Future directions, *J. Physiol. Rev.*77 (4), 263-1032.
- Gäde, G. and Hoffmann K. H., 2005.** Neuropeptides regulating development and reproduction in insects. *Physiol. Entomol*. 30, 103-121.
- Garboudj, M., Bejaoui, M., Aloui, H. and Ben Ghorbal, M. 2003.** La maladie du Nil

- occidental. Bulletin épidémiologique.3, 4-6.
- Gaud J., 1953.** Notes biogéographiques sur les Culicidés du Maroc. Arch. Inst. Pasteur, Maroc 4 (7), 443- 490.
- Gehu, J.M., Kaabeche, M. and Gharzouli, R. 1993.** Phytosociologie et typologie des habitats des rives des lacs de la région d'El Kala. Algérie. Colloque phytosociologique 22.Syntaxonomie typologique des habitats, Bailleul, 289 p.
- Gelbic, I., Adel, M.M. and Hussein, H.M. 2011.** Effect of nonsteroidal ecdysone agonist RH-5992 and chitin biosynthesis inhibitor lufenuron on *Spodoptera littoralis* (Boidival, 1833). Central European Journal of Biology. 6-5.
- Ghidni G.M., 1934.** Contribution alla conescenza dei Culicidi della Libia. Bull. Soc.ent. Italie, LXVI : 31-34.
- Ghoneim K.S. 1994.** Synergistic and antagonistic action of Chlorfluazuron and mevalonic acid against the main body metabolism of the Egyptian cotton leafworm *Spodoptera littoralis* Boisd. (Lepidoptera: Noctuidae). J. Egypt Ger. Soc. Zool. 14(D), 89-115.
- Ghoneim K.S., Hamadah Kh.Sh. and Tanani M.A. 2012.** Protein disturbance in the haemolymph and fat body of the desert locust *Schistocerca gregaria* as a response to certain insect growth regulators.Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci.1,73-83.
- Gilbert L.I., Rybezynski R, and Warren G.T. 2002.** Control and bio-chemical nature of the ecdysteroidogenic pathway. Annu. Revie Entomol. 47, 883-916.
- Gilbert, L. I., and Rewitz, K.F. 2009.** The function and evolution of the halloween genes: the pathway to the arthropod molting hormone. In: Smagghe, G. (Ed.), Ecdysone: Structure and Function, Springer, Netherlands, pp. 231-269.
- Gould, E. A. and Higgs, S. 2009.** Impact of climate change and other factors on emerging arbovirus diseases. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene 103,109-121.
- Gould, E.A., Gallian, P., de Lamballerie, X. and Charel, R.N. 2010.** First cases of autochthonous dengue fever and chikungunya fever in France: from bad dream to reality! Clinical Microbiology and infection. 16(12), 1702-1704.
- Gourmala S, 1991.** Principe et élaboration d'une carte écologique du peuplement à Culicidae (Aedes, Culex, Culiseta) sur la wilaya de Tlemcen (Algérie).
- Gratz, N. G. 1999.** Emerging and resurging vector-born diseases. Annual Review of Entomology. 44,51-75.

- Guillet, P. 2001.** La colonisation de la zone tempérée par des insectes habituellement confinés aux zones tropicales ou subtropicales peut-elle être envisagée et quels sont les risques? Changement climatique: *Fantasma ou Réalité?* Montpellier, France., 4ème assemblée générale EDEN: 46-49.
- Guillomot L., 2006.** Les moustiques et la dengue. Institut Pasteur de la Nouvelle Calédonie *15p.Article*. Site : [http // Encyclopédie entomologique I. Ed. Paul Lechevalier, Paris : 257p](http://Encyclopédie entomologique I. Ed. Paul Lechevalier, Paris : 257p).
- Hamadah, Kh.Sh., Ghoneim K.S. and Tanani M.A. 2012.** Effect of certain insect growth regulators on the lipid content of some tissues of the desert locust *Schistocerca gregaria*. African J. Biochem. Res.6(9), 121-128.
- Hami, M., Taibi ,F., Smagghe,G. and Soltani-Mazouni,N. 2005.** Comparative toxicity of three ecdysone agonist insecticides against the Mediterranean flour moth. Comm. Appl. Biol. Sci Ghent University, 70(4).767-772.
- Hamaidia, K., 2014.** Biodiversité des moustiques de la région de Souk- Ahras et lutte chimique: aspects écologique, morphométrique, biochimique,et toxicologique. Thèse de doctorat en Biologie Animale, Université Badji Mokhtar, Annaba.
- Hassaine, K., 2002.** Bioécologie et biotypologie des Culicidae (Diptera : Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne. Biologie des espèces les plus vulnérantes (*Ae. caspius*, *Ae. detritus*, *Ae. Mariae* et *Cx. Pipiens*) dans la région occidentale algérienne. Thèse Doctorat es sciences, Université de Tlemcen, 191 p.
- Hemingway, J and Ranson, H. 2000.** Insecticide resistance in insect vectors of human disease. Annual Review of Entomology. 45, 371-391.
- Himmi, O., Dakki, M., Trari, B. and Elagbani, M.A. 1995 –** Les Culicidae du Maroc . Clés d'identification avec données biologiques et écologiques. *Trav. Inst. Sci., séries Zool.*, 44, Rabat : 50 p.
- Ishaaya, I., Yablonski, S. and Horowitz, A.R. 1995.** Comparative toxicity of two ecdysteroid agonists, RH-2485 and RH-5992, on susceptible and pyrethroid-resistant strains of the Egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. *Phytoparasitica*, 23: 139-145.
- Jenkins, S.P., Brown, M.R. and Lea, A.O. 1992.** Inactive prothoracic glands in larvae and pupae *Aedes aegypti* ecdysteroid release by tissues in the thorax and abdomen. *Insect. Biochem. Mol. Biol.* 22 (6), 553-559.
- Jia, X.Y., Briese, T., Jordan, I., Rambaut, A., Chi, H.C., Mackenzie, J.S., Hall, R.A., Scherret, J. and Lipkin, W.I. 1999.** Genetic analysis of West Nile New York 1999 encephalitis virus. *Lancet*. 354 (9194), 1971-1972.
- Jones, K.E., Patel, N.G., Levy, M.A., Soreygar, A., Balk, D., Gittleman, J.L. and Daszak,**

- P. 2008.** Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*. **451**:990-993.
- Karch, S., Asidi, N., Manzambi, Z.M. and Salaun, J.J. 1992.** Efficacy of *Bacillus sphaericus* against the malaria vector *Anopheles gambiae* and others mosquitoes in swamps and rice fields in Zaire. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 8(4), 376-380.
- Kamal, H.A. and Khater E. 2010.** The biological effects of the insect growth regulators, pyriproxyfene and diflubenzuron on the mosquito *Aedes aegypti* . *J Egypt Soc Paraitol*. 40, 565-574.
- Kaufmann, C. and Brown M.R. 2008.** Regulation of carbohydrate metabolism and flight performance by a hypertrehalosaemic hormone in the mosquito *Anopheles gambiae*. *J. Insect Physiol*. 54,367-377.
- Kawooya J.K. and Law J.H. 1988.** Uptake of the major hemolymph lipoprotein and its transformation in the insect egg. *J. Biol. Chem*. 263, 8740–8747.
- Kettle, D.S. 1990.** *Medical and veterinary entomology*. CAB International, United Kingdom, 664 pp.
- Khater ,H.F. 2011.** Biorational Insecticides for integrated pest management. *Benha Veterinary Medical Journal*, in press.
- Khebbeb, M.E.H, Gaouaoui, R. and Bendjeddou, F. 2008.** Tebufenozide effects on the reproductive potentials of the Mediterranean flour moth, *Ephestia kuehniella*. *Afr J Biotechno*. 2008. 7(8), 166 -1170.
- Kilani-Morakchi, S., Aribi N., Farine J.P., Smaghe G. and Soltani N. 2009.** Halofenozide affects sexual behaviour, cuticular hydrocarbons and reproduction in the female German cockroach *Blattella germanica* (Dictyoptera, Blattellidae). *Belg. J. Zool.*,139(2). 147-155.
- Knight, AL. 2000.** Tebufenozide targeted against codling moth (Lepidoptera: Tortricidae) adults, eggs, and larvae. *J Econ Entomol*. 93, 1760-1767.
- Kooijman, S. A. L. M. 2000.** *Dynamic Energy and Mass Budgets in Biological Systems*, Cambridge University Press. Cambridge, seconde édition.
- Kumar, A., Sharma, V.P., Thavasvelan, D., Sumodan, P.K., Kamat, R.H., Audi, S.S. and Surve, B.N. 1996.** Control of *Culex quinquefasciatus* with *Bacillus sphaericus* in VascoCity, Goa. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 12(3), 409-419.
- Lakbar, C. 2000.** Effets de deux régulateurs de croissance, le RH-0345 et le pyriproxyfene sur le développement de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) Magistère en Développement et Reproduction. Université d'Annaba. Algérie.

- Lafont, R., Dauphin-Villemant, C., Warren, J.T., and Rees, H. 2005.** Ecdysterchemistry and biochemistry. In *Comprehensive Molecular Insect Science*, L.I., Gilbert, K. Iatrou & S.K. Gill, eds, Volume 3, Elsevier, Oxford, pp. 125-195.
- Lamy, M. 1969.** Etude électrophorétique des protéines de l'hémolymphe chez les lépidoptères. Thèse Doc. Nat. Fac. Sc. Bordeaux. 151p.
- Le . Guenno, B., Bouguermouh, A., Azzam, T. and Bouakaz R. 1996.** West Nile : a deadly virus ? *The Lancet*, 348, 1315.
- Leonardi, M.G., Marciani P., Montorfono, P.G., Cappellozza, S., Giordana, B. and Monticalli, G. 2001.** Effects of fenoxycarb on leucine uptake and lipid composition of midgut brush border membrane in the silkworm, *Bombyx moryi* (Lepidoptera: Bombycidae). *Pest. Biochem. Physiol.* 70 (1), 42-51.
- Lim, J.L. and Yap H.H. 1996.** Induction of wing twisting abnormalities and sterility on German cockroaches (Diptera: Blattellidae) by a juvenoid pyriproxyfen. *J. Econ. Entomol.* 89: 1161–1165.
- Loubinos, L.P. and Conn, J.E. 2000.** Malaria vector heterogeneity in south America. *American Entomologist.* 46(4), 238-249.
- Lounaci, Z. 2003.** Biosystématique et bioécologie des Culicidae (Diptera: Nematocera) en milieux rural et agricole. *Thèse de Magister*, INA. El Harrach, pp.107.
- Luna, G. K., Robinson V.A., Martínez, A. M., Schneider, M. I., Figueroa, J.I. Smagghe, G., Viñuela E., Budia F. and Pineda S. 2011.** Long-Term Effects of Methoxyfenozide on the Adult Reproductive Processes and Longevity of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) *J. Econ. Entomol.* 104(4), 1229-1235.
- Marquardt, W.C. 2005.** Biology of disease vectors, second edition. *Clin. Infect. Dis.*, 41 (11), 1692-1693.
- Marron, M.T., Markow, T.A., Kain, K.J. and Gibbs, A. G. 2003.** Effects of starvation and desiccation on energy metabolism in desert and mesic *Drosophila*. *Journal of Insect Physiology.* 49 (3), 261-270.
- Messai, N., Berchi, S., Boulknafd. F and Louadi, K. 2010.** Inventaire Systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera: Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). *Entomologie faunistique.* 63 (3), 203-206.
- Metge, G., and Hassaine K. 1998.** Study of the environmental factors associated with oviposition by *Aedes detretus* along a transect in Algeria. *J., AMCA.* 14(3), 213-244.
- Mian, L.M. and Mulla, M.S. 1982.** Biological and environmental dynamics of insect growth

- regulators (IGRs) as used against Diptera of public health importance. *Residue Rev.* 84, 28-112.
- Morrens, D.M., Folkers, G.K. and Fauci, A.S. 2004.** The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature.* 430, 242-249.
- Morris, C.D., Zimmerman, R.H. and Magnareli, L.A. 1976.** The bionomics of *Culiseta melanura* and *Culiseta morsitans* dyari in Central New York State (Diptera: Culicidae). *Ann. Entomol. Soc. Amer.* 69, 101-105.
- Moulton, K., A. Pepper, K., Jansson, J. and Dennehy.2002.** Pro-active management of beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the tebufenozide and methoxyfenozide baseline monitoring, risk assessment, and isolation of resistance. *J. Econ. Entomol* 95,414- 424.
- Mulla, M.S. and Darwazeh, H.A 1975.** The IGR (Dimilin[®]) and its formulations against mosquitoes. *J.Econ. Entomol.* 69: 309-312.
- Murgue, B., Murri, S., Triki, H., Deubel, V. and Zeller H.G., 2001.** West Nile in the Mediterranean basin :1950-2000. *Ann N Y Acad Sci.* 951, 117-26.
- Nasr H.M., Badawy M.E.I. and Rabea E.I. 2010.** Toxicity and biochemical study of two insect growth regulators, buprofezin and pyriproxyfen, on cotton leafworm *Spodoptera littoralis*. *Pest.Biochemist.Physiol.* 99,198–205.
- Nielsen-Leroux, C., Pasteur, N., Pretre, J., Charles, J. F., Ben Sheikh, H. and Chevillon, C., 2002.** High resistance to *Bacillus sphaericus* binary toxin in *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae): The complex situation of west Mediterranean countries. *Journal of Medical Entomology.* 39(5), 729-735.
- Nijhout, H.F. 1994.** *Insect Hormones.* In: Princeton University Press, New jersey, USA.
- Novoseltsev, V.N., J.A., N. and Yashin, A. I. 2003.** What does a fly's individual fecundity pattern look like? The dynamics of resource allocation in reproduction and ageing. *Mechanisms of Ageing and Development.* 124, 605-617.
- Nowosielski, J.W. and Patton, R.L. 1965.** Variation in the hemolymph protein, aminoacid, and lipide levels in adult house crickets, *Acheta domesticus* L., of different ages. *J.insect Physiol.* 11, 263-270.
- Oberlander,H., Silhacek, D.L. and Leach, C.E. 1998.** Interaction of ecdysteroid and juvenoid agonist in *Plodia interpunctella* (Hübner). *Arch.Insect. Biochem. Physiol.*38, 91-99.

- O.M.S. 2002.** Utilisation d'emploi des pesticides ; vingtième rapport du Comité O.M.S. d'Experts des insecticides, Org. Mond. Santé, sér. Rapport techn., 513.
- O.M.S.2005.** Mosquitoe borne diseases. National Center for infectious Diseases, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia.
- O.M.S. 2009.** World Malaria Report 2009. Organisme Mondial de la Santé, Geneva.
- Osorio A., Martinez A.M., Schneider M.I., Diaz O., Corrales J.L., Avile's M.C., Smagghe G. and Pineda S. 2008.** Monitoring of beet armyworm resistance to spinosad and methoxyfenozide in Mexico. *Pest Manag. Sci.* 64,1001-1007.
- Padmaje, P.G. & Rao, P.J. 2000.** Effect of plant oils on haemolymph proteins of final instar larvae of *Helicoverpa armigera* Hubner. *Entomol.* 25 (2), 107-115.
- Pates, H. & Curtis, C. (2005).** Mosquito Behavior and Vector Control. *Annual Review of Entomology.* 50, 53–70.
- Patz, J.A., Epstein, P.R., Burke, T.A. and Balbus, J.M. 1996.** Global climate change and emerging infectious diseases. *Jama-Journal of the American Medical Association.* 275(3), 305-309.
- Paul, A., Harigton, L.C., and Scott, JG. 2006.** Evaluation of novel insecticides for control dengue vector *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *J .Med. Entomol.* 43, 55-60.
- Petersen, L.R and Hayes, E.B. 2004.** Westward ho? The spread of West Nile virus. *New England Journal of Medicine.* 351(22), 2257-2259.
- Pineda, S., Smagghe, G., Schneider, M.I., Del Estal, P., Viñuela, E, Martinez A.M., Budia F. 2006.** Toxicity and pharmacokinetics of spinosad and methoxyfenozide to *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ Entomol.* 35, 856-864.
- Pineda, S., Schneider, M.I., Smagghe, G., Martínez, A.M., Del Estal, P., Viñuela, E. ,Valle, J. and Budia, F. 2007.** Lethal and sublethal effects of methoxyfenozide and spinosad on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Econ Entomol.* 100,773-780.
- Pineda S., Martinez A.M., Figueroa J.I., Schneider M.I., Del Estal P., Vinuela E., Gomez B., Smagghe G., Valle J. and Budia F. 2009.** Influence of azadirachtin and methoxyfenozide on life parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 102,1490-1496.
- Pineda, S., Martinez, A.M., Shneider, M.I., Figueroa, J.A., and Zaleta, O. 2011.** Los agonistas de la hormona de la muda de los insectos: Una nueva clase de regulado del

crecimiento de los insectos. Folia Entomologica Mexicana (in press).

Poupardin, R., Reynaud, S., Strode, C, Ranson., H, Vontas, J and David., JP. 2008. Cross-induction of detoxification genes by environmental xenobiotics and insecticides in the mosquito *Aedes aegypti*: impact on larval tolerance to chemical insecticides. *Insect Biochem Mol Biol* 38: 540-51.

Poupardin, R., Riaz, M.A., Jones, C.M., Chandor-Proust, A., Reynaud, S. and David, J.P. 2012. Do pollutants affect insecticide-driven gene selection in mosquitoes? Experimental evidence from transcriptomics. *Aquatic toxicology*. 114-115, 49-57.

Ramaswamy, S.B. and Cohen, N.E. 1992. Ecdysone: an inhibitor of receptivity in the moth, *Heliothis virescens*. *Naturwissenschaften*. 79, 29-31.

Regis, L., Silva-Fiha, M.H., Nielsen-LeRoux, C. and Charles, J.F. 2001. Bacteriological larvicides of dipteran disease vectors. *Trend sin Parasitology*.17(8), 377-380.

Rehimi, N., 1993. Effet de trois inhibiteurs de la synthèse de la chitine (Dart, Andalin et Alsystine) à l'égard des larves de moustiques *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae): Activité biologique, types morphologiques, sécrétion cuticulaire et durée de développement. Thèse de Magister en Biologie Animale. Arthropodologie. Université d'Annaba.

Rehimi, N. and Soltani N. 1999. Laboratory evaluation of Andalin a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens pipiens* L. (Diptera: Culicidae): Effects on development and cuticle secretion. *J Appl Entomol*. 123, 437- 441.

Rehimi, N. 2004. Etude de la reproduction chez *Culex pipiens pipiens*. Aspects: morphologique, éthologique, et physiologique. Effets de quelque inhibiteur du développement sur quelque paramètre biologiques. Thèse de doctorat d'état en sciences naturelles, mention biologie Animale. Université d'Annaba Algérie.

Rehimi, N., Alouani, A. and Soltani N. 2011. Efficacy of Azadirachtin against Mosquito Larvae *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) under laboratory conditions. *European J Sci Res*. 57(2), 223-229.

Reid, B.L., Brock, V.L. and Bennet, G.W.1994. Development, morphogenetic and reproductive effect of four polycyclic non-isoprenoid juvenoids in the German cockroach (Diptera: Blattellidae). *J.Entomol.Sci*. 29, 31-42.

Reim, C., Teuschl, Y., Blanckenhorn. and W.U. 2006. Size-dependent effects of larval and adult food availability on reproductive energy allocation in the Yellow Dung Fly. *Functional Ecology*. 20 (6), 1012-1021.

- Retnakaran, A., Hiruma, K., Palli, S.R. and Riddiford, L.M. 1995.** Molecular analysis of the mode of action of RH-5992, a lepidopteran-specific, non-steroidal ecdysteroid agonist. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 25, 109-117.
- Retnakaran, A., Dhadialla, T. S. and Smagghe, G. 2005.** Insect Growth- and development-disrupting insecticides. Article number: NSCT: 00076.
- Resh, V.H . and Cardé R. T. 2003.** The Encyclopedia of Insects. Academic Press.
- Reshma, J., Rashmi P.A. and Linu, M. 2013.** Biological Effects of Ecdysteroids and Their Non Steroidal Agonist Bisacylhydrazines. A review.
- Rhodhain, F. and Perez C., 1985.** Précis d'entomologie médical et vétérinaire. Malowe S. A. Editeur 27 Rue d'école de médecine 75006. Paris.
- Riaz, M. A., Poupardin, R., Reynaud, S., Strode, C., Ranson, H. and David, J.P. 2009.** Impact of glyphosate and benzo[a]pyrene on the tolerance of mosquito larvae to chemical insecticides. Role of detoxification genes in response to xenobiotics. *Aquatic Toxicology.* 93 (1), 61-69.
- Riddiford, L.M. 1996.** Molecular aspects of juvenile hormone action in insect metamorphosis. In: Gilbert L.I., Tata J.R. and Atkinson B.G. (eds): *Metamorphosis.* Academic Press, Inc. 6,223-243.
- Riddiford, LM., Cherbas, P .and Truman, J.W., 2000.** Ecdysone receptors and their biological actions. *Vitamins and Applications.* 60,1-73.
- Robker R L., Akison L K., Bennett B D., Thrupp P N., Chura L R., Russell D L., Lane M. and Norman R J., (2009).** Obese women exhibit differences in ovarian metabolites, hormones, and gene expression compared with moderate-weight women. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* 94(5): 1533-1540.
- Rodriguez, L.M., Ottea, J.A. and Reagan, T.E. 2001.** Selection, egg viability and fecundity of the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) with tebufenozide. *J. Econo Entomol.* 94, 1553-1555.
- Rodriguez-Ortega M.J., Grosvik B.E., Rodriguezariza A., Goksoyr A. and Lopez Barea J. 2003.** Changes in protein expression profiles in bivalve molluscs (*Chamaeleagallina*) exposed to four model environmental pollutants. *Proteomics.* 3, 1535–1543.
- Rodriguez Enriquez, C.L., Pineda, S., Figueroa, J.I., Schneider, M.I. and Martinez, A.M. 2010.** Toxicity and sublethal effects of methoxyfenozide on *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 103(3), 662-667.
- Rouibi, A. 2002 .** Evaluation d'un mimétique des écdystéroïdes (RH-0345) sur *Blattella*

- germanica* (Dictyoptera : Blattellidae) : aspects morphométrique et biochimiques. Magistère en Physiologie Animale, Option : Ecotoxicologie, Univ. Annaba, Algérie.
- Sáen-de-Cabezón, I.F.J., Marco, V., Zalom, F.G. and Perez-Moreno, I. 2005.** Effects on methoxyfenozide on *Lobesia botrana* Den & Schiff (Lepidoptera: Tortricidae) egg, larval and adult stages. Pest management Science. 61(11),1133-1137.
- Samraoui, B., De Belair, G. and Benyacoub, S. 1992.** A Much-threatened Lake: Lac des Oiseaux in Noortheastern Algeria. Environmental conservation.19 (3): 264 -267.
- Sawabe, K. and Moribayashi, A. 2000.** Lipid utilization for ovarian development in an autogenous mosquito, *Culex pipiens molestus* (Diptera : Culicidae). Journal of Medical Entomology,.37 (5), 726-731.
- Schaffner F., 1992.** Les moustiques de Haute-Alsace. 1. Systematique. Thèse DRS, Conseil Général du Haut-Rhin. 295 p.
- Schaffner F., Angel G., Geoffroy B., Hevry J.P., Rhaiem A. and Brunhes J., 2001.** Moustiques d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification.
- Schneider, M.I, Smagghe, G., Pineda, S. and Vinuela, E. 2008.** The ecological impact of four IGR insecticides in adults of *Hyposoter didymator* (Hymenoptera: Icheumonidae) pharmacokinetics approach. Ecotox. 17, 181-188.
- Schuffenecker, I., Peyrefitte, C.N., EL Harrak, M., Murri, S., Leblond, A. and Zeller H.G. 2005.** West Nile Virus in Morocco,2003. *Emerging infectious diseases*. 11, 306-309.
- Seguy, E. 1924.** Les Culicidés de l'Afrique mineure, de l'Egypte et de la syrie. Encyclopedie entomologique I.Ed. Paul Lechevalier, Paris: 257p.
- Seguy, E. 1949.** La vie des mouches et des moustiques. (eds)P. Lechevalier. Paris, 252p.
- Selmane-Meskache, R. 2014.** Impact des mimétiques de l'hormone de mue (RH-5849, RH-5992, RH-0345 et RH-2485) sur la reproduction d'un modèle de laboratoire *Ephestia kuehniella* (Lépidoptère: Pyralidé) après traitement des mâles. Thèse de doctorat Biologie Animale. Université d'Annaba, Département de Biologie.
- Senevet, G. and Prunelle M., 1928.** Larves de Culicidés recueillies en Algérie et en Tunisie par M.H Gauthier. Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord. 19, 94-99
- Senevet, G. and Anderelli, L. 1954.** Présence d'*Aedes punctator* en Algérie. Arch.Inst. Pasteur. Algérie. 32, 309.
- Senevet, G. and Anderelli, L. 1956.** Les *Anopopheles* de l'Afrique du Nord et du bassin méditerranéen .Encycl.Entomol. Lechevalier.Paris. (ed.). 33, 280 p.

- Shahout, H.A., XU, J.X., Qiao, J. and Jia., Q.D. 2011.** Sublethal Effects of Methoxyfenozide, in comparison to Chlorfluazuron and Beta-Cypermethrin, on the Reproductive Characteristics of common cutworm *Spodoptera litura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Entomol. Res. Soc.*, 13(3), 53-63.
- Sieber, K. and Benz, G. 1978.** The influence of juvenile hormone of the feeding behavior of last instar larvae of the codling moth *Laspeyresia pomonella* (Lep:Tortricidae) reared under different photoperiods . *Experientia*. 34, 1647-1650.
- Smaghe, G. and Degheele, D. 1994.** Action of a novel nonsteroidal ecdysteroid mimic, tebufenozide (RH- 5992), on insects of different orders. *Journal of Pesticide Science*. 42, 5-92.
- Smaghe, G., Vinuela, E., Budia, F. and Degheele, D. 1996 a.** *In vivo* and *in vitro* effects of the nonsteroidal ecdysteroid agonist tebufenozide on cuticle formation in *Spodoptera exigua*: an ultrastructural approach. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 32, 121-134.
- Smaghe, G. and Degheele, D. 1996 b.** Tebufenozide: Effects of a non steroidal ecdysone agonist on cuticle formation in Indian meal moth, *Plodia interpunctella* larvae. *Parasitica*. 52, 143-151.
- Smaghe, G., Vinuela, E., Van Limbergen, H., Budia, F., Tirry, L. 1999.** Nonsteroidal moulting hormone agonists: Effects on protein synthesis and cuticle formation in Colorado beetle larvae. *Entomol. Exp. App.* 93, 1-8.
- Smaghe, G., Carton, B., Heirman, A. and Tirry, L. 2000.** Toxicity of four dibenzoylhydrazine Correlates with Evagination–Induction in the Cotton Leafworm. *Pesticide Biochemistry and Physiology*. 68, 49-58.
- Smaghe, G., Braeckman P., Huys N. and Rees H. 2003.** Cultured mosquito cells *Aedes albopictus* C6/36 (Dip., Culicidae) responsive to 20-hydroxyecdysone and non-steroidal ecdysone agonists, *J. Appl. Entomol.* 127, 167–173.
- Smaghe, G., L.E. Gomez. and T.S. Dhadialla, 2012.** Bisacylhydrazine insecticides for selective pest control. *Advances in Insect Physiology*. 43 Burlington: Academic Press. 43, 163-249.
- Smith, A .G . 2000.** HOW toxic is DDT, *lancet* 356, 267-268.
- Soin T., Geyter E.D., Mosallanejad H., Iga M. Martín D., Ozaki S., Kitsuda S., Harada T., Miyagawa H., Stefanou D., Kotzia G., Efrose R., Labropoulou, V., Geelen D., Iatrou K., Nakagawa Y., Janssen C. R., Smaghe G. and Swevers L., 2010.** Assessment of species specificity of moulting accelerating compounds in Lepidoptera: comparison of activity between *Bombyx mori* and *Spodoptera littoralis* by in vitro reporter and in vivo toxicity assays. *Pest. Manag. Sci.* 66, 526–535.
- Soltani, N., Soltani -Mazouni, N., Quenedey, B. and Delachambre, J. 1996.** Protein synthesis in developing ovaries of meal worm under *in vivo* and *in vitro* condition: Effects

- of diflubenzuron J. Stored. Prod .Res. 32(3), 205-212.
- Soltani, N., Amrani, L., Soltani-Mazouni, N. and Smagghe, G. 1999.** Evaluation of the ecdysteroid agonist RH-0345 in Mealworms: analysis of ovarian proteins and structure of follicle. Med.Fac.Landbouww.Univ. Gent. 64, 279-285.
- Soltani, N., Aribi, N., Berghiche, H., Lakbar, S. and Smagghe, G. 2002.** Activity of RH-0345 on ecdysteroid production and secretion in *Tenebrio molitor* pupae *in vivo* and *in vitro*. Pestic. Biochem. Physiol, 72 ,83-90.
- Soltani-Mazouni, N., Hami, M. and Gramdi, H. 2012.** Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller. Inv. Rep. Dev. 56 (2). 157-163.
- Spindler, S.R., Ortiz, I., Fung, S., Takashima, S. and Hartenstein, V. 2009.** Drosophila cortex and neuropile glia influence secondary axon tract growth, pathfinding, and fasciculation in the developing larval brain. Dev. Biol. 334(2), 355-368.
- Suaya, J.A., Shepard, D.S., Siqueira, J.B., Martelli, C.T., Tan, L.H., Kongsin, S., Jiamton, S., Garrido, F., Montoya, R., Armien, B., Huy, R., Castillo, L., Caram, M., Sah, B.K., Sughayyar, R., Tyo, K.R. and Halstead, S.B. 2009.** Cost of Dengue Cases in Eight Countries in the Americas and Asia: A Prospective Study. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene. 80,846-855.
- Sugumaran, M. 2010.** Chemistry of cuticular sclerotization. Advances in insect Physiol., 39, 151-209.
- Sun, X., Barrett, B.A. and Biddinger, D.J. 2000.** Fecundity and fertility reductions in adult leafrollers exposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonist tebufenozide and methoxyfenozide. Entomol. Exp. Appl. 94, 75-83.
- Sun X., Song Q. and Barrett B.A. 2003.** Effect of ecdysone agonist on vitellogenesis and the expression of EcR and USP in codling moth *Cydia pomonella*. Arch. Insect Biochem. Physiol. 52, 115-129.
- Sundaram, M., Palli, S.R., Smagghe, G., Ishaaya, I., Feng, Q.I, Primavera, M., Tomkin, S, P.J., Krell, W.L. and Retnakaran, A. 2002.** Effect of RH-5992 on adult development in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. Insect Biochem. Mol. Biol. 32, 225-231.
- Swaroop S, Gilroy AB Uemura K. 1996.** Statistical methods in malaria eradication.
- Sawabe, K. & Mogi, M. 1999.** Differences in energy metabolism and adult desiccation resistance among three *Aedes* (Stegomyia) species (Diptera : Culicidae) from South Sulawesi, Indonesia. Journal of Medical Entomology, 36 (1), 101-107.
- Swevers, L. & Iatrou, K. 1999.** The ecdysone agonist tebufenozide (RH- 5992) blocks the progression into the ecdysteroid-induced regulatory cascade and arrests silkworm oogenesis

- and midvitellogenesis. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 29, 955-963.
- Swevers L. & Iatrou K. 2003.** The ecdysone regulatory cascade and ovarian development in lepidopteran insects: insights from the silkworm paradigm. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 33, 1285-1297.
- Taibi F, Smaghe G, Amrani L, Soltani-Mazouni N. 2003.** Effect of ecdysone agonist RH-0345 reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*. *Comp Biochem Physiol.* 135, 257-267.
- Takken, W & Knols, B.G.J. 2007.** Emerging pests and vector-borne diseases in Europe. *Wageningen Academic Publishers edn.* Wageningen, the Netherlands.
- Tassou, K.T & Schultz R. 2013.** Low field- relevant tebufenozide concentrations affect reproduction in *Chironomus riparius* (Diptera: Chironomidae) in long term toxicity test. *Envir Sci Pollut Res.* 20(6), 3735-3742.
- Thai, K.T.D & Anders, K.L. 2011.** The role of climate variability and change in the transmission dynamics and geographic distribution of dengue. *Experimental Biology and Medicine.* 236(8), 944-954.
- Thompson, B.H. & Adams, B.G. 1979.** Laboratory and field trials using Altosid[®] insect growth regulators against black flies (Diptera: Simuliidae) of Newfoundland, Canada. *J Med Entomol.* 16, 536-546.
- Timmermann S.E. & Briegel H. 1999.** Larval growth and biosynthesis of reserves in mosquitoes. *J. Insect. Physiol.* 45, 461-470.
- Tolle, M. 2009.** Mosquito-borne diseases. *Curr Probl Pediatr Adolesc Care.* 39, 97-140.
- Topozada, A., Abdallah S, El defrawi M.E. 1966.** Chemosterilization of larvae and adults of the Egyptian cotton leafworm *Prodenia litura*, by Apholate, Metepa, and Tepa. *J. Econo Entomol.* 59(4), 1125- 1128.
- Trari B., 1991.** Culicidae (Diptera) : Catalogue raisonné des peuplements du Maroc et études typologiques de quelques gîtes du Gharb et de leurs communautés larvaires. Thèse 3^{ème} Cycle. Univ. Mohammed v, Rabat : 209 p.
- Troy S., Anderson W.A. and Spielman A. 1975.** Lipid content of maturing ovaries of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Comp. Biochem. Physiol.* 50 (B), 457-461.
- Triki, H., Murri, S., Le. Guenno, B., Bahri, O., Hili, K., Sidhom, M. and Dellagui, K. 2001.** West Nile viral meningo-encephalitis in Tunisia. *Medecine Tropicale.* 61, 487-490.
- Trisyono, A. and Chippendale, M., 1997.** Effect of the nonsteroidal ecdysone agonists,

- methoxyfenozide, and tebufenozide, on the European corn borer (Lepidoptera: Pyralidae). *J. Econom. Entomol.* 90, 1486-1492.
- Truman, J.W. and Riddiford, L.M., 2007.** The morphostatic actions of juvenile hormone. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 37, 761-770.
- Turell, M.J., 1989.** Effects of environmental temperature on the vector Competence of *Aedes fowleri* rift valley, fever virus research in *Virology*. 140, 147-54.
- Venkatesan, M. and Rasgon, J.L. 2010.** Population genetic data suggest a role for mosquito-mediated dispersal of West Nile virus across the western United States. *Molecular Ecology*. 19(8), 1573-1584.
- Vinuela, E., Budia F. and Pineda S. 2011.** Long-Term Effects of Methoxyfenozide on the Adult Reproductive Processes and Longevity of *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.* 104(4), 1229-1235.
- Weaver, S.C. and Reisen, W.K. 2010.** Present and future arboviral threats. *Antiviral Research*. 85(2), 328-345
- WHO.2004.** Deaths from vector-borndisease.<http://www.who.int/heli/risks/vectors/en/vbdmap.pdf> (Accessed 25/04/2012.)
- Williams, C.M. 1956.** The juvenile hormone of insects. *Nature*. 178, 212-213.
- Williams, D. R., Fisher, M. J., Smagghe, G. and Rees, H. H. 2002.** Species specificity of changes in ecdysteroid metabolism in response to ecdysteroid agonist. *Pest. Biochem. Physiol.* 72, 91-99.
- Wood, D.M., Dang, P.T. and Ellis, R.A. 1979 .** The insects and Archnids of Canada «part 6» (The mosquitoes of Canada. Diptera : Culicidae) . Publication 1686. Agriculture Canada. 390 p.
- Work T.H., Hurlbut H.S. and Taylor .M. 1953.** Isolation of West Nile virus from hooded crow and rockpigeon in the Nile delta. *Proc Soc Exp Biol Med.* 84 (3), 719-22.
- Yamashita, O. and Suzuki, K.1991.** Morphogenetic hormones of arthropods. Vol 3. Rutgers University Press New Jersey. pp 81-128.
- Yuan, Z.M., Zhang, Y.M., Cai, Q.X. and Liu, E.Y. 2000.** High level field resistance to *Bacillus sphaericus* C3-41 in *Culex quinquefasciatus* from Southern China. *Biocontrol Science and Technology*. 10 (1), 41-49.
- Zarate, N, Díaz O, Martínez AM, Figueroa J, Schneider MI, Smagghe G, Viñuela E, Budia F. and Pineda S. 2011.** Lethal and sublethal effects of methoxyfenozide on the development, survival and reproduction of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.

E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). *Neotrop Entomol.* 40(1), 129-137.

Zhou G. and Miesfeld R.L. 2009. Energy metabolism during diapause in *Culex pipiens* mosquitoes. *J. Insect Physiol.* 55,40-46.

ANNEXE

* **Publication:**

1. Jaouida HAOUARI- ABDERRAHIM & Nassima REHIMI. Biological and Reproduction Activities of Mosquito Larvae of *Culiseta morsitans* (Theobald) after Treatment by Ecdysone Agonist Methoxyfenozide. Annual Research & Review in Biology. 4(24): 4152-4165 2014.

***Communications**

Communications internationales :

1. Jaouida ABDERRAHIM & Nassima REHIMI. Contribution à l'étude du Peuplement Culicidien au niveau du lac des Oiseaux (El-Tarf, Algérie). Colloque International de Biologie Environnementale. Skikda, Algérie, 2009.

2. Jaouida ABDERRAHIM & Nassima REHIMI. Abondance et Biodiversité de la faune culicidienne du Lac des Oiseaux (Wilaya d'El-Tarf). 1^{er} Congrès Méditerranéen Biodiversité Animale et Ecologie de la Santé. Annaba, Algérie, 2011.

3. Jaouida HAOUARI- ABDERRAHIM & Nassima REHIMI. Effet d'un analogue de l'hormone de mue (RH-2485) sur la croissance et sur la composition biochimique de *Culiseta morsitans* : 3^e Congrès Franco-Maghrébin de Zoologie et d'Ichtyologie. Marrakech(Maroc) du 06 au 10 Novembre 2012.