



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



التعليم  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسنطينة  
كلية الطبيعة الحياة

**Département : Biologie Animale. : بيولوجيا الحيوان**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : *Toxicologie et Santé***

Intitulé :

---

**Etude de l'impact biologique et toxicologique de 3 types de Biopesticides :  
Azadirachtine, Spinosad et *Bacillus thuringiensis* sur les insectes.**

---

**Présenté et soutenu par : Mlle Benkobi Rym  
Mlle Meghezi Narimene**

**Le : 05 /06/2016**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury : Mme Amedah Souad (Pr- UFM Constantine).**

**Rapporteur : Mme Benchaâbane Samia (MAA- UFM Constantine).**

**Examineurs : M<sup>r</sup> Benrebai Mouad (MCA- UFM Constantine).**

**M<sup>r</sup> Boukandoul Ramzi (MAA- UFM Constantine).**

*Année universitaire  
2015 - 2016*

## Remerciements

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer tous nos remerciements à **DIEU** toutpuissant, qui en son nom et avec sa protection, nous avons réussi à réaliser ce travail.*

*Nos profonds remerciements vont **Mme Benchaâbane Samia** qui a accepté d'encadrer notre travail pour tout le temps qu'elle nous a consacré, ses directives précieuses, et pour la qualité de son suivi durant toute la période de notre mémoire.*

*Je remercie infiniment **Mme Amedah Souad (Pr- UFM Constantine)**, de me faire l'honneur de juger ce travail en étant membre de ce jury.*

*Mes remerciements vont également à monsieur **Benrebai Mouad (MC- UFM Constantine)** pour avoir accepté de faire partie de ce jury et de juger ce travail.*

*Je tiens également à remercier monsieur **Boukandoul Ramzi (MAA- UFM Constantine)** d'avoir pris de son temps et d'accepter de juger ce travail.*

*Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions jusqu'à l'obtention du diplôme de Master.*

*Nos remerciements vont enfin à nos très chères parents, qui ont toujours été là pour nous, « Vous avez tout sacrifié pour vos enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Vous avez donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance. Nous sommes redevables d'une éducation dont nous sommes fiers ».*

## *Dédicace*

Au nom de dieu miséricordieux

J'aimerais en premier lieu remercier mon dieu Allah, l'unique, le tout puissant et le sachant, qui m'a donné la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail.

A ma très chère mère

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours.

Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, tu as toujours été présente à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour toi, reçoit ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.

Mes chers frères « rida ,ramzi et mohsen » et ma très chère sœur « sara ».

Sans oublier mes très chères sœur et amies « nihed et Ferdaous » et mes fidèles

Amis « narimen .omeima. mimi et nounou , kami et chirine »

**Benkobbi rym**

# Dédicace

Au nom de dieu miséricordieux

*J'aimerais en premier lieu remercier mon dieu Allah, l'unique, le tout puissant et le sachant, qui m'a donné la volonté et le courage pour la réalisation de ce travail.*

*A mon grand-mère et mes très chers parents*

*Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour vous. Vous m'avez comblé avec votre tendresse et affection tout au long de mon parcours.*

*Vous n'avez cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, vous avez toujours été présentes à mes côtés pour me consoler quand il fallait. En ce jour mémorable, pour moi ainsi que pour vous, recevez ce travail en signe de ma vive reconnaissance et ma profonde estime. Puisse le tout puissant vous donner santé, bonheur et longue vie afin que je puisse vous combler à mon tour.*

*A mon très cher oncle «kamel » et sa femme*

*A mes chères tantes «karima,souad,sousou,leila»*

*A mes chers cousins et frères « mohamed,ramy,houssem,iyad,imad ,louay,chakib,oussama,aiimen,fares,iheb» et mes très chère sœur et cousine « lina ,lamis,rayene,maram,malekibtihel,shiraz,rimass,loudjayne,lama ».*

**Meghezzi narimene**

## LISTE DES ABREVIATIONS

FAO	l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
PIPs	<i>Plant Incorporated-Protectants</i>
SDN	Les Stimulateurs des Défenses Naturelles des plantes
BABA	-amino butyrique
IPM	programmes intégrés de la gestion des parasites
Cry	Cristal
µm	Micromètre
SP	spore
PB	Protein Body
GPI	glycosyl-phosphatidylinositol
VIPS	protéines insecticides végétales
20E	20- hydroxyecdysone
JH	Hormone juvénile
Pp	Prépupes
PTTH	Hormone prothoracicotropique

## Liste de Tableaux

<i>N</i>	<i>Titres</i>	<i>Page</i>
<b>1</b>	Pourcentage de répulsion selon Mc Donald et al. (1970)	<b>24</b>
<b>2</b>	Effet insecticide de l'huile essentielle de laurier <i>Laurusnobilis</i> , administrée par inhalation, sur la période du développement nymphal (jours) chez <i>Ephestiakuehniella</i> ( $m \pm s$ , n= 4 répétitions)	<b>30</b>
<b>3</b>	Effet insecticide de l'huile essentielle de laurier <i>Laurusnobilis</i> , administrée par inhalation, sur la période de préoviposition (jours), chez <i>Ephestiakuehniella</i> ( $m \pm s$ , n= 4 répétitions)	<b>31</b>
<b>4</b>	Effet insecticide de l'huile essentielle de laurier <i>Laurusnobilis</i> , administrée par inhalation, sur la période d'oviposition (jours), chez <i>Ephestiakuehniella</i> ( $m \pm s$ , n= 4 répétitions)	<b>32</b>
<b>5</b>	Effet insecticide de l'huile essentielle de laurier <i>Laurusnobilis</i> , administrée par inhalation, sur la fécondité (nombre d'œufs déposés) des femelles d' <i>Ephestiakuehniella</i> ( $m \pm s$ , n=4 répétitions)	<b>33</b>
<b>6</b>	Effet insecticide de l'huile essentielle de Laurier <i>Laurusnobilis</i> , administrée par saturation du milieu, sur le taux de mortalité (%) des adultes d' <i>Ephestiakuehniella</i> ( $m \pm s$ , n= 4 répétitions, 10 insectes/répétition)	<b>35</b>
<b>7</b>	Répulsivité moyenne de l'huile essentielle du <i>Laurusnobilis</i> sur les adultes et les larves d' <i>Ephestiakuehniella</i> (n= 3 répétitions)	<b>36</b>

## Liste de figures

<i>N</i>	<i>Titres</i>	<i>Page</i>
1	Observation microscopique de <i>B.thuringiesis</i>	14
2	les cristaux protéiques	14
3	cycle de vie de <i>B.thuringiesis</i> (la formation de spore et la division de cellule végétative)	16
4	Observation microscopique de <i>B.thuringiesis</i> au cours de la sporulation (SP : spore) (PB. : protein Body)	18
5	Structure tri dimensionnelle du delta endotoxine	19
6	Courbe représente les valeurs Ct en fonction de concentration de spore	20
7	Les étapes de formation de la liaison avec le récepteur (a) : Solubilisation ; (b) : Activation; (c) et(d) : Liaison avec le site récepteur ; (e) : Formation des pores.	21
8	Mode d'action de <i>B.thuringiesis</i>	22
9	Structure chimique du Spinosad	27

*LISTE DES FIGURES*

10	<b>Surface épineuse de la bactérie</b>	27
11	<b>Surface épineuse de la bactérie</b>	27
12	<b>Mode d'action du Spinosad</b>	29
13	<b>Feuilles du neem</b>	34
14	<b>Fleurs du neem</b>	34
15	<b>Fruit du neem</b>	35
16	<b>Structure chimique de l'azadirachtine(1) ; nimbine(2) ; salanine(3)</b>	36
17	<b>Taux d'hormone juvénile (JH) et de 20-hydroxyecdysone (20E) au cours du développement de D. melanogaster La 20 E initie toutes les transitions de développement, tels que de la larve à la larve, de la larve à la nymphe et de la nymphe l'adulte tandis que l'HJ détermine le type de transition et la nature de mue ; Pp : prépupes</b>	38

## SOMMAIRE

## CHAPITRE I

<b>LES BIOPESTICIDES</b> .....	1
1. Introduction.....	2
2. Les différentes catégories de biopesticides.....	4
2.1. Biopesticides microbiens.....	4
2.1.1. Les bactéries .....	4
2.1.2. Les virus .....	4
2.2. Biopesticides végétaux.....	5
2.3. Biopesticides animaux .....	6
3. Stimulateurs des Défenses Naturelles des plantes (SDN) et biopesticides.....	6
4. Les avantages des biopesticides.....	7
5. Les inconvénients des biopesticides.....	8
6. Les biopesticides et la stratégie de lutte intégrée .....	8
7. L'Union européenne et la réglementation sur les pesticides.....	9
8. Utilisation des biopesticides.....	10
9. Objectif de l'étude.....	12

## CHAPITRE II

<b>BACILLUS THURINGIENSIS</b> .....	15
1. Introduction .....	15
2. Présentation du <i>B.thuringiensis</i> .....	15
2.1. Position systématique .....	16
2.2. Le cycle de vie de <i>B.turingensis</i> .....	16
2.3. Les protéines Cry et les protéines Cyt.....	18
2.3.1. Les protéines Cry.....	18
2.3.2. Les protéines Cyt.....	18
2.4. Classification de la delta-endotoxine.....	18
3. Mode d'action du <i>B. thuringiensis</i> et principe actif .....	20
3.1. Principe active de <i>B.thuringiensis</i> .....	20
3.2. Structure de delta endotoxine.....	20
3.3. Mode d'action des cristaux protéiques du <i>B. thuringiensis</i> .....	21
a. Sensibilisation et activation.....	20
b. Liaison sur le site récepteur.....	21
c. Formation des pores.....	21
d. Formation de la spore.....	23
3.4. Rôle des spores et de leur paroi sur les insectes nuisibles.....	23
4. Résistance des toxines aux <i>B.thuringiensis</i> .....	24
5. Toxicité et spécificité du <i>B.turingiensis</i> .....	24

5.1. Les toxines de Bt.....	24
a. Les protéines vip.....	24
b. Chitinase.....	24
c. Protéase Bt.....	25
d. Beta-exotoxine (B-exotoxine).....	25
6. Utilisation du Bt et le spectre d'activité.....	25
7. Risque pour les organismes non ciblé.....	25
8. La lutte biologique de Bt .....	26
<b>SPINOSAD.....</b>	<b>27</b>
1. Introduction.....	27
2. Description.....	27
3. Présentation du Spinosad.....	29
4. Mode d'action sur les insectes et principe actif.....	29
5. Utilisation .....	30
6. Efficacité et toxicité .....	31
7. La résistance.....	32
8. Effets sur les organismes non- ciblés.....	32
9. La lutte intégrée.....	33
<b>AZADIRACHTINE.....</b>	<b>34</b>
1. Introduction.....	34
2. Description.....	34
2.1. Classification botanique.....	34
2.2. Présentation des différentes parties.....	34
2.2.1. Les feuilles.....	35
2.2.2. Les fleurs.....	35
2.2.3. Les fruits.....	36
3. Composition et propriété chimique.....	36
3.1. Forme commercialisable.....	37
1. Huile de Neem.....	37
2.1.2. NeemAzal.....	38
4. Mode d'action sur les insectes et principe actif.....	38
5. Utilisations et Spectre d'activité.....	40
5.1. Chez les plantes.....	40
5.2. Chez les hommes.....	40
5.3. Chez les animaux.....	40
6. Efficacité et toxicité.....	41
7. Biodégradabilité.....	41
8. Résistance.....	42
9. Lutte intégrée.....	42

<b>CONCLUSION GENERALE.....</b>	<b>44</b>
<b>RESUMES.....</b>	<b>45</b>
RESUME.....	45
ABSTRACT.....	46
.....	47
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>48</b>

# *Les Biopesticides*

## 1-Introduction

Selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la population mondiale, de l'ordre de 6,13 milliards en 2001, pourra atteindre, à l'horizon 2025, un chiffre de 8,50 milliards. L'augmentation de la population exigera donc une production agricole supplémentaire de 2,4/109 tonnes/ans; cette prévision, strictement dépendante de l'amélioration de la productivité des cultures, ne pourra être possible que par un contrôle approprié des agents biotiques. En effet, des pertes de récoltes, estimées en moyenne à 40% de la production potentielle (Abhilash & Singh, 2009; Dimetry,2014), sont dues, essentiellement, à des ravageurs (Kulkarni *et al.*, 2009 ; Biber-Freudenberger *et al.*, 2016). Les insectes nuisibles, considérés comme l'un des problèmes majeurs en agriculture, peuvent être, également, vecteurs d'agents pathogènes (McKay *et al.*, 2013 ; Menasria *et al.*,2014; White *et al.*, 2014; Govindarajan & Rajeswary, 2015) et constituer une menace pour les animaux dont l'homme. Par conséquent, une gestion de ces différentes nuisances est primordiale pour un appui à la productivité agricole et une protection de la santé animale et humaine. Actuellement, la lutte chimique reste le moyen le plus largement adopté dans le monde pour contenir ces insectes nuisibles à un seuil raisonnable (Cantrell *et al.*, 2012 ;Casida& Durkin, 2013). Ces produits chimiques sont considérés comme l'arme la plus efficace pour faire face à ces problèmes, mais ces substances ont des conséquences néfastes (Kouassi 2001; Thakore 2006) sur l'environnement comme l'accumulation de résidus et la pollution des sols (Gagné *et al.*, 1999 ; Long, 2000; Comoretto& Chiron, 2005), l'apparition et la généralisation des mécanismes de résistance chez les pathogènes (Kristensen *et al.*, 2005 ; Karunker *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2009 ; Ahmad & Arif, 2010 ; Sahu *et al.*, 2014), le déséquilibre écologique, dû au fait que beaucoup de ces composés de synthèse ont un large

spectre d'action, détruisant non seulement les agents nuisibles, mais également les autres populations de l'écosystème (Ghormade *et al.*, 2011).

En effet, les organismes de protection de l'environnement, dénoncent l'impact négatif des molécules synthétiques comme les organochlorés, organophosphorés et carbamates (Hoffman & Lorenz, 1998 ; Scudeler & Santos, 2013; Kohler&Triebkorn, 2013; Gupta & Milatovic,2014), qui restent encore les plus vendus ( $\approx 40\%$ ) dans le monde (Casida& Durkin, 2013); en effet, ces pesticides conventionnels, très efficaces dans la gestion des organismes visés (Bruce, 2010), sont responsables du phénomène de pollution (Gagné et al., 1999 ; Long,2000; Comoretto& Chiron, 2005) et de l'apparition de forte résistance chez les organismes cibles (Kristensen *et al.*, 2005 ; Karunker *et al.*, 2008; Yang *et al.*, 2009 ; Ahmad & Arif, 2010 ; Sahu *et al.*, 2014).

Au regard de ces inconvénients et a cause donc des effets délétères des pesticides synthétique sur l'environnement et les organismes non ciblés, des récents efforts ont été fait pour trouver des solutions alternatives qui permettront de continuer à lutter contre les phytopathogènes tout réduisant l'utilisation systématique de ces produits chimiques et les remplacer par de nouvelles méthodes peu ou pas dangereuses (karimi et al., 2010,faye,2010).Celles-ci peuvent faire appel à la rationalisation des pratiques agricoles (fumigation-stérilisation en horticulture, désinfection des graines, rotation des cultures, contrôle du vecteur de la maladie...), à l'utilisation de variétés végétales résistantes (croisements sélectifs, insertion de gènes...) ou au développement des biopesticides.

Ainsi les biopesticides ou agents de lutte biologique, peuvent être définis comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un organisme vivant ou l'un de ses dérivés. Ils peuvent donc être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes) ou de micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les

plantes vis-à-vis d'agents phytopathogènes, mais aussi de substances d'origine naturelle telles que des extraits végétaux, phéromones, etc... (Thakore 2006).

## 2. Les différentes catégories de biopesticides

Les biopesticides peuvent être classés en trois grandes catégories, selon leur nature : les biopesticides microbiens, les biopesticides végétaux et les biopesticides animaux (Chandler *et al.*, 2011 ; Leng *et al.*, 2011).

### 2.1. Biopesticides microbiens

Cette catégorie comprend les bactéries, champignons, actinomycètes, virus et protozoaires. Leur efficacité repose sur des substances actives dérivées des micro-organismes. Ce sont, des substances actives qui agissent contre le bio-agresseur plutôt que le micro-organisme lui-même.

#### 2.1.1. Les bactéries

Les biopesticides à base de *Bacillus thuringiensis* sont les plus commercialisés. Ils ont une action insecticide. *Bacillus thuringiensis* est une bactérie à Gram<sup>+</sup> qui produit, durant sa phase stationnaire de croissance, des protéines cristallines appelées delta-endotoxines ou pro-toxines Cry (Rosas-Garcia, 2009). Des espèces bactériennes du genre *Bacillus* utilisant des mécanismes d'action autres que celui employé par *B.thuringiensis* peuvent également protéger les plantes. (Pérez-Garcia *et al.*, 2011).

#### 2.1.2. Les virus

Les Baculoviridae sont des virus à double brins d'ADN circulaire, ayant un génome compris entre 100 et 180 kb, protégés par une paroi protéique (Chen *et al.*, 2002). Ils infectent les arthropodes insectes ou larves. Ils représentent un faible risque sanitaire car aucun virus

similaire n'a, à l'heure actuelle, été répertorié dans l'infection des vertébrés ou des plantes. Cette propriété les rend particulièrement intéressants pour une utilisation en qualité de bio-insecticide, d'autant plus qu'ils peuvent tuer leur hôte en quelques jours.

## 2.2. Biopesticides végétaux

Les plantes produisent des substances actives ayant des propriétés insecticides, aseptiques ou encore régulatrices de la croissance des plantes et des insectes. Le plus souvent, ces substances actives sont des métabolites secondaires qui, à l'origine, protègent les végétaux des herbivores. Le biopesticide d'origine végétale le plus utilisé est l'huile de neem, un insecticide extrait des graines d'*Azadirachta indica* (Schmutterer, 1990). Plusieurs molécules dont l'azadirachtine, la nimbidine, la nimbidinine, la solanine, le déacétyl azadirachtinol et le méliantriol ont été identifiées comme biologiquement actives dans l'huile extraite des graines de neem. L'azadirachtine, un mélange de sept isomères de tétranortritarpinoïde, est le principal ingrédient actif de cette huile et à la propriété de perturber la morphogénèse et le développement embryonnaire des insectes (Srivastava *et al.*, 2007 ; Correia *et al.*, 2013).

Certaines huiles végétales, qui n'ont pas d'activité antiparasitaire intrinsèque, peuvent être retrouvées sur le marché en tant que biopesticide. Dans ce cas, ce sont leurs propriétés physiques qui sont exploitées. Ainsi, l'huile de colza est l'ingrédient principal de quelques produits comme le VegOil® car, aspergée sur les feuilles et les ravageurs, elle forme un film huileux qui asphyxie ces derniers.

Les plantes à pesticides intégrés (*Plant Incorporated-Protectants*, PIPs) sont des organismes modifiés par génie génétique, capables de produire et d'utiliser des substances pesticides afin de se protéger contre des insectes, des virus ou des champignons. Les PIPs représentent alors une catégorie de biopesticides.

### 2.3. Biopesticides animaux

Ces biopesticides sont des animaux comme les prédateurs ou les parasites, ou des molécules dérivées d'animaux, souvent d'invertébrés comme les venins d'araignées, de scorpions, des hormones d'insectes, des phéromones (Goettel *et al.*, 2001 ; Saidenberg *et al.*, 2009 ; Aquiloni *et al.*, 2010).

Les biopesticides d'origine animale qui sont des signaux chimiques produits par un organisme et qui changent le comportement d'individus de la même espèce ou d'espèces différentes sont également répertoriés sous l'appellation « semio-chimiques ». Les semio-chimiques ne sont pas à proprement parler des « pesticides ». En effet, ils ne vont pas provoquer la mort des bio-agresseurs, mais plutôt créer une confusion chez ces derniers. Cette confusion les empêchera de se propager dans la zone traitée. Les phéromones d'insectes sont de bons exemples de molécules semio-chimiques utilisées comme alternative à l'utilisation des insecticides. Il s'agit de petites molécules naturellement produites par les insectes et qui sont détectées au niveau des antennes de leurs congénères. Ces molécules peuvent être éphémères ou persistantes, mais dans tous les cas véhiculent un message. Elles peuvent marquer un territoire, prévenir de la disponibilité de nourriture ou être un signal pour l'accouplement. Les phéromones d'insectes sont largement utilisées aussi bien pour limiter les insectes ravageurs *via* des techniques de piégeage ou de confusion sexuelle que pour surveiller leur nombre.

### 3. Stimulateurs des Défenses Naturelles des plantes (SDN) et biopesticides

Les Stimulateurs des Défenses Naturelles des plantes (SDN) sont des substances qui, une fois appliquées sur la plante, vont déclencher les défenses de cette dernière. Cela va permettre à la plante d'être dans un état de résistance contre un pathogène auquel elle serait

normalement sensible. Cette définition rappelle celle des éliciteurs, cependant les SDN ne peuvent pas être limitées qu'aux éliciteurs. Le concept d'utilisation des SDN dans la protection des plantes a été introduit en 1975 par Anderson-Prouty et Albersteim. (Anderson-Prouty *et al.*, 1975). Les SDN peuvent être de plusieurs origines. On trouve les synthétiques comme l'acide  $\beta$ -amino butyrique (BABA) ou comme l'analogue fonctionnel de l'acide salicylique (acibenzolar-S-méthyl, ASM). Il y a les substances naturelles minérales comme les poudres de roche, les substances naturelles végétales comme la laminarine, les substances microbiennes comme l'harpine et animales comme le chitosan.

#### 4. Les avantages des biopesticides

Les biopesticides sont écologiquement beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des pathogènes contre lesquels ils sont dirigés. Ils sont par conséquent moins dommageables pour les organismes non ciblés de la microflore endogène qui exerce une action bénéfique sur les plantes. De plus, les biopesticides sont souvent efficaces en faibles quantités et leurs activités protectrices peuvent relever de mécanismes multiples et déclenchent donc rarement des phénomènes de résistance chez le pathogène à cause d'une faible pression de sélection. En outre, ils peuvent compléter les pesticides conventionnels une fois utilisés dans les programmes intégrés de la gestion des parasites (IPM) (Fravel 2005; Thakore 2006). Par exemple, l'intégration du contrôle biologique avec des fongicides, les pratiques culturales, et d'autres mesures peuvent contribuer au contrôle de la rouille sur la tomate (Lourenco Junior *et al.* 2006). Les biopesticides peuvent donc être complémentaires au traitement chimique, mais peuvent aussi être utilisés dans des situations pour lesquelles aucune solution de contrôle utilisant des produits de synthèse n'est actuellement disponible. Ces agents sont utilisés à travers le monde dans les champs et dans les serres (Ji *et al.* 2006; Lee *et al.* 2006; Minuto *et al.* 2006;

Saravanakumar *et al.* 2007), pour combattre un grand nombre de maladies causées par des pathogènes du sol, foliaires ou de post-récoltes. Ces produits ont été développés pour contrôler de multiples maladies sur diverses céréales, légumes, fruits et fleurs (Paulitz et Bélanger 2001; Fravel 2005).

## 5. Les inconvénients des biopesticides

Certains des avantages écologiques des biopesticides, comme leur faible rémanence ou le fait qu'un produit soit actif contre un faible spectre de nuisibles, peuvent être considérés comme des inconvénients. En effet, ces deux avantages écologiques combinés à leur activité souvent dépendante des conditions climatiques et environnementales rendent les biopesticides moins efficaces que leurs homologues chimiques. Certains professionnels de l'agriculture estiment que les biopesticides ne leur conviennent pas car ils ne sont pas assez efficaces. Ces derniers évaluent les résultats du biopesticide à court terme, comme s'il s'agissait d'un substitut aux produits phytosanitaires chimiques. Cependant, la mise en place et l'efficacité d'un contrôle biologique doivent être évaluées sur la durée (Popp *et al.*, 2013).

## 6. Les biopesticides et la stratégie de lutte intégrée

La lutte intégrée est une stratégie de gestion à long terme des bio-agresseurs qui minimise les risques pour les populations, l'écosystème et l'environnement. Dans ce concept, des actions sont menées pour empêcher les bio-agresseurs de devenir un problème. Pour cela, les champs sont minutieusement observés afin d'identifier les maladies et leur cause, dénombrer les bio-agresseurs et établir leur cycle de vie.

La lutte intégrée combine plusieurs pratiques comme l'utilisation de variétés de plantes résistantes aux maladies et aux ravageurs identifiés, une irrigation des cultures appropriée, la rotation ou l'inter-culture, le désherbage manuel ou encore l'utilisation de barrières physiques

de prévention contre les ravageurs. Les pesticides chimiques ne sont employés que lorsqu'ils sont nécessaires. Ils sont choisis dans le but de limiter au maximum leur impact sur l'environnement. La lutte intégrée privilégie l'application de biopesticides.

L'emploi de certains bio pesticides en rotation ou en combinaison avec d'autres biopesticides ou avec des produits chimiques permet de diminuer les quantités d'intrants chimiques, ainsi que l'apparition de nouvelles souches résistantes aux nuisibles (Xu *et al.*, 2011). Les résultats obtenus avec la mise en place des stratégies de lutte intégrée dans les cultures de poires en Californie (USA) montrent l'efficacité d'une telle approche. (Weddle *et al.*, 2009).

## 7. L'Union européenne et la réglementation sur les pesticides

L'origine biologique des substances et produits proposés à l'homologation ne garantit pas leur approbation. Ainsi, des biopesticides d'origines microbienne, animale et végétale se retrouvent dans la liste mise à jour au 21 octobre 2013 des 783 substances phytosanitaires non approuvées par l'Union européenne et d'autres parmi les 440 substances approuvées. Le tableau 2 présente un aperçu du panel de substances biologiques en fonction de leur statut d'autorisation dans l'UE.

Les stimulateurs de défenses naturelles des plantes sont soumis à la même réglementation que les autres produits phytosanitaires. Les macro-organismes, tels que les insectes auxiliaires, ne sont pas mentionnés dans le règlement (CE) 1107/2009. En France, l'utilisation de macro-organismes non indigènes utiles aux végétaux dépend du décret n° 2012-140 (Journal officiel de la République Française, 2012).

**Tableau 1.** Exemples de substances d'origine biologique approuvées et non approuvées par la commission européenne au 21 octobre 2013

	Substances actives approuvées	Substances actives non approuvées
<b>Biopesticides d'origine microbienne</b>		
Champignon	<i>Trichoderma asperellum</i> (formellement <i>T. harzianum</i> ) souches ICC012, T25 and TV1 <i>Trichoderma asperellum</i> (souche T34) <i>Trichoderma atroviride</i> souche I-1237 <i>Paecilomyces fumosoroseus</i> souche Fe9901	<i>Aschersonia aleyrodes</i> <i>Beauveria brongniartii</i>
Bactérie	<i>Pseudomonas chlororaphis</i> souche MA342 <i>Pseudomonas</i> sp. Souche DSMZ 13134 <i>Bacillus firmus</i> I-1582 <i>Bacillus subtilis</i> souche. QST 713 <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. Kurstaki strains ABTS 351, PB 54, SA 11, SA12 and EG 2348	<i>Bacillus subtilis</i> souche IBE 711 <i>Bacillus sphaericus</i> <i>Agrobacterium radiobacter</i> K84
Virus	Zucchini Yellow Mosaic Virus, weak strain <i>Spodoptera littoralis</i> nucleopolyhedrovirus	Zucchini yellow mosaic virus (ZYMV mild strain) <i>Neodiprion sertifer</i> nuclear polyhedrosis virus
<b>Biopesticides d'origine végétale</b>		
Huiles	Huile de girofle Huile de menthe verte Huile de colza	Citronellol Huile de coco Huile de daphné Huile d'eucalyptus Huile de bois de Gaïac Huile d'ail Huile de maïs
Extraits	Azadirachtin Extrait d'ail Géranol	Répugnant : huiles essentielles Gluten de bé Chlorophylline
<b>Biopesticides d'origine animale</b>		
Extraits	Huile de poissons à propriétés odorantes répugnantes	Chitosan Gélatine Lanoline
Semio-chimiques	Chaîne carbonée droite de phéromones de lépidoptère	-

## 8. Utilisation des biopesticides

L'utilisation des biopesticides a longtemps été cantonnée à l'agriculture biologique. Ces produits ont été progressivement employés en agriculture conventionnelle car les agriculteurs sont de plus en plus soucieux de leur impact écologique (Frost *et al.*, 2009). Le marché des biopesticides est très en dessous de celui des produits phytosanitaires chimiques. Cependant, il est en constante croissance (Frost *et al.*, 2009). La majorité des biopesticides commercialisés est d'origine microbienne. Il s'agit principalement d'insecticides à base de *B. thuringiensis* (Rosas-Garcia, 2009). Les fournisseurs de biopesticides sont principalement

des petites et moyennes entreprises qui ont des difficultés compréhensibles à développer de nouveaux produits et à commercialiser pleinement ceux déjà existants (FarmChemical International, 2010). Il est à noter qu'il y a des disparités dans l'utilisation des bio pesticides au niveau mondial. Ces inégalités dépendent de plusieurs facteurs tels les politiques gouvernementales, l'opinion publique et les programmes de recherche industriels (Bailey *et al*, 2010).

# *Objective de l'étude*

Dans le cadre du développement durable, des pesticides non polluants ont été commercialisés par les firmes pharmaceutiques et phytosanitaires; ces molécules, alternatives aux pesticides conventionnels, sont représentées par les pesticides synthétiques de la 3<sup>ème</sup> génération (régulateurs de croissance) ou encore par les pesticides d'origine naturelle (biopesticides). Les régulateurs de croissance synthétiques (Insectgrowth Regulator IGRs) agissent, spécifiquement (Dhadialla *et al.*, 2005; 2010) via les deux principales hormones du développement (hormone juvénile ou HJ et les ecdystéroïdes) ou via la synthèse de la chitine, composé majeur de la cuticule (Ishaaya, 1990; Dhadialla *et al.*, 2010). Les pesticides naturels, issus du développement de la biotechnologie, se définissent, au sens large, comme provenant d'organismes vivants: animaux, plantes, bactéries ou encore certains minéraux comme le bicarbonate de potassium (Sporleder & Lacey, 2013). Selon, l'agence américaine pour la protection de l'environnement (EPA), il a été enregistré plus de 192 biopesticides actifs (Cantrell *et al.*, 2012). Parmi ces molécules, biodégradables et à faible impact environnemental se trouvent le *Bacillus thuringiensis*, une bactérie qui a la capacité de synthétiser des inclusions cristallines associées aux spores ayant des propriétés insecticides (Bravo *et al.*, 2011). Le **Spinosad**, provenant de la fermentation d'une bactérie Actinomycète *Saccharopolyspora spinosa* (Mertz & Yao, 1990), est composé de deux métabolites biologiquement actifs les spinosynes A et D. Ce pesticide, neurotoxique, présente un mode d'action unique, car il agit à la fois sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChRs) (Salgado, 1997; Kirst, 2010 ; Rinkevich & Scott, 2012) et sur les récepteurs gabaergiques (GABA) (Ishaaya, 2001; Salgado & Sparks, 2005; Osorio *et al.*, 2008). L'**azadirachtine** provient des grains d'*Azadirachta indica*, structurellement semblable aux ecdysones d'insectes, inhibe l'hormone prothoracicotropique (Schmutterer, 1990; Mordue & Blackwell, 1993) et l'hormone allatotropique (Banken & Stark, 1997), stimulant,

respectivement, les ecdysteroides et l'HJ; l'azadirachtine, agit donc comme un régulateur de croissance en perturbant par ses effets antagonistes sur les hormones précitées.

Ainsi dans le cadre de notre étude ont va s'intéressé a l'étude bibliographique de ces trois molécules en tenant en compte de plusieurs paramètres tels que leur éventuel nocivité contre les organismes non cibles ainsi que le développement du phénomène de résistance et essayé de juger lequel de ces trois pesticides naturel semble constitué l'alternative a encouragé.

## *Bacillus thuringiensis*

### 1. Introduction

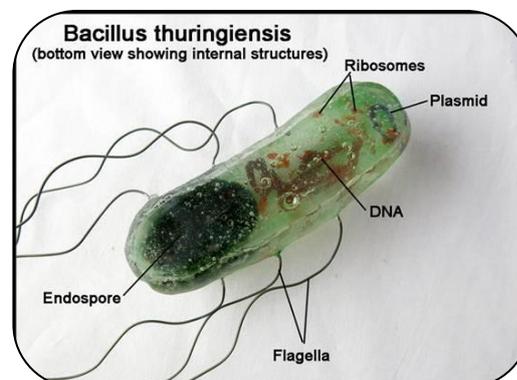
Le nom *Bacillus thuringiensis* a été introduit en 1901 par le biologiste japonais Shigetane Ishiwata en observant les effets insecticides de la bactérie sur des vers à soie. En 1911, Ernest Berliner isole une souche de *B.thuringiensis* à partir d'une larve de mite trouvée dans un sac de farine (Glare & O'Callaghan, 2000) à partir de 1938, elle est utilisée comme insecticide biologique (Lambert & Peferoen 1992). Le début des années 1980, deux découvertes importantes ont permis de démontrer le grand potentiel insecticide de *B.thuringiensis* (Goldberg & Margalit 1977; Krieg, Huger *et al.*, 1983), de ce fait l'intérêt des industries à produire des insecticides bio s'est grandement accru. En effet, environ 90% des insecticides bio produits à travers le monde sont composés de *B.thuringiensis*.

### 2. Présentation du *B.thuringiensis*

Le *B.thuringiensis* est une bactérie appartenant à la famille des *Bacillaceae* (Schepf *et al.*, 1998 ; Heckel *et al.*, 1999 ; Liu *et al.*, 2002 ; Sun *et al.*, 2002) gram positif a une longueur de 5  $\mu\text{m}$ , et une largeur de 1  $\mu\text{m}$  et dépourvue de flagelle. *B.thuringiensis* est une bactérie ubiquitaire que l'on retrouve un peu partout dans la nature, que ce soit dans le sol, sur le feuillage, dans l'eau et même dans l'air, c'est une bactérie qui fait partie du groupe *Bacillus cereus* qui comprend six espèces dont: *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoloides*, *Bacillus weihenstephanensis*, elle se caractérise par la production de cristal protéique (Glare & O'Callaghan 2000), Cette bactérie est un agent Entomopathogène dont l'activité insecticide a été attribuée en grande partie aux cristaux Parasporaux (Schnepef *et al.*, 1998) ou  $\delta$ -endotoxines (Toxines Cry).(Schnepef *et al.*, 1998).



**Figure 1.** Les cristaux protéiques



**Figure 2.** Observation microscopique de *B.thuringiensis*

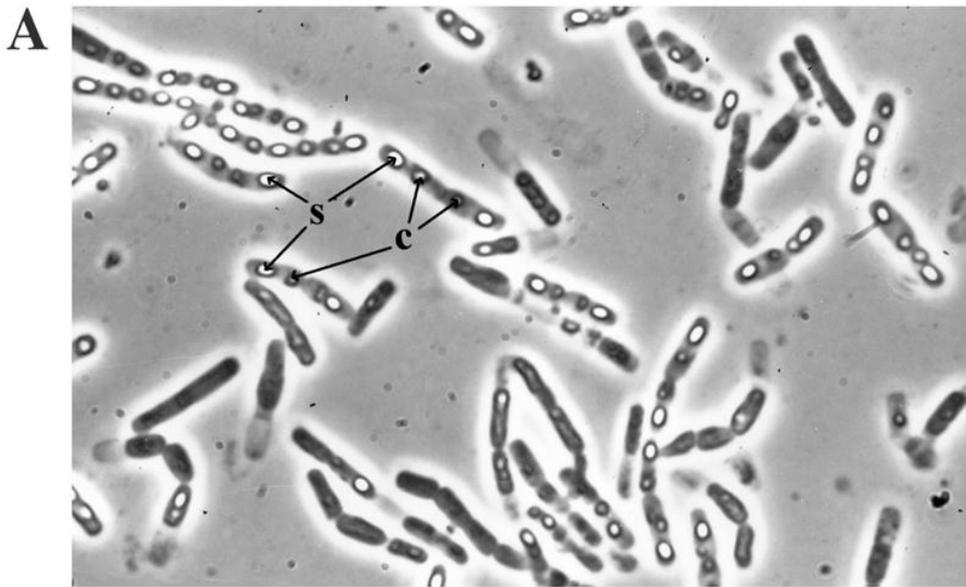
## 2.1. Position systématique Classification (Berlin, 1915)

Règne.....Bactéria  
Embranchement.....firmicute  
Classe.....bacilli  
Ordre.....bacillales  
Famille.....bacillaceae  
Genre .....bacillus

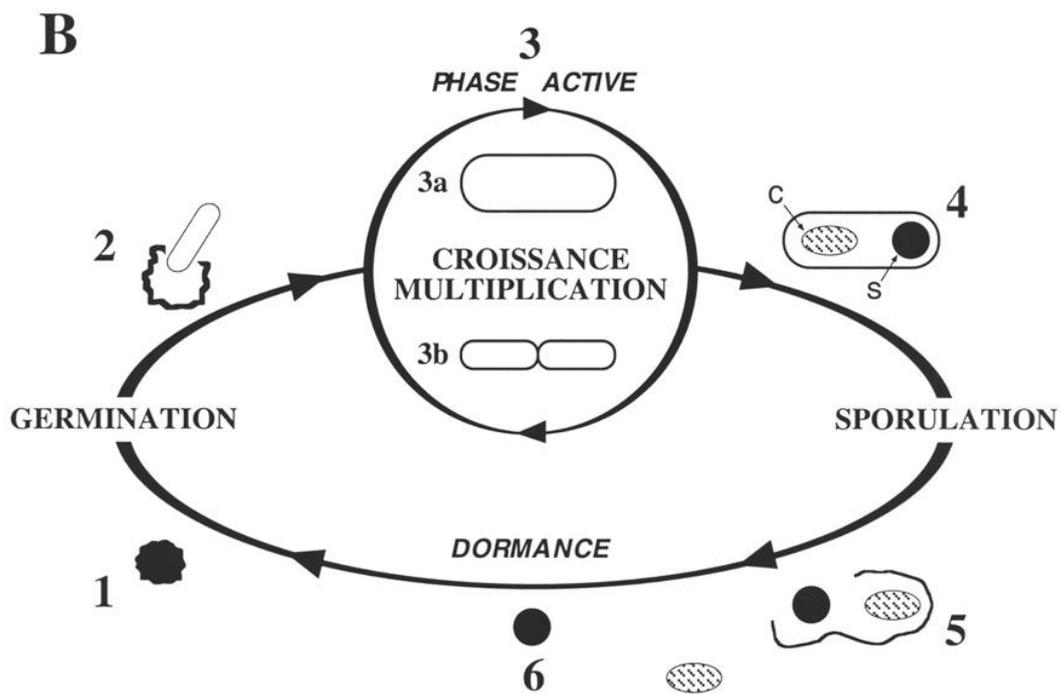
## 2.2. Le cycle de vie de *B.thuringiensis*

Le cycle de vie du *B.thuringiensis* est caractérisé par deux étapes qui comprennent la division des cellules et le développement végétatif des spores, autrement appelée le cycle de sporulation. La cellule végétale est en forme de tige (2-5 µm de long et d'environ 1,0 µm de large) et se divise en deux cellules filles uniforme par formation d'une cloison de séparation initiée à mi-chemin le long de la membrane plasmique. La sporulation se caractérise par sept étapes qui comprennent (stade I) la formation de filament axial, (stade II) formation du septum, (stade III) englobement, la première apparition de cristaux paracristallins et formation d'un pré spore, (stades IV à VI) formation d'un exosporium, paroi cellulaire primordiale, le cortex et le manteau de spores accompagné par transformation du nucléoïde de spores et (VII stade) une maturation des spores et la lyse des sporanges (Fig 3).

La production de protéines cristal de *B. thuringiensis* pendant la sporulation est un phénomène biologique unique régulée génétiquement qui offre un avantage supplémentaire de survie en exerçant une action létale contre les insectes hôtes. À son tour, l'action toxique fournit des nutriments de l'hôte suffisante pour permettre la germination des spores bactériennes dormantes et son retour à la croissance végétative.



source: Dr. J.-C. Côté, Agriculture Canada



**Figure 3.** Cycle de vie de *B.thuringiensis* (la formation de spore et la division de cellule végétative)

## **2.3. Les protéines Cyt et les protéines Cry**

### **2.3.1. Les protéines Cyt**

les protéines Cyt appartiennent à la famille des delta-endotoxines et sont produites toutes deux dans le même cristal lors de la sporulation, demandent une interaction spécifique avec des récepteurs cellulaires et une activation par des protéases, les protéines Cyt interagissent directement avec les lipides membranaires des cellules et pénètrent dans la membrane pour ainsi former un pore (Sanahuja *et al.*, 2011). Ces protéines peuvent notamment agir en synergie avec certaines protéines Cry afin d'augmenter leur toxicité sur les insectes (Soberon *et al.*, 2013). Il a également été démontré que les protéines Cyt peuvent aider à contrer la résistance des moustiques envers les protéines Cry (Wirth *et al.*, 1997).

### **2.3.2. Les protéines cry**

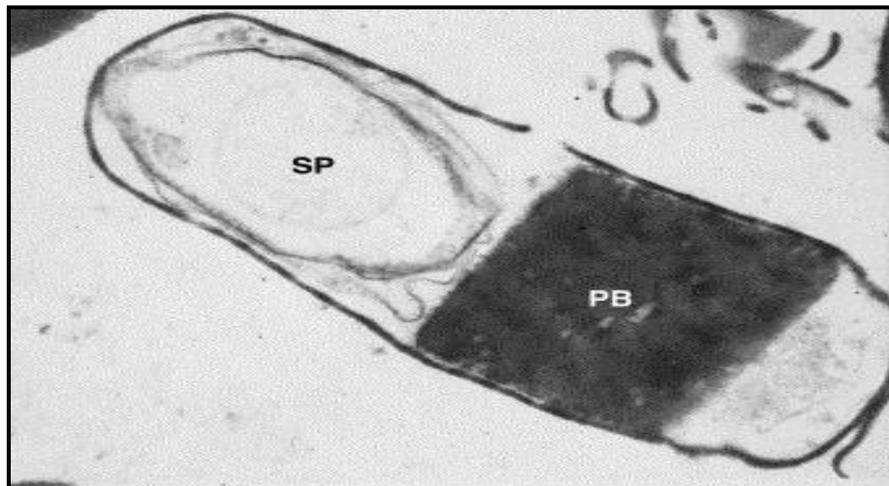
Au cours de la sporulation, la plupart des souches de *B. thuringiensis* produisent un cristal protéique composé de delta-endotoxines. Ce cristal protéique représente à lui seul environ 20 à 30 % du nombre total de protéines de la bactérie (Griko *et al.*, 2010). Grâce à leur toxicité sélective envers différents insectes nuisibles.

## **2.4. Classification de la delta-endotoxine**

D'après Hofte & Whiteley (1989) la delta –endotoxine de *B.thuringiensis* Cry peut être classifiées en cinq classes selon sa spécificité insecticide .En effet, on retrouve la CryI, CryII, CryIII, CryIV, CryV, en plus des delta–endotoxines, *B.thuringiensis* synthétise une autre famille de protéines de petite taille cytolytique non spécifique appelée Cyt (Thomas & Ellar, 1983)(Tableau. 1).

**Tableau1** :Classification de delta endotoxine de *B .thuringiensis* (Hofte&Whiteley, 1989).

Classes	Taille (KDA)	Insectes sensibles	Structure des cristaux
CryI	130-140	Lépidoptère	Bipyramidale
CryII	71	Diptères, lépidoptère	Cubique
CryIII	68-73	Coléoptère	Rhomboédrique
CryIV	125-175	Diptère	Sphérique
CryV	81	Lépidoptère, coléoptère	Bipyramidale
Cyt	26-28	Diptère	Sphérique



**Figure 4.** Observation microscopique de *B.thuringiensis* au cours de la sporulation (SP : spore) (PB. : protein Body)

### 3. Mode d'action du *B.thuringiensis* et principe actif

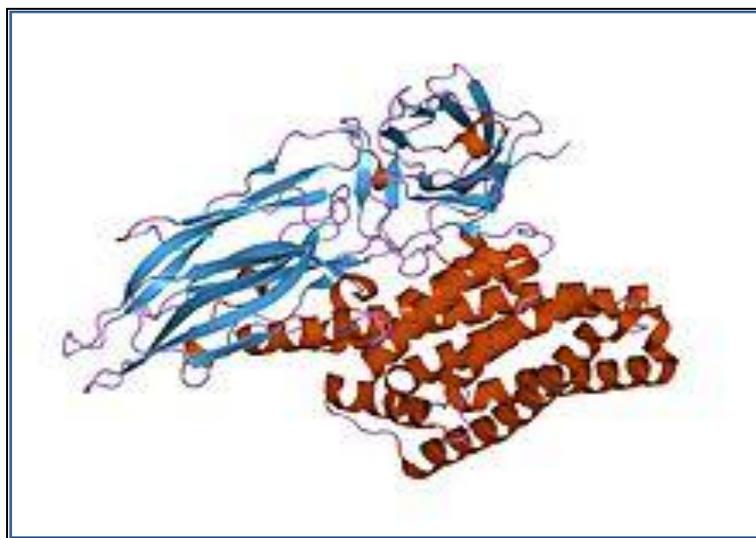
Les études menés sur les aspects biologiques et biochimiques du pouvoir pathogène de cette bactérie ont établis que la cause de pathogénicité du *B.thuringiensis* réside en une inclusion paras porales, dite cristal protéique (Glatron *et al.*, 1972).

#### 3.1. Principe active de *B.thuringiensis*

Le *B.thurigiensis* présente une action insecticide, durant sa phase stationnaire de croissance, des protéines cristallines appelées delta-endotoxines ou pro-toxines Cry, qui sont libérées dans l'environnement après la lyse des parois bactériennes lors de la phase de sporulation et une fois ingérées par les ravageurs deviennent actives, (Rosas-Garcia, 2009).

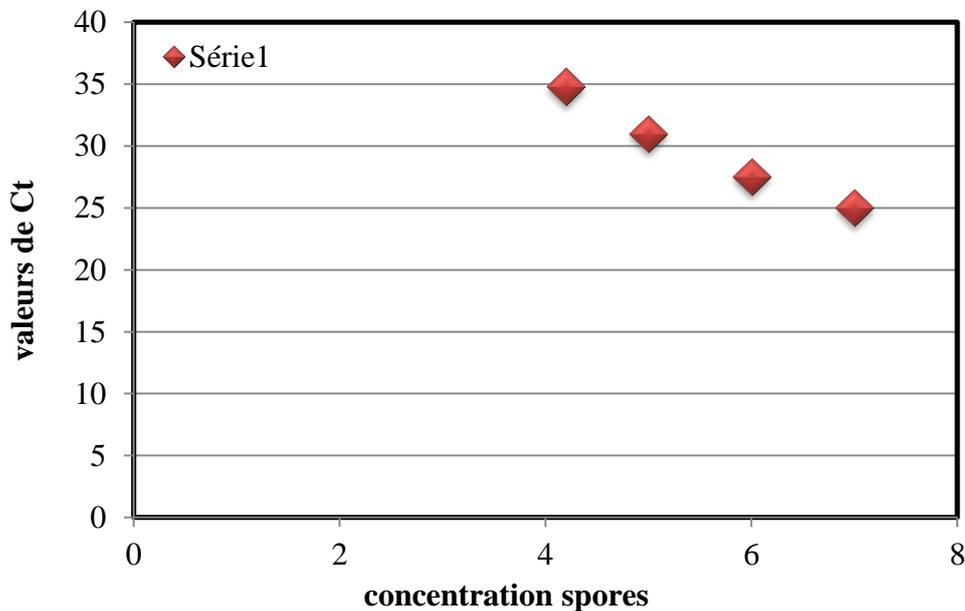
#### 3.2. Structure de delta endotoxine

Les delta- endotoxines présentent trois domaines (Li *et al.*, 1991) (Figure 5). Le domaine : constitué de sept(7) hélices alpha et c'est l'extrémité NH<sub>2</sub>-terminale et responsable de la formation des pores; le domaine : comprenant trois (3) feuillets Béta; le domaine du coté C-terminal n'a pas d'effet directe sur les insectes ; cependant, il joue un rôle important dans la stabilité du cristal.



**Figure 5.** Structure tri dimensionnelle du delta endotoxine

### 3.3. Mode d'action des cristaux protéiques du *B.thuringiensis*



**Figure 6.** Courbe représente les valeurs Ct en fonction de concentration de spore

#### a. Sensibilisation et activation

Une fois ingérés le biopesticide à base *B.thuringiensis*, les protéines cristallines sont solubilisées dans l'intestin de l'insecte à un pH basique (10-12). Les pro toxines libérées sont par la suite transformées en toxines actives après une lyse partielle par les enzymes du tube digestif (Whalû & Mc Gaughey, 1998).

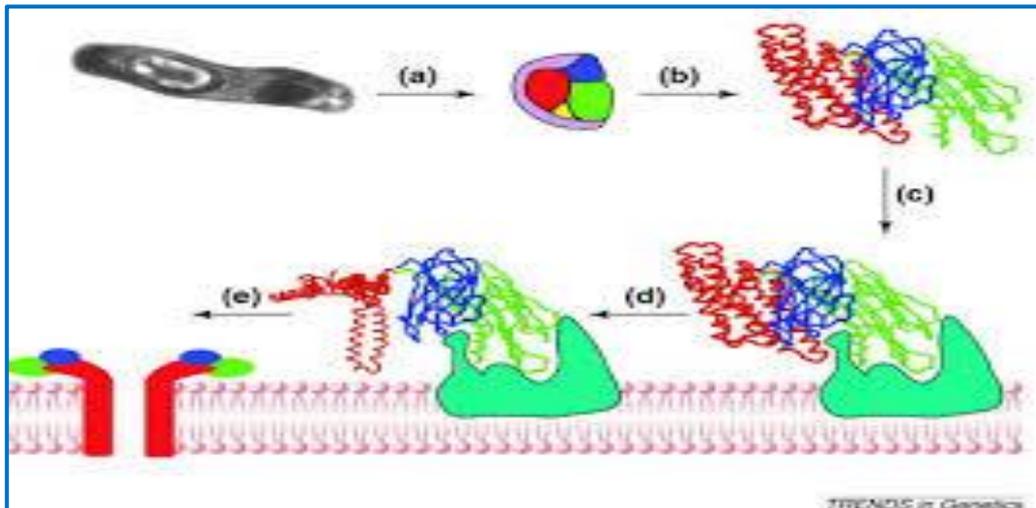
#### b. Liaison sur le site récepteur

La toxine activée traverse la membrane péri trophique. Elle se fixe sur des récepteurs spécifiques, présentant à la surface des microvillosités des cellules épithéliales moyennes de l'insecte (Schenpt *et al.*, 1998) (Fig7).

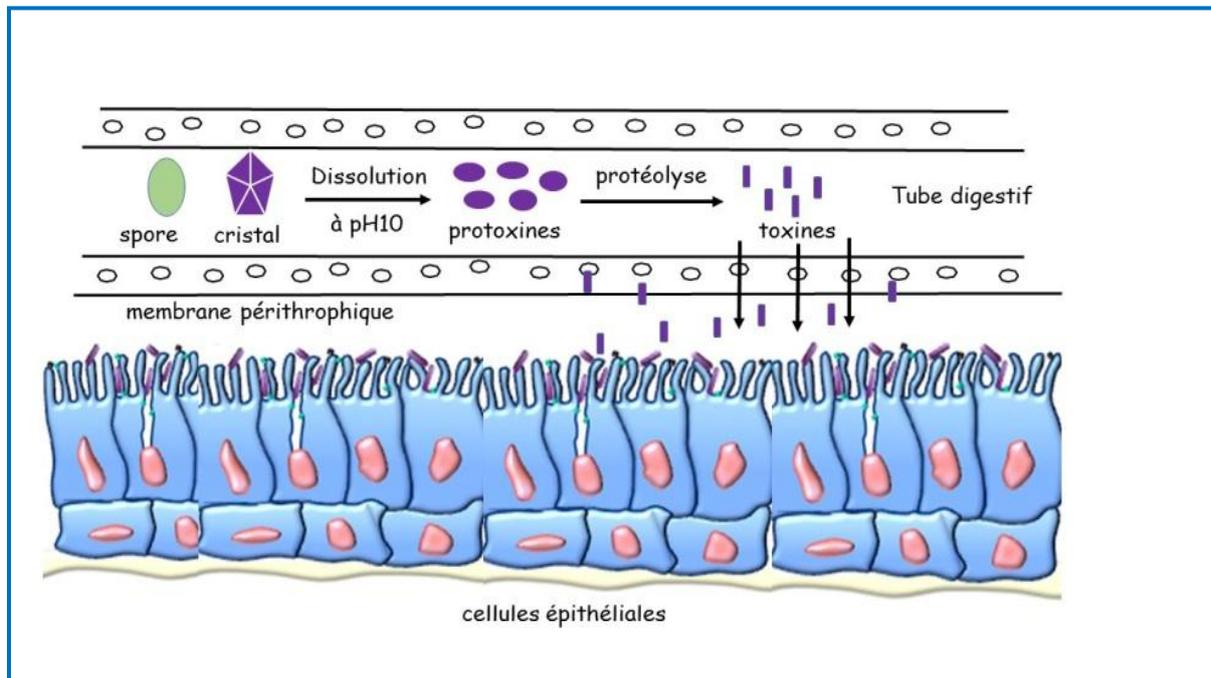
#### c. Formation des pores

L'interaction toxine-récepteur aboutit à la formation d'un pore dans la cellule cible. Soit entraîne une perturbation des échanges ioniques, une modification du pH intestinal, puis la lyse de la cellule épithéliale de l'intestin. Cette lyse provoque une paralysie du tube digestif

de l'insecte qui cesse de s'alimenter (Gillet *al.*, 1992) et meurt affamé trois jours après l'ingestion du cristal (Whalû & Mc Gaughey,1998) si non la protéine activée se lie initialement à des récepteurs glycosyl-phosphatidylinositol (GPI), par la suite, la protéine Cry se lie à un récepteur cadhérine (glycoprotéine). Cette forte liaison facilite l'insertion de la membrane par l'oligomère résultant en la formation d'un pore et, par la suite, à la mort de la cellule par une lyse osmotique.



**Figure7.** Les étapes de formation de la liaison avec le récepteur (a) : Solubilisation ; (b) : Activation; (c) et(d) : Liaison avec le site récepteur ; (e) : Formation des pores.



**Figure 8.** Mode d'action de *B.thuringiensis*

#### **d. Formation de la spore**

La formation d'une endospore est un processus de division cellulaire qui inclut la formation de proto plastes dans le cytoplasme de la cellule (Bulla *et al.*, 1975). La séquence du développement des spores et de la formation des cristaux parasporaux chez Bt (Bechtel & Bulla, 1976) se fait selon les étapes classiques de la sporulation (cycle de vie de sporulation).

#### **Rôle des spores et de leur paroi sur les insectes nuisibles**

En 1978 Schesser & Bulla, trouvent une similitude frappante entre l'action des spores et celles des cristaux parasporaux, les effets entomotoxiques des spores de Bt contre les larves d'insectes sont reliés à l'action de leurs paroi qui contient la même composante de ce de la protoxine cristalline des cristaux parasporaux (Schesser & Bulla, 1978 ; Johnson *et al.*, 1998). En effet, dans certains cas ce sont les spores de Bt qui sont impliqués d'abord dans l'entomopathogénicité (Dubois, 1995; Johnson, 1996; Li *et al.*, 1987; Liu *et al.*, 1998) ; et par la suite les bactéries peuvent envahir l'hémolymphe et provoquer une septicémie. Il est donc probable que les spores agissent en synergie avec la toxine qui peut aussi résulter de leur germination dans l'intestin moyen (Salamitou *et al.*, 2000).

#### **4. Résistance des toxines aux *B. thuringiensis***

Aucun mécanisme de résistance aux toxines du Bt n'a encore été décrit chez les diptères. Cependant de nombreux mécanismes de résistance aux toxines Cry ont été décrits chez les Lépidoptères (Morin *et al.*, 2003), les Coléoptères (Fabrick *et al.*, 2009) ou les Nématodes (Griffitts *et al.*, 2001). La modification métabolique de l'activation des protoxines (Keller *et al.*, 1996, Oppert, 1997, Rukmini *et al.*, 2000, Rajagopal, 2009) et la modification des récepteurs cibles au niveau des membranes des cellules épithéliales (Gahan *et al.*, 2001, Morin *et al.*, 2003, Jurat-Fuentes *et al.*, 2004, Herrero *et al.*, 2005) sont à ce jour les principaux mécanismes impliqués dans la résistance aux toxines Cry. L'implication directe de mécanismes de détoxification dans la résistance aux toxines du Bt n'a encore pas été mise en évidence de façon formelle. Cependant certaines enzymes de détoxification peuvent être surexprimées en présence de toxines Cry (van Munster *et al.*, 2007), et certaines estérases semblent pouvoir séquestrer les toxines Cry (Gunning *et al.*, 2005). Enfin, d'autres mécanismes potentiels de résistance peuvent intervenir à toutes les étapes du mode d'action des toxines : modification du comportement alimentaire, mécanismes de réparation cellulaires pouvant notamment impliquer des estérases (Gunning *et al.*, 2005, Meunier *et al.*, 2006), ou modification du système immunitaire (Huffman *et al.*, 2004, Rahman *et al.*, 2004).

#### **5. Spécificité et toxicité du *B.turingiensis***

La spécificité du Bt se situe dans le fait que certains enzymes particulier de l'estomac (présents seulement chez certains insectes) doivent activer les protéines en forme de cristaux pour qu'elles deviennent toxiques. Dans des conditions normales, la protéine en forme de cristal est insoluble (non active) et donc inoffensive pour les humains, les mammifères et la majorité des insectes. La toxine du Bt est surtout efficace contre les jeunes larves d'insectes, qui sont plus vulnérables. Une fois dans l'environnement, la protéine insecticide du Bt se dégrade rapidement (1à 4 jours) après exposition à la lumière du soleil et aux micro-organismes (Boiteau, 2004).

#### **6. Les toxines de Bt**

##### **Les protéines vip**

Il a été observé que certaines souches de Bt produisent des protéines insecticides végétatives (VIPS). qui ne présentent aucune homologie avec les cristaux protéines insecticide (Struch *et*

*al.*, 1996). Ces protéines comprennent les toxines comme Vip3A (Estruche *et al.*, 1996 ; Donovan *et al.*, 2001; Selvapandiyane *et al.*, 2001; Loguercioe *et al.*, 2000)

**a. Chitinase**

Depuis longtemps les chitinases, enzymes hydrolysant la chitine ont été utilisées comme agent de synergie pour accroître l'entomotoxicité des bio pesticides (Mirnoffe, 1972). le rôle essentiel de la chitinase; permettant ainsi la pénétration des spores et des cristaux de Bt dans l'hémolymph des larves chitinase ( Rojas-Avelizapeaf 1999;Barboza-Coroneaf., 1999; Liu *et al.*, 2002)

**b. Protéase Bt**

Jusqu'à présent le rôle de la protéase dans l'accroissement ou la diminution de l'activité insecticide des delta-endotoxines contre les insectes nuisibles n'a pas été confirmé. Ainsi le rôle de ces protéases dans l'activité insecticide reste toujours à étudier vérifié (Brarefal, 2007).

**c. Beta-exotoxine (B-exotoxine)**

La Beta endotoxine, également connue sous le nom de thuringiensine un composé sécrété dans le milieu de culture au début de la sporulation par certains souches de Bt, en effet, sa toxicité sur le mue et la nymphose et à doses sublétales (Espinasse *et al.*, 2003)

**7. Utilisation du Bt et le spectre d'activité**

Le *B.thuringiensis* reste actuellement peu employé en agriculture. Il apparaît que l'utilisation agricole du *B.t.* représente peu de danger pour la santé humaine. Il demeure sécuritaire tant que les applications sont réalisées selon les prescriptions et qu'elles sont réalisées par des applicateurs formés. Il n'y a aucun délai à respecter avant la récolte pour les légumes et les fruits ayant été traités au *B.t.*,

**8. Risque pour les organismes non ciblé**

Il a été montré qu'une exposition prolongée au pollen de maïs Bt (maïs transgénique produisant la toxine du *Bacillus thuringiensis*) affectait le comportement et la survie du papillon monarque, le plus connu des papillons d'Amérique du nord. Quant aux conséquences

sur les papillons européens, elles sont quasiment inconnues car il n'existe que peu d'études à ce sujet. Ces dernières soulèvent néanmoins des inquiétudes sur les conséquences des plantes résistantes aux insectes pour les papillons européens (Lang & Vojtech, 2006).

## **9. La lutte biologique de Bt**

La lutte biologique est définie comme étant l'utilisation d'organismes vivants pour contrôler ou combattre un ravageur, les organismes vivants utilisés sont restreints à quelques groupes taxonomiques. On retrouve entre autres certains arthropodes (insectes et arachnides), nématodes, protozoaires, bactéries et champignons. Ces organismes tel que *B.thuringiensis*, ennemis naturels des ravageurs visés, sont aussi nommés auxiliaires de lutte. Bien que certains auteurs considèrent l'utilisation des vertébrés comme les poissons ou les oiseaux comme agents de lutte biologique (Raymond, 1992 & Brown, 2004).

L'utilisation de la lutte biologique de *B.thuringiensis* peut aussi viser d'autres ravageurs, comme par exemple les insectes piqueurs afin de limiter la propagation de maladies (ex : virus du Nil occidental Ou malaria (Skovmand; 2004) ou les plantes invasives pouvant menacer la biodiversité (ex : Salicaire pourpre, *Lythrum salicaria*Linnaeus) (Bourchier, 2004).

## SPINOSAD

### 1. Introduction

C'est le scientifique Eli Lilly lors de vacances aux Caraïbes en 1982 en recueillant un rhum abandonné et après avoir examiné en laboratoire qui l'a découvert la présence d'une activité biologique. Trois ans plus tard, les produits de fermentation à partir de cet échantillon ont montré une activité insecticide. En 1986, les scientifiques d'Eli Lilly ont identifié l'organisme produisant des substances biologiquement actives. Ils ont déterminé que cela était une nouvelle espèce de bactéries actinomycètes et l'a nommé *Saccharopolyspora spinosa*. En un an, les scientifiques avaient identifié les métabolites actifs de *S. spinosa*.

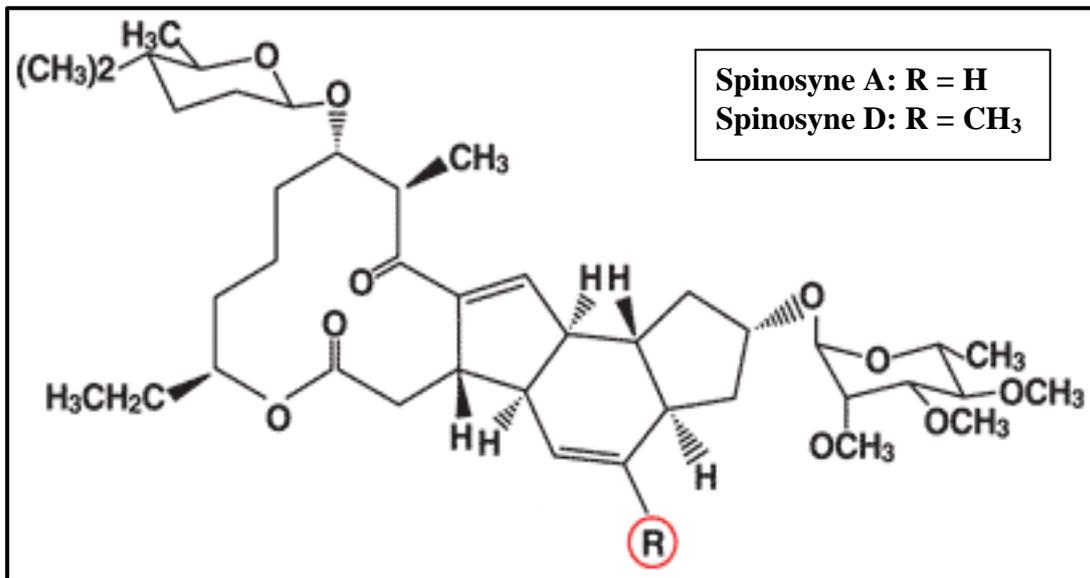
En 1989, les produits Ag division d'Eli Lilly, Elanco, a été fusionné avec la Dow Chemical Company pour former Dow Agro Sciences. Une formulation très efficace a été développée durant cinq années suite à de nombreux tests dans le monde entier.

### 2. Description

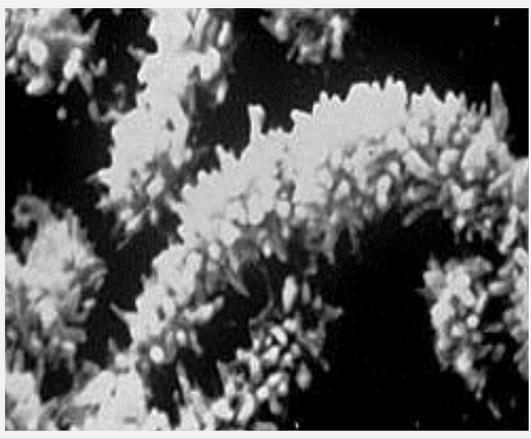
Le Spinosad est donc un biopesticide d'origine microbienne, issu de la fermentation industrielle d'une bactérie actinomycète, naturellement présente dans le sol, appelé *Saccharopolyspora spinosa*. (Actinomycetales: Pseudonocardiales)(Sparks *et al.*, 1998; Thompson *et al.*, 2000). C'est le produit d'un mélange des deux métabolites secondaires actifs la spinosyne A et la spinosyne D.

### 3. Présentation du Spinosad

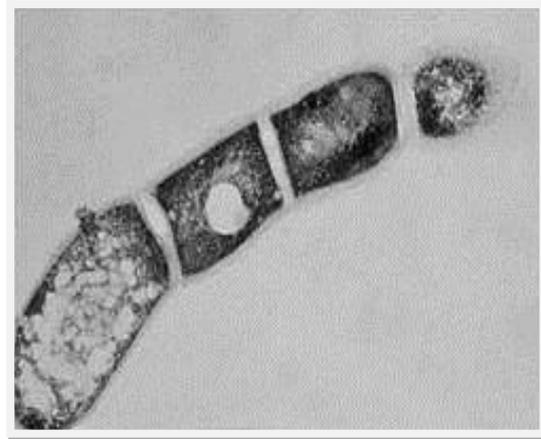
Le Spinosad est composé de deux spinosynes qui sont des lactones macrocycliques dérivées d'une fermentation aérobie (Thompson *et al.*, 2000) ; 85% de spinosynes A C<sub>41</sub>H<sub>65</sub>NO<sub>10</sub> avec un poids moléculaire de 731,98 mol et 15% de spinosynes D C<sub>42</sub>H<sub>67</sub>NO<sub>10</sub> avec un poids moléculaire de 746,0 mol (Sarfraz *et al.*, 2005)(Fig.9). La formulation commerciale utilisée est Success 480 SC (Dow Agro Sciences, Indianapolis, USA (SC: suspension concentrée 480g/l « Tracer »).



**Figure 9.** Structure chimique du Spinosad (Horowitz & Ishaaya, 2003)



**Figure 10.** Surface épineuse de la bactérie (Horowitz & Ishaaya, 2003)



**Figure 11.** Coupe longitudinale de la bactérie (Horowitz & Ishaaya, 2003)

Le Spinosad a été homologué pour la première fois en 1997, aux États-Unis dans la culture du coton (Ware, 1999). Il existe sous différentes appellations (Tracer, Laser, Credence, Spinoace, Naturalyte, Caribstar, Boomerang, Spintor et Conserve).

**Tableau 3.** Propriétés de la préparation commerciale Spinosad (Dow AgroSciences, 2003a et b)

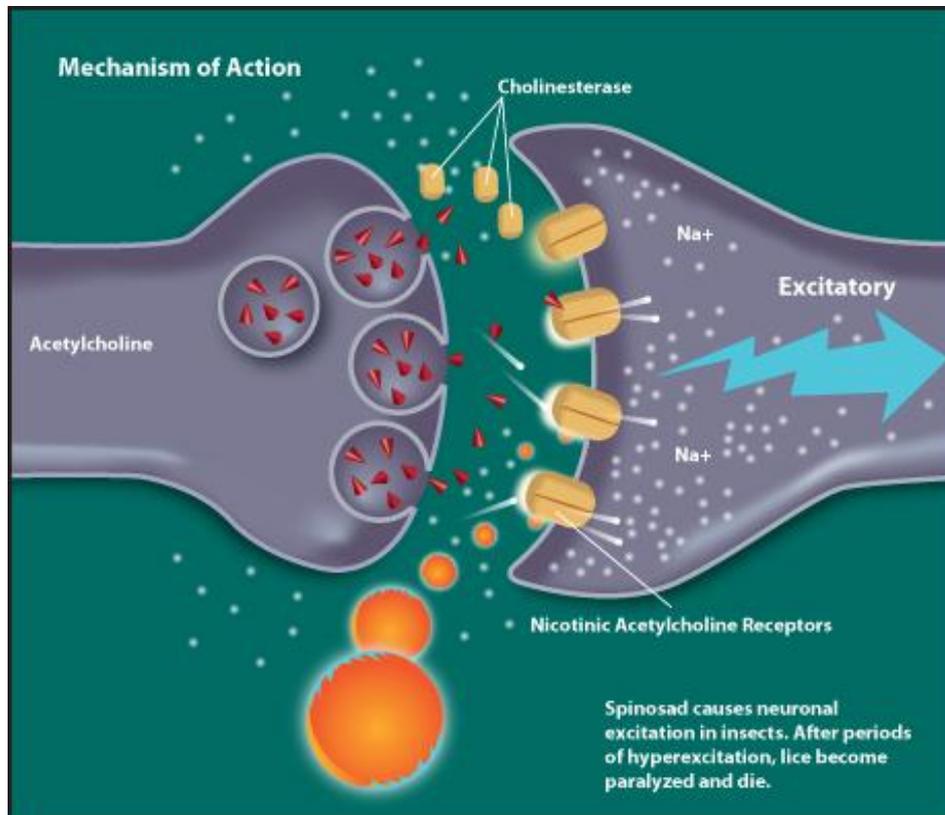
Propriétés	TRACER
<b>Couleur</b>	Blanc cassé à ocre
<b>Odeur</b>	Odeur faible de peinture au latex
<b>Suspension liquide</b>	480 g / litre de matière active
<b>pH</b>	7,69
<b>Point d'ébullition</b>	100°C
<b>Densité</b>	1,09 g/ml à 20°C
<b>Solubilité</b>	Spinosyn A soluble (pH 9) à très soluble (pH 5 à 7) Spinosyn D insoluble (pH 9) à soluble (pH 5)

#### 4. Mode d'action sur les insectes et principe actif

Le Spinosad présente un mode d'action de type neurotoxique nouveau et unique car il agit à la fois sur les récepteurs de l'acétylcholine nicotinyne (nAChRs) (Kirst, 2010 ; Rinkevich & Scott, 2012) et sur les récepteurs gabaergiques (Ishaaya *et al.*, 2001; Jacquet *et al.*, 2002). Il agit soit par contact ou par ingestion, ce dernier mode d'action s'avère être 5 à 10 fois plus efficace que par simple contact. En effet, le Spinosad cause chez l'insecte une excitation du système nerveux, mène à un arrêt de l'alimentation, une contraction musculaire involontaire puis à une paralysie. Ces effets sont une conséquence de l'activation des récepteurs nicotiques de l'acétylcholine. En effet, les cellules nerveuses émettent des signaux chimiques pour communiquer entre elles et avec les autres cellules. Pour ce faire, les cellules utilisent des neurotransmetteurs, dont l'acétylcholine qui ne peut remplir son rôle lorsque le Spinosad excite son récepteur nicotinique (**Fig.12**). Parallèlement, le Spinosad peut également agir sur les récepteurs amino butyriques, ce qui pourrait augmenter son rendement, mais cet effet n'a pas été évalué (Watson, 2001).

Ce pesticide, agissant par contact ou ingestion, est très efficace, particulièrement, contre les Lépidoptères et les Diptères (Pineda *et al.*, 2004 ; Wang *et al.*, 2009 ; Besard *et al.*, 2011). Le Spinosad est très efficace contre de nombreux insectes nuisibles et compatible avec de

nombreux ennemis naturels d'insectes pouvant être utilisés en combinaison dans un programme de gestion intégrée des ravageurs (Legwaila *et al.*, 2013).



**Figure 12.** Mode d'action du Spinosad

La dégradation du Spinosad dans l'environnement se fait via différents procédés dont l'hydrolyse, la phototransformation, photolyse et biotransformation aérobie (ARLA, 2003).

## 5. Utilisation

Le Spinosad est utilisé dans de nombreuses productions et son action est efficace contre les stades larvaires des différents ravageurs visés (**Tab.4**).

**Tableau 4.** Utilisation du Spinosad dans différentes cultures (Dow AgroSciences 2003; 2003).

Cultures	Ravageurs	Dose recommandé Max /année	Délai avant récolte
Pommiers	Tordeuse à bande oblique	182 ml/ha / 546/ha/an	7 jours
Pommes de terre	Doryphore de la pomme de terre pyrale du maïs	83-166 ml/ ha / 249 ml/ha/an 146ml/ha / 249ml/ha/an	7 jours
Légumes racines & tubercules	Fausse arpentuse du chou, piéride du chou, fausse-teigne des crucifères	182 ml/ha / 546/ha/an	3 jours
Maïs sucré	Pyrale du maïs	83 ml/ha / 166ml/ha/an	7 jours 28 jours
Légumes- feuilles	Arpentuse du chou, piéride du chou, fausse teigne des crucifères	182/ha / 546/ha /an	1-jour

## 6. Efficacité et toxicité

Les études ont montrés que le Spinosad est efficace contre les lépidoptères ravageurs comme *Ostrinianubilalis*, *Chiloagamemnon* et *Sesamiacretica* avec des  $DI_{50}$  respectives de 166, 179 et 185 ppm (Sabbour & Abde-Rahman, 2013; Wang *et al.*, 2009, 2013). D'autres lépidoptères présentent une toxicité beaucoup plus variable; en effet, des valeurs de 8.7, 0.41, 0.29, 1.001 et 31.1 ppm sont, respectivement, notées chez *Lymantria dispar* (Wanner *et al.*, 2002), *Helicoverpa armigera* ( Wang *et al.*, 2009), *Spodoptera exigua* (Wang *et al.*, 2013), *Plutella xylostella* (Li *et al.*, 2015), *Herpetogramma phaeopteralis* (Tofangsazi *et al.*, 2015). Le Spinosad est également très efficace chez les Diptères comme *Aedes albopictus* (0.3 ppm) (Bond *et al.*, 2004) et *Glossina palpalis gambiensis* (2.2 ppm) (De Deken *et al.*, 2004). La variabilité dans les valeurs des concentrations létales est expliquée par une activité insecticide du Spinosad qui est différente selon les espèces car elle est liée aux variations dans les sous-unités des nAChRs (Rinkevich & Scott, 2012). Par ailleurs, la régulation des récepteurs mais aussi les voies de signalisation intracellulaires impliquées dans la régulation des canaux ioniques peuvent aussi jouer un rôle crucial dans la différence de sensibilité des insectes aux pesticides (Lavialle-Defaix *et al.*, 2010). Il est important de noter que les différences de

sensibilité aux pesticides entre les espèces d'insectes peuvent aussi être liées à d'autres mécanismes comme le taux de pénétration à travers la cuticule, leur absorption par les insectes, le transport dans les tissus de l'organisme ou encore le métabolisme (Besard *et al.*, 2011).

## 7. La résistance

En commun avec la plupart des autres pesticides, la résistance aux lactones macrocycliques tels que le Spinosad augmente en raison de l'utilisation intensive de pesticides (Wolstenholme & Kaplan, 2012). En effet, la résistance au Spinosad a été rapportée chez plusieurs espèces d'insectes (Wolstenholme & Kaplan 2012), tels que chez le doryphore de la pomme de terre *Leptinotarsa decemlineata* (Mota-Sanchez *et al.*, 2006), la mouche domestique *Musca domestica* (Shono & Scott, 2003) et la tordeuse du tabac, *Heliothis virescens* (Young *et al.*, 2003). Chez ces espèces, devenu résistante, les études supposent que c'est du soit à un métabolisme accru (Markussen & Kristensen 2011) ou une conséquence de changements dans le site cible (Roe *et al.*, 2010). Les études menées avec les modèles espèces d'insectes *Drosophila melanogaster* ont impliqué la sous-unité nAChR dans la détermination du site cible de la résistance au Spinosad (Perry *et al* 2007; Watson *et al.*, 2010).

## 8. Effets sur les organismes non-ciblés

Le Spinosad présente, par rapport aux insecticides synthétiques classiques, une faible toxicité pour l'Homme, les mammifères, les invertébrés aquatiques et les organismes non visés (Liu *et al.*, 2000; Sarfraz *et al.*, 2005; Kirst, 2010 ; Biondi *et al.*, 2012). En effet, des tests chez les mammifères n'ont démontré aucun effet carcinogène, tératogène, mutagène ou neurotoxique de ce produit.

Cependant des études récentes notent, des effets toxiques du Spinosad sur les organismes non ciblés comme chez l'abeille *Apis mellifera* (Carvalho *et al.*, 2013). L'utilisation de pesticides peut compromettre les ennemis naturels rendant les programmes de lutte intégrée inefficace (Biondi *et al.*, 2013). D'autres études doivent être menées dans des conditions naturelles pour vérifier la compatibilité de Spinosad avec des parasitoïdes dans les programmes de lutte intégrée. Spinosad a été classé non nocif pour les prédateurs, mais modérément nocive ou nocive pour les parasitoïdes hyménoptères (Penagos *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2014.).

## 9. La lutte intégrée

En raison de sa faible toxicité pour les mammifères, les oiseaux et les poissons et de sa toxicité comparativement faible pour les organismes bénéfiques, ainsi que les auxiliaires présents dans l'environnement le Spinosad est considéré comme étant hautement compatible avec les programmes de lutte intégrée, englobant les techniques culturales, le piégeage de masse, les lâchers de trichogrammes oophages (Lebdi Grissa *et al.*, 2011).

## AZADIRACTINE

### 1. Introduction

L'azadirachtine est un extrait ou un sous-produit naturel d'une plante appelée neem, appartenant à la famille des Maliacées que l'on retrouve dans les régions chaudes (Guet, 2002). Originaire d'Asie du Sud-Est, il a été introduit en Afrique sub saharienne et même en région sahéenne par les Indiens (Vallet, 2006). Cet arbre pousse très bien dans les régions tropicales et subtropicales même en saison sèche marquée ; aujourd'hui est bien répandu dans le monde (en Australie, en Afrique, aux Antilles, en Amérique tropicale au sud des USA et de l'Europe) (Hurtel, 2007). Par ses propriétés répulsives sur les insectes, il est utilisées depuis des milliers d'années en Inde grâce à ses propriétés insecticides, médicinales et cosmétiques (Ngamo *et al.*, 2007). En médecine traditionnelle, les feuilles et les écorces sont utilisées généralement pour soigner la syphilis, la tuberculose, le rhumatisme et comme antidote contre les morsures des serpents et les piqûres des scorpions (Yengué & Callot, 2002). Très présente en Afrique et en Inde. L'azadirachtine est le principal composant actif de l'huile de neem et de neemazal, utilisé comme insecticide (Mordue *et al.*, 2005, 2010) acaricide (Denardi *et al.*, 2010) ou encore contre les crustacés ectoparasites des poissons (Banerjee *et al.*, 2014), avec une capacité d'inhibition de l'hormone responsable de la mue chez les stades larvaires et diverses (Khoualdia *et al.*, 2002).

### 2. Description

Le neem peut être classé comme suite :

#### 2.1. Classification botanique

Le neem peut être classé comme suit (Schmutterer, 1995 ; PURI, 1999):

Ordre :..... Rutales  
 Sous ordre :..... Rutineae  
 Famille :..... Meliaceae  
 Sous famille :..... Melioideae  
 Genre : ..... Azadirachta  
 Espèce : ..... Indica A. Jus

## 2.2. Présentation des différentes parties

### 2.2.1. Les feuilles

Les feuilles du neem sont disposées de manière alternée sur un long et mince pétiole (**Fig. 13**). La face dorsale est de couleur verte foncée alors que la face ventrale est plus claire. Elles mesurent entre 20 et 40 cm de long et sont plus denses à l'extrémité des branches. Les feuillets, variables dans leurs formes notamment au niveau de l'axe central, varient entre 7 et 15 cm, et dépassent parfois 17 cm sur un même pétiole (Puri, 1999).



**Figure 13.** Feuilles du neem

### 2.2.2. Les fleurs

Les fleurs du neem (**Fig. 14**) sont petites, blanches, et soutenues par un faisceau auxiliaire qui peut aller jusqu'à 25 cm de long. Elles contiennent une sève qui dégage une odeur qui attire les abeilles (NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 1992). Les inflorescences, qui s'embranchent jusqu'au troisième degré, soutiennent jusqu'à 150 à 250 fleurs (Gruber, 1991). Chaque fleur peut faire 5 à 6 mm de long et 8 à 11 mm de large (Schmutterer, 1995)



**Figure 14.** Fleurs du neem

### 2.2.3. Les fruits

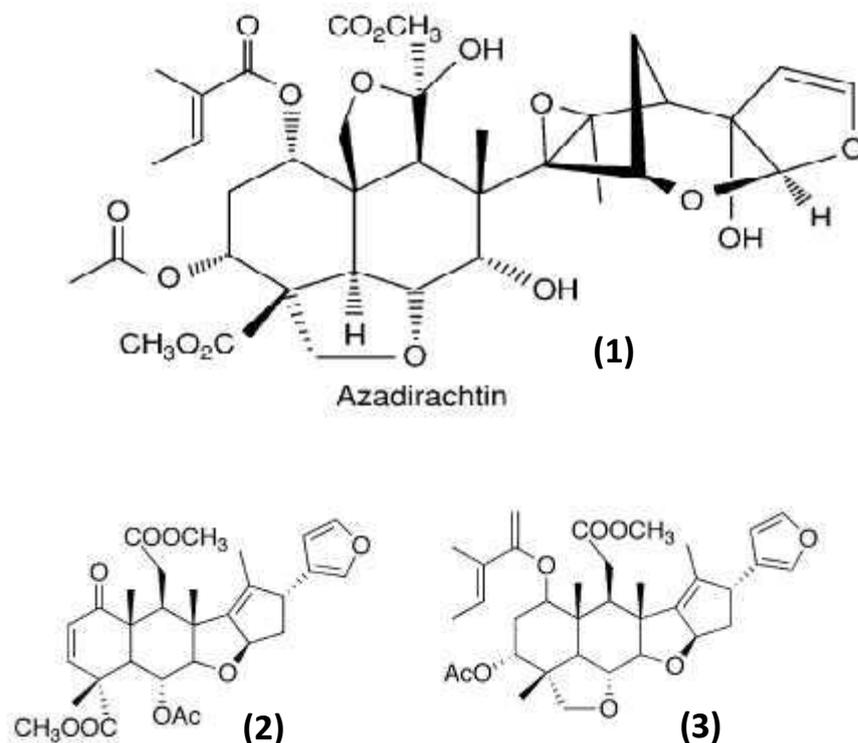
Le fruit du neem est lisse, et de forme ellipsoïdale. Il mesure 1,4 à 2,8 cm de long et 1,0 à 1,5 cm de large (Schmutterer, 1995). Il ressemble à celui de l'olivier (**Fig.15**). Avant la maturité il est vert, et devient ensuite jaune à jaune verdâtre. Il comporte une pulpe en fermant une graine. Sapeau (exocarpe) est mince, lisse, aigre et douce. Elle mesure 0,3 à 0,5 cm de profondeur. A l'intérieur se trouve la coquille (endocarpe). Elle est blanche, assez dure, avec deux noyaux ovales de couleur brun. L'arbre commence à fructifier parfois dès l'âge de 2 ans, le plus souvent au bout de 3 à 5 ans.



**Figure 15.** Fruit du neem

### 3. Composition et propriété chimique

L'extraction des différentes espèces chimiques (comme les acides gras et les terpénoïdes) contenues dans le neem met en évidence la présence de nombreux principes actifs, dont les actions complémentaires sont à l'origine des propriétés insecticides du neem. Selon Mouffoket *al.* (2008), les extraits aqueux de graines de neem renferment plus de 168 composés constitués d'un groupe de 7 substances proches incluant azadirachtine. L'azadirachtine, triterpénoïde, est le limonoïde (**Fig.16**) le plus puissant et actif dans les grains de neem. Les autres limonoïdes comme la salanine et la nimbine, sont responsables des effets antiappétants (Morgan, 2009). L'azadirachtine A est considéré comme le principal composé à propriétés insecticides du neem.



**Figure 16.** Structure chimique de l'azadirachtine (1) ; nimbine (2) ; salanine (3)  
(Mordue *et al.*, 2005 ; Morgan, 2009 ; Dhadialla *et al.*, 2005).

### 3.1. Forme commercialisable

Selon Abedi *et al.*, 2014 ; da Costa *et al.*, 2014, l'azadirachtine présente sous deux formes commercialisables ; qui sont l'huile de Neem et le Neemazal.

#### 1. Huile de Neem :

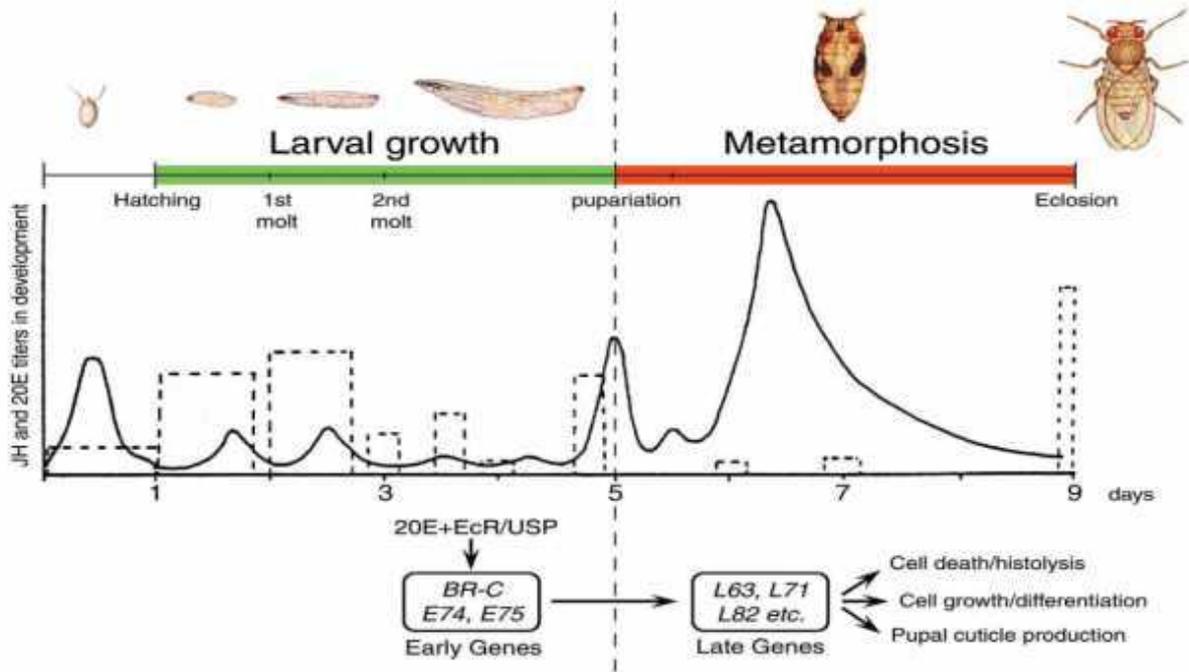
L'azadirachtine commercialisée sous cette appellation Huile de Neem comporte trois substances actives (nimbine : 0,4 %, salanine 0,6% et azadirachtine 0,3 %, Emulsion Concentrée (EC); firme : H3D Terraneem-France). La formule chimique de la nimbine, l'alannine et l'azadirachtine est de  $C_{30}H_{36}O_9$  (540 g/mol),  $C_{34}H_{44}O_9$  (596 g/mol) et  $C_{35}H_{44}O_{16}$  (720,7 g/mol) respectivement. Cette formulation, insoluble dans l'eau, correspond à un liquide jaune avec une odeur caractéristique du Neem.

## 2. NeemAzal :

L'azadirachtine commercialisée sous le nom de NeemAzal-T/S comprend seulement de l'azadirachtine (1% d'azadirachtine ; Emulsion Concentrée (EC); firme : TrifolioMGmbH, Lahnau, Germany) ; cette formulation, insoluble dans l'eau, correspond à un liquide brun avec une odeur caractéristique du neem.

### 2. Mode d'action sur les insectes et principe actif

Chez les insectes, le développement et la reproduction sont contrôlés par des facteurs externes (température, nutrition, photopériode) mais aussi internes comme les hormones et les neurohormones (Gilbert *et al.*, 2002; Lafont *et al.*, 2005; Gruntenko & Rauschenbach, 2009; Hiruma & Kaneko, 2013). Les deux principales hormones, agissant en coordination dans ces processus physiologiques, sont les ecdystéroïdes et l'HJ. Les corps allates, à l'origine de la synthèse de l'HJ, sont régulés par des neurohormones activatrices, l'allatotropine ou inhibitrice, l'allatostatine (Bellés & Maestro, 2005 ; Toivonen & Partridge, 2009). L'HJ, libérée dans l'hémolymphe, est transportée vers les tissus cibles (Cassier *et al.*, 1997). Les ecdystéroïdes sont sécrétés, par les glandes prothoraciques (Mc Brayer *et al.*, 2007; Cranna & Quinn, 2009). L'ecdysone (E), prohormone, libérée dans l'hémolymphe, est convertie en hormone active ou 20- hydroxyecdysone (20E), la 20E, contrôle la reproduction (Toivonen & Partridge, 2009), l'embryogénèse et le développement post-embryonnaire (Cranna & Quinn, 2009 ; Yamanaka *et al.*, 2013) ; la 20E initie les différentes mues mais la nature de la mue (larvaire ou nymphale) est déterminée par la présence ou l'absence de l'HJ dont le rôle est le maintien des caractères larvaires et l'inhibition de la métamorphose (Cassier *et al.*, 1997; Dubrovsky, 2005; Cheng *et al.*, 2014). Dès l'apparition du stade adulte, la 20E et l'HJ agissent ensuite de manière conjointe pour le contrôle de la reproduction (Gruntenko & Rauschenbach, 2009 ; Yamanaka *et al.*, 2013).



**Figure 17.** . Taux d'hormone juvénile (JH) et de 20-hydroxyecdysone (20E) au cours du développement de *D. melanogaster* (Dubrovsky, 2005). La 20 E initie toutes les transitions de développement, tels que de la larve à la larve, de la larve à la nymphe et de la nymphe à l'adulte tandis que l'HJ détermine le type de transition et la nature de mue ; Pp : prépuces

L'azadirachtine, structurellement semblable aux ecdysones d'insectes, inhibe l'hormone prothoracicotrope (Schmutterer, 1990; Mordue & Blackwell, 1993) et l'hormone allatotrope (Banken & Stark, 1997), stimulant, respectivement, les ecdystéroïdes et l'HJ; l'azadirachtine, agit donc comme un régulateur de croissance en perturbant par ses effets antagonistes sur les hormones précitées, les processus physiologiques et le cycle hormonal, induisant à des malformations dans le processus de mue et empêchant son développement normal et sa croissance optimale et la reproduction (Mordue *et al.*, 2005; Morgan, 2009). L'azadirachtine peut également agir par des effets antiappétants sur le mouvement naturel de l'intestin, provoquant une paralysie et le dépérissement des organismes cibles (Stark *et al.*, 1990; Schmutterer & Singh, 1995; Andreu *et al.*, 2000; Senthil-Nathan *et al.*, 2004, 2005, 2006). Ces effets ont été observés chez plusieurs types de familles d'insectes; les Lépidoptères (papillons), les Diptères (mouches, taons, moustiques, ...), les Orthoptères (sauterelles, criquets, ...), les Hyménoptères (très faible pour les abeilles) et certaines espèces de pucerons. La DL50 (Dose provoquant 50% de mortalité dans la population d'insectes) varie selon les espèces de 1 à 4g d'azadirachtine par gramme d'insecte (Mouffok *et al.*, 2008). L'extrait aqueux de graines de neem a une toxicité faible pour les Mammifères.

L'azadirachtine est rapidement absorbée par les tissus végétaux, ce qui lui assure une action systémique efficace (Bernard et *al.*, 2008 ; Kleeberg, 2008).

### **3. Utilisations et Spectre d'activité**

Parallèlement à son action insecticide, l'azadirachtine est aussi utilisée en médecine traditionnelle, en Asie et en Afrique, contre la malaria (paludisme), le diabète, les ulcères, l'acné et les mycoses (Koriem, 2013); l'azadirachtine semble présenter aussi, chez les Mammifères, des effets immunostimulants, antimicrobiens, antiviraux et contraceptifs (Koriem, 2013). Il présente ainsi un large spectre d'efficacité pour les plantes, les hommes et pour les animaux.

#### **5.1. Chez les plantes**

En émulsion avec de l'eau et par pulvérisation, l'huile de neem sert de fertilisant, de stimulateur de défenses naturelles, dans des cultures légumières, fruitières et forestières. Les composants naturels du neem permettent des applications très diverses. Dans la production agricole ou forestière, l'huile de neem permet la mise en place de procédés efficaces et respectueux de l'environnement pour les cultures nécessitant des pesticides (parasites), des fongicides (champignons) et des insecticides (insectes). L'action biologique des extraits du neem permet de lutter contre plus de 300 espèces d'insectes ravageurs, dont certaines sont résistantes aux pesticides chimiques (Bernard et *al.*, 2008).

#### **5.2. Chez les hommes**

En médecine allopathique, homéopathique et dans la médecine traditionnelle d'Inde, les extraits de neem sont utilisés pour un grand nombre de pathologies, soins dermatologiques, respiratoires, digestifs, etc. Elle a également des propriétés antiseptiques. Dans l'industrie cosmétologique, l'huile de neem est incorporée dans des crèmes, huiles corporelles, shampooings, répulsifs, protections solaires et dentifrices (Anonyme, 2011). L'azadirachtine A selon des chercheurs n'aurait pas d'effet nocif sur la santé humaine.

#### **5.3. Chez les animaux**

Utilisé aussi dans l'hygiène et les soins vétérinaires : l'huile de neem vaporisée permet de désinfecter les étables et les écuries par son action fumigatoire. En shampooing, utilisé pour sa capacité répulsif et de soin pour le poil (Anonyme, 2011).

#### 4. Efficacité et toxicité

L'efficacité et la toxicité de l'azadirachtine contre les insectes ont été citées par divers travaux (Mordue *et al.*, 2005); ce pesticide interfère avec la chemo réception et cause des dommages aux tissus des insectes tels que les muscles, le corps gras et le tube digestif (Capinera *et al.*, 2007). L'azadirachtine est particulièrement actif sur les cellules en division par blocage de la polymérisation des microtubules (Mordue *et al.*, 2010). Ce pesticide naturel induit l'apoptose et a une action antiproliférative en arrêtant le cycle cellulaire chez *Spodoptera litura* et *Spodoptera frugiperda* (Huang *et al.*, 2011; Shu *et al.*, 2015; Wang *et al.*, 2015). L'azadirachtine interagit avec les récepteurs de l'acide rétinoïque et exerce des réponses anti-inflammatoires et anti-métastatiques dans les lignées cellulaires humaines (Lim, 2014). Cette molécule affecte le stress et l'immunité chez *Plodia interpunctella* (Lynn *et al.*, 2012), *Aedes aegypti* ou encore chez *Spodoptera littoralis* (Koodalingam *et al.*, 2014; Shaurub *et al.*, 2014). L'azadirachtine interfère avec le système nerveux central (SNC) chez la drosophile par l'inhibition de la transmission cholinergique excitatrice *via* les canaux calciques (Qiao *et al.*, 2014); l'expression des gènes (liés au développement) se trouve aussi modifiée par l'azadirachtine chez *P. interpunctella* (Lynn *et al.*, 2012) et chez *D. melanogaster* (Lai *et al.*, 2014). Ainsi, il a été listé différents effets de l'azadirachtine mais le mécanisme d'action de ce pesticide reste encore inconnu (Wang *et al.*, 2014).

Les effets antagonistes directs de l'azadirachtine, sur la signalisation de la 20 hydro excydysone (20E), impliquée dans le développement comme les mues et la métamorphose ont été mis en évidence dans des travaux antérieurs (Mordue *et al.*, 2005); cependant, les effets antagonistes sur le stress oxydatif, indirectement lié à la signalisation de la 20 E ou encore sur la reproduction restent à préciser ; en outre, il apparaît que la toxicité de l'azadirachtine semble différente d'une formulation commerciale à une autre, (Abedi *et al.*, 2014 a; da Costa *et al.*, 2014).

## 5. Biodégradabilité

Ces composés sont facilement biodégradés par voie enzymatique. La durée de demivie des composés végétaux est particulièrement courte, allant de quelques heures à quelques jours (Isman, 2005 & Kleeberg, 2006).

## 6. Résistance

Les pesticides naturels, à l'instar de toute molécule exogène à l'organisme, sont potentiellement capables d'induire un mécanisme de résistance ; en effet, plusieurs travaux ont cité des phénomènes de résistance au Spinosad chez *Tuta absoluta*, *Musca domestica* et *Spodoptera litura* (Reyes *et al.*, 2012; Khan *et al.*, 2014 ; Rehan & Freed, 2014) mais aussi aux néonicotinoïdes (imidacloprid) (Kaufman *et al.*, 2010; Abbas *et al.*, 2012; Kavi *et al.*, 2014 ; Matsuura & Nakamura, 2014 ; Abbas *et al.*, 2015) ; Jusqu'à ce jour, plusieurs travaux antérieurs ont montré l'efficacité insecticide du neem et l'ont présentée comme la principale source de pesticides botaniques (Isman *et al.*, 1991 ; Jarvis *et al.*, 1999 ; Boeke, 2002, Boeke *et al.*, 2004 ; Koul, 2004 ; Lesueur, 2006 ; Aminatou, 2009). Le neem n'a aucun effet néfaste sur les insectes ravageurs aucune résistance n'est notée envers l'azadirachtine A (Mordue *et al.*, 2005 ; Wang *et al.*, 2014). Cependant, la littérature récente note des contradictions sur son innocuité vis-à-vis des organismes non cibles et la possibilité de risques futurs ne doit pas être ignorée (Qi *et al.*, 2001; Medina *et al.*, 2003; Aggarwal & Brar, 2006 ; Cordeiro *et al.*, 2010; Scudeler & Santos, 2013 ; Gontijo *et al.*, 2015). Ainsi il est noté des effets toxiques chez certains insectes non cibles tels que chez *Ceraeochrysa claveri*, *Neoseiulus baraki*, *Amphiareus constrictus* et *Bombus terrestris* (Scudeler *et al.*, 2014; Lima *et al.*, 2015; Gontijo *et al.*, 2015 ; Barbosa *et al.*, 2015). A l'opposé, chez les organismes aquatiques, l'azadirachtine est citée comme molécule, relativement inoffensive, avec un potentiel immunostimulant et serait un agent prometteur contre les parasites (Kumar *et al.*, 2013; Banerjee *et al.*, 2014).

## 7. Lutte intégrée

Cette lutte consiste en la combinaison de plusieurs méthodes de luttés afin de réduire ou de maintenir la population des insectes nuisibles en dessous d'un seuil de leurs dégâts (Cruz *et al.*, 2002). Le but visé par cette lutte est la réduction du nombre d'interventions avec des pesticides tout en minimisant leurs effets secondaires (Panneton *et al.*, 2000). Pour aboutir à un résultat efficace sans danger pour l'homme et pour l'environnement, la combinaison des

auxiliaires (parasitoïdes, prédateurs), des pesticides sélectifs, des propriétés de structures de stockage et voire la sélection des variétés résistantes est plus ou moins réalisée (Seck, 1991). En effet, le neem permet de contrôler les attaques d'insectes ravageurs mais aussi le neem se révèle non toxique à l'égard des parasitoïdes, insectes auxiliaires, bénéfiques (Vallet, 2006) qu'il convient de préserver. L'emploi du neem en cultures maraîchères s'intégrerait donc parfaitement dans les stratégies de lutte intégrée développées à travers le monde.

## CONCLUSION

En conclusion, les biopesticides constituent une alternative intéressante face aux insecticides conventionnels. Le choix de ces molécules, relativement récentes, permet de répondre non seulement aux problèmes liés à la résistance vis à vis des insecticides classiques, mais s'accorde aussi aux principes de développement durable, du fait de leur faible impact écotoxicologique. Parmi ces molécules, biodégradables et à faible impact environnemental se trouvent le *Bacillus thuringiensis*, Spinosad et l'azadirachtine. Le *B.thuringiensis*, est le plus utilisé en agriculture biologique : il représente à lui seul près de 95% des biopesticides. Aucun mécanisme de résistance aux toxines du Bt n'a encore été décrit chez les diptères par contre nombreux mécanismes de résistance aux toxines Cry ont été décrits chez les Lépidoptères. *B.thuringiensis* présente une faible toxicité pour les abeilles. Le Spinosad possède un profil toxicologique relativement intéressant lorsqu'il est comparé aux insecticides de synthèse communs. De façon générale, il est sûr envers les organismes non-ciblés. Par contre, la résistance au Spinosad a été enregistrée chez plusieurs espèces qui augmente en raison de l'utilisation intensive de ce pesticide. Aussi, les possibles effets délétères que le Spinosad peut engendrer chez les hyménoptères parasitoïdes doivent être fortement considérés lors de l'utilisation de ce biopesticide. Enfin, l'azadirachtine, citée comme molécule relativement inoffensive, avec un potentiel immunostimulant et serait un agent prometteur contre les parasites et aucune résistance n'est notée envers cette molécule. En effet la biodégradation effective mais aussi l'absence ou la faible toxicité envers les espèces non visées font de cette molécule un insecticide privilégié et recommandé.

**RESUME**

Notre étude a porté sur l'impact biologique et toxicologique de trois biopesticides : *B.thuringiensis*, Spinosad et l'azadirachtine. Le *B.thuringiensis* est une bactérie aérobie naturellement présente un peu partout dans la nature, pouvant affecter l'insecte par sa capacité de synthétiser des inclusions cristallines qui en produisant des toxines cry entraîne une lyse des cellules épithéliales de l'intestin provoquant une paralysie. Le **Spinosad**, provenant de la fermentation d'une bactérie Actinomycète *Saccharopolyspora spinosa* (Mertz & Yao, 1990), est composé de deux métabolites biologiquement actifs les spinosynes A et D. Ce pesticide, neurotoxique, présente un mode d'action unique, car il agit à la fois sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChRs) et sur les récepteurs gabaergiques (GABA). Le Spinosad agit, par contact et ingestion, et différents travaux ont montré son efficacité chez les insectes tels que les Lépidoptères. L'**azadirachtine** provient des grains d'*Azadirachta indica*, arbre, à croissance rapide, de la famille des Meliaceae originaire d'Asie du Sud-Est. Il est structurellement semblable aux ecdysones d'insectes, inhibe l'hormone prothoracicotropique et l'hormone allatotropique, stimulant, respectivement, les ecdystéroïdes et l'HJ; l'azadirachtine, agit donc comme un régulateur de croissance en perturbant par ses effets antagonistes sur les hormones précitées, les processus physiologiques comme le développement et la reproduction. En effet, tous ces trois biopesticides, présentent une faible toxicité pour les organismes non cibles, ils sont non polluants ; cependant, il est noté que le Spinosad est capable d'induire un mécanisme de résistance ; chez *Tuta absoluta*, *Muscadomestica* et *Spodopteralitura*, avec un degré moindre pour le *B.thuringiensis*. Néanmoins, à l'heure actuelle, aucune résistance n'est notée envers l'azadirachtine A. Ainsi, l'azadirachtine semble constituer un pesticide naturel à encourager.

**Mots clé :** biopesticides, *B. thuringiensis*, Spinosad, azadirachtine, toxicité, efficacité.

## ABSTRACT

*Our study focused on the biological and toxicological impact of three biopesticides: Bacillus thuringiensis, spinosad and azadirachtin. B. thuringiensis is an aerobic bacterium naturally found everywhere in nature, it may affect the insect by its ability to synthesize crystalline inclusions which by producing Cry toxins cause lysis of the epithelial cells of the intestine causing paralysis. Spinosad, coming from the fermentation of bacteria actinomycete Saccharopolysporaspinososa (Mertz & Yao, 1990), consists of two biologically active metabolites spinosyns A and D. This pesticide, neurotoxic, has a unique mode of action, since it acts both on nicotinic acetylcholine receptors (nAChRs) and GABAergic receptors (GABA). Spinosad acts by contact and ingestion, and various studies have shown its effectiveness in insects such as Lepidoptera. Azadirachtin comes from Azadirachta indica's grains, tree with rapid growth of the family Meliaceae native to Southeast Asia. It is structurally similar to insect ecdysone, inhibits prothoracicotropic hormone and allatotropique hormone, stimulating, respectively, ecdysteroids and HJ; azadirachtin, thus acts as a growth regulator by disrupting physiological processes such as development and reproduction, due to its antagonistic effects on the aforementioned hormones. Indeed, all three biopesticides, have low toxicity to non-target organisms, they are non-polluting; however, it is noted that spinosad is able to induce a resistance mechanism; at Tuta absoluta, Muscadomestica and Spodopteralitura, with a lesser degree for the B. thuringiensis. Nevertheless, at present, no resistance is noted to azadirachtin A. Thus, azadirachtin seems a natural pesticide to encourage.*

*Keywords: biopesticides, B. thuringiensis, spinosad, azadirachtin, toxicity, efficacy.*

## المخلص

ركزت دراستنا على التأثير البيولوجي وسمية المبيدات الحيوية الثلاثة: *Bacillus thuringiensis*, *azadirachtin* و *B.thuringiensis, spinosad* بطبيعية الحال هي بكتيريا هوائية وجدت في كل مكان في الطبيعة، والتي يمكن أن تؤثر على الحشرات من خلال قدرتها على تجميع البروتينات البلورية فتنج السموم صدمة حلولية تسبب تحلل الخلايا الظهارية في الأمعاء مما يسبب الشلل .

*Spinosad* وهو مبيد طبيعي عبارة عن مستخلص من بكتيريا تدعى *Saccharopolysporaspinososa* Mertz & Yao, (1990) ويتكون من اثنين من نواتج الأيض نشطة بيولوجيا *Dspinosyn A* وهذا المبيد لديه طريقة فريدة للعمل لأنه يعمل كناقل السمية من خلال مستقبلات النيكوتين أستيل (nAChRs) ومستقبلات (GABA) *GABAergic*. وقد أظهرت أعمال *Spinosad* عن طريق الاتصال والابتلاع، ومختلف الدراسات فعاليته في الحشرات مثل *Lépidoptères*

أما مبيد *azadirachtine* فهو زيت مستخلص من بدور شجرة النيم. نموه سريع فهو من عائلة *Meliaceae* أصلية في جنوب شرق آسيا وهو مشابه هيكليا لأكسايون الحشرات. ويحول هرمون *prothracicotropic* و *allotropique* هرمون منشط على التوالي *ecdysteroids* و *HJ*, *azaderachtine* يعمل كمنظم نمو عن طريق تعطيل آثاره العدوانية على الهرمونات سالفة الذكر، والعمليات الفسيولوجية مثل التنمية والتكاثر. والواقع أن جميع المبيدات الحيوية الثلاثة لها سمية منخفضة للكائنات غير المستهدفة، فهي غير ملوثة للبيئة. ومع ذلك، تجدر الإشارة إلى أن *spinosad* قادر على إحداث آلية المقاومة. في حفار أوراق البندورة، الذبابة المنزلية وورق القطن *litura*، بدرجة أقل للبكتيريا *B.* ومع ذلك، في الوقت الحاضر *azaderachtin* هو المبيد الأكثر استعمالا

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbas, N., Khan, H. & Shad, S.A. 2015.** Cross-resistance, stability, and fitness cost of resistance to imidacloprid in *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Parasitol Res* **114**(1): 247-255.
- Abbas, N., Shad, S.A. & Razaq, M. 2012.** Fitness cost, cross resistance and realized heritability of resistance to imidacloprid in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pestic Biochem Physiol.* **103**(3): 181-188.
- Abedi, Z., Saber, M., Vojoudi, S., Mahdavi, V. & Parsaeyan, E. 2014 b.** Acute, sublethal and combination effects of azadirachtin and *Bacillus thuringiensis* on the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera*. *J Insect Sci.* **14**:30.
- Abedi, Z., Saber, M., Gharekhani, G., Mehrvar, A. & Kamita, S.G. 2014 a.** Lethal and sublethal effects of azadirachtin and cypermethrin on *Habrobracon hebet* (Hymenoptera: Braconidae). *J Econ Entomol.* **107**(2): 638- 645.
- Abhilash, P.C. & Singh, N. 2009.** Pesticide use and application: An Indian scenario. *J.Hazard Mater.* **165**(1-3): 1-12.
- Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire (ARLA).2004.** [Ressource électronique] LÉDÉN et, site pilote de l'ARL A. [Consulté le 15septembre2004] Peut être consulté au : <http://www.eddenet.pmra-arla.gc.ca/4.0/4.1.asp>
- Aggarwal, N. & Brar, D.S. 2006.** Effects of different neem preparations in comparison to synthetic insecticides on the whitefly parasitoid *Encarsia Sophia* (Hymenoptera: Aphelinidae) and the predator *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae) on cotton under laboratory conditions. *J Pest Sci.* **79**(4): 201-207
- Ahmad, M. & Arif, M.I. 2010.** Resistance of beet armyworm *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae) to endosulfan, organophosphorus and pyrethroid insecticides in Pakistan. *Crop Prot.* **29**(12): 1428-1433.
- Aminatou, B. 2009.** Inventaire des phytoinsecticides pour la protection des grains au cours du stockage contre les ravageurs dans la zone sahélienne (cas de l'Extrême Nord du Cameroun). *Rapport final, Réseau Anafe/Raft-AHT.* 32p

- Anderson-Prouty, A.J. & Albersheim P. 1975.** Host-pathogen interactions: VII. Isolation of a pathogen-synthesized fraction rich in glucan that elicits a defense response in the pathogen's host. *Plant Physiol.* **56**(2) : 286-291.
- Andreu, J., Albert, S. & Magi, R. 2000.** Antifeedant activity of *Melia azadirachta* and *Azadirachta indica* on larvae of *Sesamia nonagrioides*. *Phytoparasitica*. **28**(4): 311-319.
- Anonyme c : <http://fr.Wikipedia.org/eucalyptus>, consulté le 24/11/2011.
- Anonyme d : <http://www.cnrtl.fr/definition/gombo> , consulté le 22/08/2011.
- Aquiloni, L. & Gherardi, F. 2010.** The use of sex pheromones for the control of invasive populations of the crayfish *Procambarus clarkia*: a field study. *Hydrobiologia*, **649**, 249-254.
- Aribi, N., Smaghe, G., Lakbar S., Soltani-Mazouni, N. & Soltani, N. 2006.** Effects of pyriproxyfen, a juvenile hormone analog, on development of the mealworm, *Tenebrio molitor*. *Pest Biochem Physiol.* **84** (1): 55-62.
- Aribi, N., Quennedy, A., Soltani, N. & Delbecq, J.P. 1999.** L'initiation de la métamorphose chez *Zophobas atratus* (Coléoptera : Tenebrionidae) : effets des ligatures et des régulateurs de croissance. *Ann Soc Entomol Fr.* **35**: 59-64.
- Bailey, K., Boyetchko S. & Längle T. 2010.** Social and economic drivers shaping the future of biological control: a Canadian perspective on the factors affecting the development and use of microbial biopesticides. *Biol. Control.* **52** : 221-229.
- Banerjee, A., Manna, S. & Saha, S.K. 2014.** Effect of aqueous extract of *azadirachta indica* A. Juss (neem) leaf on oocyte maturation, oviposition, reproductive potentials and embryonic development of a freshwater fish ectoparasite *Argulus bengalensis* Ramakrishna, 1951 (Crustacea: Branchiura). *Parasitol Res.* **113**(12): 4641-4650.
- Banken, J.A.O. & Stark, J.D. 1997.** Stage and age influence on the susceptibility of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) after direct exposure to Neemex, a neem insecticide. *J Econ Entomol.* **90** (5): 1102-1105.
- Barbosa-Corona, J.E., Contreras, J.C., Velázquez-Robledo R., Bautista-Justo, M., Gómez-Ramírez, M., Cruz-Camarillo, R. & Ibarra, J.E. 1999.** Selection of chitinolytic strains of *Bacillus thuringiensis*. *Biotechnology Letters.* **21** (12): 1125-1129.

- Barbosa, W.F., De Meyer, L., Guedes, R.N. & Smagghe, G. 2015.** Lethal and sublethal effects of azadirachtin on the bumblebee *Bombus terrestris* (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology*. **24**(1): 130-142.
- Bechtel, D.B., Bulla, L.A. 1982.** L'analyse ultra structurale du développement de la membrane pendant *Bacillus thuringiensis* sporulation. *J Ultra struct Res*. **79**: 121-132.
- Bechtel, D.B., Kramer, K.J., Shethna, Y.I., Aronson, A.I., Fitz James, P.C. 1980.** Ultra structure, la physiologie et la biochimie de *Bacillus thuringiensis*. *Crit RevMicrobio*. 147-204.
- Besard, I., Mommaerts, V., Abdu-Alla, G. & Smagghe, G. 2011.** Lethal and sublethal side effect assessment supports a more benign profile of spinetoram compared with spinosad in the bumble bee *Bombus terrestris*. *Pest Manag Sci* .**67**(5): 541-547.
- Bellé, X. & Maestro, J.L. 2005.** Endocrine peptides and insect reproduction. *Invertebr Repr Dev*. **47**(1): 23-37.
- Bernard, R. Philogène, Cathérine, Regnault-Roger et Charles Vincent, 2008.** Biopesticides d'origine végétale : bilan et perspectives. In *Wlsh-Tipioi-Towljicityppol*, 2e édition, Edition Tec & Doc, pp1-24.
- Boeke, S. J. 2002.** Traditional african plant products to protect stored cowpeas against insect damage; the battle against the beetle. *Ph D thesis, Wageningen University*. **151** p.
- Boeke, S.J. Boersma, M.G. Alink, G.M. VanLoon, J.J.A. Huis, A Dicke, M. Rietjens, I.M.C.M. 2004.** Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides, *Journal of Ethnopharmacology*. **94**: 25-41.
- Boiteau, G. communication personnelle .2004.** Débat actuel sur l'acceptation du Bt en production biologique. Date de la communication : mars 2004.
- Bourchier, R. 2004.** Bio contrôles des plantes nuisibles et des espèces invasives. Dossiers Biocontrôle, décembre, p. 2.
- Bravo, A ., Gill, S. & Soberon, M . 2007.** Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. *Toxico* **4n9**. (4),423-435.

- Bravo, A., 1. Gomez et al. 2013.**"Evolution of *Bacillus thuringiensis* Cry toxins insecticidal activity." *Microbial biotechnology*. **6**(1): 17-26
- Bruce, T.J.A. 2010.**Tackling the threat to food security caused by crop pests in the new millennium. *Food Sec. 2*: 133-141.
- Bulla, L.A., Bechtel, D.B., Kramer, K.J., Shethna, Y.I., Aronson, A.I., Fitz James, P.C. 1980.**Ultra structure, la physiologie et la biochimie de *Bacillus thuringiensis*. *Crit Rev Microbiol. 8*:147-204.
- Bulla, L.A., Jr., D.B. Bechtel et al. 1980.** "Ultrastructure, physiology, and biochemistry of *Bacillus thuringiensis*." *Critical reviews in microbiology 8*(2): 147-204.
- Cantrell, C.L., Dayan, E.F. & Duke, S.O. 2012.** Natural products as sources for new pesticides. *J Nat Prod.***75**(6): 1231-1242.
- Cantrell, C.L., Dayan, E.F. & Duke, S.O. 2012.**Natural products as sources for new pesticides. *J Nat Prod.***75**(6): 1231-1242.
- Capinera, J.L. & Froeba, J.G. 2007.** Behavioral responses of *Schistocerca Americana* (Orthoptera: Acrididae) to Azadiractin (Neem)-treated host plants. *J Econ Entomol.* **100**(1): 117-122.
- Casida, J.E. & Durkin, K.A. 2013.**Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu Rev Entomol.* **58**: 99-117.
- Cassier, P., Des camps, M., La font, R., Porchet, M. & Soyez D. 1997.** La reproduction des invertébrés : Stratégies, modalités et régulation intérêt fondamental et appliqué. *Edition Masson. Paris*, 354.
- Chandler, D. et al. 2011.***The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B.* **366**(1573), 1987-1998.
- Cheng, D., Peng, J., Meng, M., Wei, L., Kang, L., Qian, W. & Xia, Q. 2014.**Microarray analysis of the juvenile hormone response in larval integument of the silkworm, *Bombyx mori*. *Int J Genomics.* ID 426025.

- Chen, X. et al . 2002.** Comparative analysis of the complete genome sequences of *Helicoverpa zea* and *Helicoverpa armigera* single-nucleocapsid nucleopolyhedroviruses. *J. Gen. Virol.* **83**, 673-684.
- Comoretto, L. & Chiron, S. 2005.** Comparing pharmaceutical and pesticide loads into a small Mediterranean river. *Sci Total Environ.* **349**(1-3): 201-210.
- Cordeiro, E.M.G., Corrêa, A.S., Venzon, M. & Guedes, R.N.C. 2010.** Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. *Chemosphere.* **81**(10): 1352–1357.
- correia, A. et al. 2013.** Microscopic analysis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) embryonic development before and after treatment with azadirachtin, lufenuron, and deltamethrin. *J. Econ. Entomol.*, **106**(2), 747-755.
- Costa, J.T., Forim, M.R., Costa, E.S., De Souza, J.R., Mondego, J.M. & Junior, A.L.B. 2014.** Effects of different formulations of neem oil-based products on control *Zabrotessubfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans. *J Stored Prod Res.* **56**(1): 49-53.
- Cranna, N. & Quinn, L. 2009.** Impact of steroid hormone signals on *Drosophila* cell cycle during development. *Cell Division.* **4**: 3.
- Cruz Renon., Degune, J.P., Carburet, A., Hekimian, C. & Ahmadi, N., 2002.** Lutte contre les ravageurs des cultures. *Memento de l'agronomie* : **100-123**.
- Daas- Maamcha, O., Houd-Chaker, K., Maryam, S., Dass, T. & Scaps, P. 2013.** Effects of an ecdysteroid analog (RH-0345) on the ovarian and testicular components of *Eupolybothrus nudicornis* (Myriapoda : Chilopoda). *Jordan J Biol Sci.* **6**(2): 91-98.
- Denardi, S.E., Bechara, G.H., Oliveira, P.R. & Camargo-Mathias, M.I. 2010.** Azadirachtin-induced morphological changes on oocytes of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae) tick females. *Exp Parasitol.* **126**(4):462–470.
- Darvas, B., Lauber, E., Polgár, L.A., Peregovits, L., Ronkay, L., Juracsek, J., et al. 2004.** Nontarget effects of DK-440-BTY (Yieldgard) Bt-corn. *First Hungarian–Taiwanese entomological symposium*, 11–12 October 2004, Budapest Hungarian National History Museum (p. 5)

- Dhadialla, T.S., Retnakaran, A. & Smagghe, G. 2005.** Insect growth- and development disrupting insecticides. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Insect Molecular Science, Elsevier, Oxford, UK.6: 55–116.*
- Dhadialla, T.S., Retnakaran, A. & Smagghe, G. 2010.** Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert, L.I. & Gill, S.S. (Eds). *Insect Control. Elsevier, New York. USA. 121-166.*
- Dimetry, N.Z. 2014.** Different plant families as bioresource for pesticides. In : Singh, D. (Ed). *Advances in Plant Biopesticides.* Springer, New York, Dordrecht, London. 1-20.
- Donovan, W. P., Donovan, J. C., & Engleman, J. T. 2001.** Gene Knockout Demonstrates That vip3A Contributes to the Pathogenesis of *Bacillus thuringiensis* var *Agrotis* *psi* and *Spodoptera exigua*. *Journal of Invertebrate Pathology*, **78** (1): 45-51.
- Dubois, N.R. & Dean, D.H. 1995.** Synergism between CryIA insecticidal crystal proteins and spore of *Bacillus thuringiensis* other bacterial spores, and vegetative cells against *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantridae) larvae. *Environmental entomology*. **24**(6):1741- 1747.
- Dubrovsky, E.B. 2005.** Hormonal cross talk in insect development. *Trends Endocrinol Metab.* **16**(1): 6-11.
- Espinasse, S., Chaufaux, J., Buisson, C., Perchat, S., Gohar, M., Bourguet, D. & Sanchis, V. 2003.** Occurrence and linkage between secreted insecticidal toxins and insoluble proteins of *Bacillus thuringiensis* ICs. *Current microbiology*. **47**(6),501-507.
- Estruch, J., Warren, G. W., Mullins, M.A., Nye, G.J., Craig, J.A., and Koziel, M.G. 1996.** Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidoptera insects. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **93**, 5389-5394.
- Fabrick, J., Oppert, C., Lorenzen, M.D, et al. 2009.** A Novel *Tenebrio molitor* Cadherin Is a Functional Receptor for *Bacillus thuringiensis* Cry3Aa Toxin. *Journal of Biological Chemistry*. **284**: 18401-18410.

- Felke, M., Lorenz, N. & Langenbruch, G-A. 2002.** Laboratory studies on the effects of pollen from Bt-maize on larvae of some butterfly species. *Journal of Applied Entomology* .**126**: 320–325.
- Felke, V.M. & Langenbruch, G.A. 2003.** Wirkung von Bt-Mais-Pollen auf Raupen des Tagpfauenauges im Laborversuch (Effect of Bt-maize-pollen on caterpillars of *Inachis io* in a laboratory assay). *Gesunde Pflanzen*, **55**: 1-7.
- Frost & Sullivan . 2009.** North American and Western European biopesticides market. M472-39.
- Gahan, L.J., Gould, F., Heckel, D.G. 2001.** Identification of a gene associated with Bt resistance in *Heliothis virescens*. *Science*. **293**, 857-860.
- Gangé, F., Pardos, M. & Blaise, C. 1999.** Estrogenic effects of organic environmental extracts with the trout hepatocyte vitellogenin assay. *Bull Environ Contam Toxicol*. **62**(6): 723- 730.
- Ghormade, V., Deshpande, M.V. & Paknikar, K.M. 2011.** Perspectives for nano biotechnology enabled protection and nutrition of plants. *Biotechnol Adv*. **29**(6):792–803.
- Gilbert, L.I., Rybczynski, R. & Warren, J.T. 2002.** Control and biochemical nature of the ecdysteroidogenic pathway. *Annu Rev Entomol*.**47**: 883–916.
- Glare, T.R., O'Callaghan, M. 2000.** "*Bacillus thuringiensis*: Biology, ecology and safety" .Chichester; New York: John Wiley, U.S.A., pp. 2-8.
- GLATRON, F., LE CADET, M., DEDONDER, R. 1972.** structure of parasporal inclusion of *Bacillus thuringiensis* Berliner :characterization of repetitive subunit .*Eur.Biochem*. **30**:330-338.
- Goettel M. & Hajek, A. 2001.** Evaluation of non-target effects of pathogens used for management for arthropods. In: Wajnberg E., Scott J.K. & Qimby P.C., eds. *Evaluating indirect ecological effects of biological control*. Wallingford, UK: CABI Publisher. **81**

- Goldberg, L.J. and J. Margalit .1977.**"Bacterial Spore Demonstrating Rapid Larvicidal Activity against *Anopheles-Sergentii*, *Uranotaenia-Unguiculata*, *Culex Univitattus*, *Aedes-Aegypti* and *Culex-Pipiens*." *Mosquito News***37**(3): 355-361.
- Gontijo, L.M., Celestino, D., Queiroz, O.S., Guedes, R.N.C. & Picanço, M.C. 2015.** Impacts of azadirachtin and chlorantraniliprole on the developmental stages of pirate bug predators (Hemiptera: Anthocoridae) of the tomato pinworm *Tuta absoluta*(Lepidoptera: Gelechiidae). *Fla Entomol.***98**(1): 59-64.
- Govindarajan, M. & Rajes wary, M. 2015.** Ovicidal and adulticidal potential of leaf and seed extract of *Albizia lebbek* (L.) Benth. (Family: Fabaceae) against *Culex quinque fasciatus*, *Aedes aegypti*, and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.* **114**(5): 1949-1961.
- Gruber, J.K. 1991.** Wachstum, Fruchtertrag und Azadirachtin Gehalt der Samen von *Azadirachta indica* A. *Juss auf verschiedenen Standorten in Nicaragua. Doctor.Thesis, Techn.Univ.Of Berlin, Germany.*
- Gruntenko, N. & Rauschenbach, I. 2009.** 20-hydroxyecdysone, juvenile hormone and biogenic amines: Mechanisms of interaction in control of *Drosophila* reproduction under normal and stressful conditions. In: Smagghe, G. (Ed). *Ecdysone: Structures and Functions. Springer, Dordrecht, Netherlands.*317–332.
- Guét, G., 2002.** Applications de nimcomme insecticide (nématocide en agriculture biologique). *Alternative Agriculture.* **54** :4-6.
- Gunning, R.V., Dang, H.T., Kemp, F.C., Nicholson, I.C., Moores, G.D. 2005.** New resistance mechanism in *Helicoverpa armigera* threatens transgenic crops expressing *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac toxin. *Applied And Environmental Microbiology* .**71**: 2558-2563.
- Gupta, R.C. & Milatovic, D. 2014.** Insecticides. In: Gupta, R.C. (Ed). *Biomarkers in Toxicology. Academic Press, Elsevier, Amsterdam.* 389-407.
- HECKEL, D.G., GAHAN, L.J., LIU, Y-B.& TABASHNIK, B.E. 1999.** Genetic mapping of resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins in diamondback moth using biphasic linkage analysis.*Proc. Natl. Acad. Sei*, **96**, 8373-8377.

- Herrero, S., Gechev, T., Bakker, P.L., Moar, W.J., de Maagd, R.A. 2005.** *Bacillus thuringiensis* Cry1 Caresistant *Spodoptera exigua* lacks expression of one of four Aminopeptidase N genes. *Bmc Genomics* 6.
- Hiruma, K. & Kaneko, Y. 2013.** Hormonal Regulation of Insect Metamorphosis with Special Reference to Juvenile Hormone Biosynthesis. *Curr Top Dev Biol.* **103**: 73-100.
- Hoffmann, K.H. & Lorenz, M.W. 1998.** Recent advances in Hormones in Insect pest control . *Phytoparasitica.* **26**(4): 323-330.
- HOFTE & WHITELEY, H.R. 1989.** Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiological Reviews,* **53**, 242-252.
- Huang, J.F., Shui, K.J., L.i, H.Y., H.u, M.Y. & Zhong, G.H. 2011.** Anti proliferative effect of azadirachtin A on *Spodopteralitura* SI-1 cell line through cell cycle arrest and apoptosis induced by up-regulation of p53. *PesticBiochem Phys.* **99**(1): 16-24.
- Huang, K.H. & Lorenz, M.W. 1998.** Recent advances in Hormones in Insect pest control *Phytoparasitica.* **26**(4): 323-330.
- HubertusKleeberg, 2008.** Le neem, un agent de contrôle biologique à base d'extraits végétaux in *Biopesticides d'origine végétale*, 2<sup>e</sup> édition, Editions Tec & Doc, p14.
- Huffman, D.L., Bischof, L.J., Griffiths, J.S., Aroian, R.V. 2004.** Pore worms: Using *Caenorhabditis elegans* to study how bacterial toxins interact with their target host. *International Journal Of Medical Microbiology.* **293**, 599-607.
- Hurtel .** *Azadirachta indica*. *Phytomania*: **4p.**
- Ibrahim, M.A.N. Griko et al. 2010.** " *Bacillus thuringiensis*: a genomics and proteomics perspective." *Bioengineered bugs.* **1**(1): 31-50.
- Ichimatsu, T., Mizuki, E., NishimuraK, Akao,T ., Saitoh,H ., HiguchiK. & Ohba, M. 2000.** Occurrence of *Bacillus thuringiensis* in fresh waters of Japan. *Current microbiology.* **40**(4)2, 17- 220.

- Ishaaya, I. 1990.** Benzoylphenyl-ureas and other selective control agent, mechanism and application In: Cassida, J.E. (Ed) *Pesticides and alternatives*. Elsevier, Amsterdam, Netherlands. 365-376.
- Ishaaya, I. 2001.** Biochemical processes related to insecticide action: An overview. In: Ishaaya, I. (Ed). Biochemical sites of insecticides action and resistance. *Springer.Berlin*. 1–16.
- Isman, 2005.** Botanical insecticides, deterrents and repellents in modern agriculture and increasingly regulated world. *AnnuRev Entomol*, **50**p.
- James, C. 2002.** Global status of commercialized transgenic crops: **2000**.Résumé ISAAA n° 27: aperçu, Ithaca (NY) International Service for the Acquisition of Agri-biotech Applications.
- Jurat-Fuentes, Adang, M.J. 2004.**Characterization of a Cry1Ac-receptor alkaline phosphatase in susceptible and resistant *Heliothis virescens* larvae.*European Journal of Biochemistry*. **271**, 3127-3135.
- Kaakeh, W., Scharf, M.E. & Bennett, G.W. 1997.**Comparative contact activity and residual life of juvenile hormone analogs used for German cockroach (Dictyoptera: *Blattellidae*) control. *J Econ Entomol*. **90**(5): 1247-1253.
- Karunker, I., Benting, J., Lueke, B., Ponge, T., Nauen, R., Roditakis, E., Vontas, J., Gorman, K., Denholm, I. & Morin, S. 2008.** Over-expression of cytochrome P450 CYP6CM1 is associated with high resistance to imidacloprid in the B and Q biotypes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae). *Insect Biochem Mol Biol*. **38**(6): 634- 644.
- Kavi, L.A.K., Kaufman, P.E. & Scott J.G. 2014.**Genetics and mechanisms of imidacloprid resistance in house flies. *PesticBiochem Physiol*. **109**: 64–69.
- Keller, M., Sneh, B., Strizhov, N et al. 1996.**Digestion of delta-endotoxin by gut proteases may explain reduced sensitivity of advanced instar larvae of *Spodoptera littoralis* to CryIC. *Insect Biochemistry And Molecular Biology***26**, 365-373.

- Khan, H.A., Akram, W. & Shad, S.A. 2014.** Genetics, cross-resistance and mechanism of resistance to spinosad in a field strain of *Muscadomestica* L. (Diptera: Muscidae). *Acta Trop.* **130**:148-154.
- Kilani- Morakchi, S., Badi, A., Aribi, N., Farine, J.P. & Soltani, N. 2014.** Toxicity of Tebufenozide, an Ecdysteroid Agonist, to *Blattella germanica* (Blattodea: Blattellidae). *Afr Entomol.* **22**(2): 337-342.
- Kirst, H.A. 2010.** Spinosynfamily of insecticides: realizing the potential of naturalproductsresearch. *J Antibiot.* (Tokyo). **63**(3): 101-111.
- Kleeberg, H., 2006.** Demands for plants protection products-Risk assessment botanicals and semio chemicals.REBECA work shop.fin de cycle pour l'obtention du diplôme d'Ingénieur des Techniques Agricoles, Ecole supérieure d'Agronomie de Yamoussoukro, **56p.**
- Kohler, H.R. & Triebkorn, R. 2013.** Wildlife ecotoxicology of pesticides: can we track effects to the population level and beyond?.*Science.* **341**(6147): 759–765.
- Koodalingam, A., Deepalakshmi, R., Ammu, M. & Rajalakshmi, A. 2014.**Koodalingam, A., Deepalakshmi, R., Ammu, M. & Rajalakshmi, A. 2014.*Toxicitedaza; J Asia-Pacific Entomol.* **17**(2): 175-181.
- Koriem, K.M.M. 2013.** Review on pharmacological and toxicological effects of oleum azadirachti oil. *Asian Pac J of Trop Biomed.* **3**(10): 834–840.
- Krieg, A.M. Huger et al. 1983.**"*Bacillus-Thuringiensis* Var Tenebrionis, a New Pathotype Effective against Larvae of Coleoptera." *Zeitschrift Fur Angewandte Entomologie-Journal of Applied Entomology.* **96**(5): 500-508.
- Kristensen, M., Hansen, K.K. & Jensen, K.M. 2005.** Cross-resistance between Dieldrin and Fipronil in German Cockroach (Dictyoptera: Blattellidae).*J Econ Entomol.* **98**(4): 1305-1310.
- Kulkarni, J., Kapse, N. & Kulkarni, D.K. 2009.** Plant based pesticides for control of *Helicoverpa armigera* on cucumis sativus. *Asian Agric Hist.* **13**(4): 327–332.

- Kumar, S., Raman, R.P., Pandey, P.K., Mohanty, S., Kumar, A. & Kumar, K. 2013.** Effect of orally administered azadirachtin on non-specific immune parameters of goldfish *Carassius auratus* (Linn. 1758) and resistance against *Aeromonas hydrophila*. *Fish. Shell fish. Immunol.* **34** (2): 564-573.
- Lafont, R., Dauphin-Villemant, C., Warren, J.T. & Rees, H. 2005.** Ecdysteroid chemistry and biochemistry. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive molecular insect science*. Elsevier, Oxford, UK. **3**: 125–195.
- Lai, D., Jin, X., Wang, H., Yuan, M. & Xu, H. 2014.** Gene expression profile change and growth inhibition in *Drosophila* larvae treated with azadirachtin. *J Biotechnol.* **185**: 51-56.
- Lambert, B. and M. Peferoen. 1992.** "Insecticidal Promise of *Bacillus Thuringiensis*." *Bioscience.* **42**(2): 112-122.
- Lang, A. & Vojtech, E. 2006.** The effects of pollen consumption of transgenic Bt maize on the common swallowtail, *Papilio machaon* L. (Lepidoptera, Papilionidae). *Basic and Applied Ecology* **7**: 296:306.
- Lavialle-Defaix, C., Moignot, B., Legros, C. & Lapied, B. 2010.** How does calcium dependent intra cellular regulation of voltage-dependent sodium current increase the sensitivity to the oxadiazine insecticide indoxa carbamate bolite de carbome thoxylated JW062 (DCJW) in insect pacemaker neurons?. *J Pharmacol Exp Ther.* **333**(1): 264-272.
- Lesueur, F. 2006.** Elaboration de formulations à base d'extraits de neem *Azadirachta indica* A. Juss pour la protection de la pomme de Terre (*Solanum tuberosum* L.) contre le *Myzus persicae*, un puceron colonisateur et vecteur de virus circulants et non Circulants. *Mémoire de Maîtrise, Université de Laval- Québec*, **139p**.
- LI, J., CAROLL, J. & ELLAR D. J., 1991.** Crystal structure of insecticidal delta-endotoxins from *Bacillus thuringiensis*. *Nature*, **353**: 815-821.
- Lim, T.K. 2014.** *Azadirachta indica*. In: Lim, T.k (Eds). *Edible Medicinal and Non Medicinal Plants*. Springer, Dordrecht, Netherlands. **8**: 409-455.

- Lima, D.B., Melo, J.W., Guedes, N.M., Gontijo, L.M., Guedes, R.N. & Gondim, M.G. Jr. 2015.** Bioinsecticide-Predator Interactions: Azadirachtin Behavioral and Reproductive Impairment of the Coconut Mite Predator *Neoseiulus baraki*. *PLoS One*. **10**(2):118-343.
- Liu, B. & Tzeng, Y.M. 2000.** Characterization of the sporulation kinetics of *Bacillus thuringiensis*. *Biotechnology and Bioengineering*. **68**(1), 11- 17.
- LIU, Y.R., TABASHNIK, B.E., DENNEHI, T.J., CARRIERE Y., SIMS, M.A. & MEYER, K.S. 2002. SUN, J., TANG, c., ZHU, W. & ZHOU. 2002.** Characterisation of resistance to *Helicoverpa armigera* (Hübner) in three lines of transgenic Bt Upland cotton. *Euphytica*, **123**: 343-351.
- Long, E.R. 2000.** Degraded sediment quality in US estuaries: A review of magnitude and ecological implications. *Ecol Appl*. **10** (2): 338-349.
- Lynn, O.M., Kim, J.E. & Lee, K.Y. 2012.** Effects of azadirachtin on the development and gene expression of fifth instar larvae of Indian meal moth, *Plodia interpunctella*. *J Asia-Pacific Entomol*. **15**(1): 101-105.
- Markussen, M.D.K, Kristensen, M. 2011.** Spinosad resistance in female *Musca domestica* L. from a field-derived population. *Pest Manag Sci*. **68**:75–82.
- Matsuura, A. & Nakamura, M. 2014.** Development of neonicotinoid resistance in the cotton aphid *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) in Japan. *Appl Entomol and Zool*. **49**(4) : 535-540.
- Mayes, M.A., Thompson, G.D., Husband, B., Miles, M. 2003.** Title Spinosad toxicity to pollinators and associated risk. *Rev Environ Contam Toxicol*. **179** : 37-71.
- McBrayer, Z., Ono, H., Shimell, M., Parvy, J.P., Beckstead, R.B., Warren, J.T., Thummel, C.S., Dauphin-Villemant, C., Gilbert, L.I. & O'Connor, M.B. 2007.** Prothoracicotropic hormone regulates developmental timing and body size in *Drosophila*. *Dev Cell*. **13**(6): 857-871.
- Mckay, T., Bianco, T., Rhodes, L. & Barnett, S. 2013.** Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) in mosquitoes from northeast Arkansas, the United States. *J Med Entomol*. **50**(4): 871-878.

- Medina, P., Smagghe, G., Budia, F., Tirry, L. & Viñuela, E. 2003.** Toxicity and absorption of Azadirachtin, Diflubenzuron, Pyriproxyfen, and Tebufenozide after Topical Application in predatory larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Environ Entomol.* **32**(1): 196-203.
- Menasria, T., Moussa, F., El-Hamza, S., Tine, S., Megri, R. & Chenchouni, H. 2014.** Bacterial load of German cockroach (*Blattella germanica*) found in hospital environment. *Pathog Glob Health.* **108**(3): 141-147.
- Meunier, Prefontaine, G., Van Munster, M., Brousseau R, Masson L. 2006.** Transcriptional response of *Choristoneura fumiferana* to sublethal exposure of Cry1Ab protoxin from *Bacillus thuringiensis*. *Insect Molecular Biology.* **15**: 475-483.
- Mohammed, S.i., Subramanian, S.B., Yan, S., Tyagi, R . D. & Valéro, J.R. 2006.** Molecular screening of *Bacillus thuringiensis* strains from wastewater ludge or biopesticide production. *Process Biochemistry.* **41**(4): 829-835.
- Mordue, A.J. & Blackwell, A. 1993.** Azadirachtin: an update. *J Insect Physiol.* **39**(11): 903-924.
- Mordue, L.A.J., Morgan, E.D. & Nisbet, A.J. 2005.** Azadirachtin, a natural product in insect control. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Molecular Insect Science.* Elsevier, Oxford, UK. **6**: 117-135.
- Mordue, L.A.J., Morgan, E.D. & Nisbet, A.J. 2010.** Addendum: Azadirachtin, a natural product in insect control: An update. In: Gilbert, L.I. & Gill, S.S. (Eds). *Insect Control.* Elsevier, Oxford, UK. **204-206** Maurice. P2.
- Morgan, E.D. 2009.** Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorg Med Chem.* **17**(12): 4096-4105.
- Morin, S., Biggs, R.W., Sisterson, M.S et al. 2003.** Three cadherin alleles associated with resistance to *Bacillus thuringiensis* in pink bollworm. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America.* **100**: 5004-5009.
- Mota-Sanchez, D., Hollingworth, R.M., Grafius, E.J., Moyer, D.D. 2006.** Resistance and cross-resistance to neonicotinoid insecticides and spinosad in the Colorado potato beetle,

- Leptinotarsadecemlineata (Say) (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pest Manag Sci.* **62**:30-37.
- Mouffok, B., Raffy, E., Urruty, N., Et Zjcola, J., 2008.** Le NEEM, un insecticide Biologique efficace. *Université Paul-Sabatier-IUT- S2*, 16p.
- National Research Couil,** Neem: a tree for solving global problems. National Academy Press, Washington, D.C. (1992).
- Ngamo, T.S.L. & Hance, T. 2007.** Diversité des ravageurs des denrées et méthodes alternatives de lutte en milieu tropical. *Tropicultura*, **25**(4): 215-220.
- Oberlander, H. & Silhacek, D.L. 1998.** New perspectives on the mode of action of benzoylphenyl urea insecticides. In: Ishaaya, I. & Degheele, D. (Ed). Insecticides with Novel modes of action: *Mechanism and Application*. Springer. 92-105.
- Oppert, B., Kramer, K.J., Beeman, R.W., Johnson, D., McGaughey, W.H. 1997.** Proteinase-mediated insect resistance to *Bacillus thuringiensis* toxins. *Journal Of Biological Chemistry*. **272** :23473- 23476.
- Panneton, B., Vincent, C. & Fleurat-Lessard, F. 2000.** Place de la lutte physique en phyto protection. In: Un point sur la lutte physique en phyto protection. *Institut national de la recherche agronomique. Paris* : 1-25.
- Perry, T., McKenzie, J.A., Batterham, P. 2007.** A *Da6* knockout strain of *Drosophila melanogaster* confers a high level of resistance to spinosad. *Insect Biochem. Mol. Biol.* **37**:184–188.
- Pigott, C.R. and D.J. Ellar. 2007.** "Role of receptors in *Bacillus thuringiensis* crystal toxin activity." *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR* .**71**(2): 255-281.
- Pineda, S., Martínez, A.M., Figueroa, J.I., Schneider, M.I., Del Estal, P., Viñuela, E., Gómez, B., Smagghe, G. & Budia, F. 2009.** Influence of azadirachtin and methoxyfenozide on life parameters of *Spodopteralittoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Econ Entomol.* **102**(4):1490-1496.

**Popp, J., Petö, K. & Nagy, J. 2013.** Pesticide productivity and food security. A review. *Agron. Sustainable Dev.* **33**: 243-255.

**Puri, H.S. 1999.** Neem the divine tree, *Azadiractaindica*. **1079** LH Amsterdam .

**Qi, B., Gordon, G. & Gimme, W. 2001.** Effects of neem-fed prey on the predacious insects *Harmonia conformis* (Boisduval) (Coleoptera: Coccinellidae) and *Malladasignatus* (Schneider) (Neuroptera: Chrysopidae). *Biol Control*. **22**(2): 185–190.

**Qiao, j., Zou, X., Lai, D., Yan, Y., Wang, Q., Li, W., Deng, S., Xu, H. & Gu, H. 2014.** Azadirachtin blocks the calcium channel and modulates the cholinergic miniature synaptic current in the central nervous system of *Drosophila*. *Pest Manag Sci*. **70**(7): 1041-1047.

**Rahman, M., Roberts, H.L.S., Sarjan, M., Asgari, S., Schmidt, O. 2004.** Induction and transmission of *Bacillus thuringiensis* tolerance in the flour moth *Ephestia kuehniella*. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America* .**101**: 2696-2699.

**Rajagopal, R., Arora, N., Sivakumar, S et al. 2009.** Resistance of *Helicoverpa armigera* to Cry1Ac toxin from *Bacillus thuringiensis* is due to improper processing of the protoxin. *Biochemical Bibliographie Journal*. **419**, 309-316.

**Raymond, M. 1992.** La lutte biologique contre les mammifères. In Vincent, C. et Coderre, D. (éd.), *La lutte biologique* (chap. 31, p. 573-583). Boucherville (Québec), Gaëtan Morin Éditeur.

**Rehan, A. & Freed, S. 2014.** Selection, mechanism, cross resistance and stability of spinosad resistance in *Spodopteralitura* (Fabricius) (Lepidoptera: Noctuidae). *Corp Prot*. **56**:10-15.

**Reyes, M., Rocha, K., Alarcon, L., Siegwart, M. & Sauphanor, B. 2012.** Metabolic mechanisms involved in the resistance of field populations of *Tutaabsoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) to spinosad. *PesticBiochem Physiol*. **102**(1): 45-50.

**Rinkevich, F.D. & Scott, J.G. 2012.** Reduction of dADAR activity affects the sensitivity of *Drosophil amelano gaster* to spinosad and imidacloprid. *Pest BiochemPhysiol*. **104**(2): 163-169.

- Roe, R.M., Young, H.P., Iwasa, T., Wyss, C.F., Stumpf, C.F., Sparks, T.C., Watson, G.B., Sheets, J., Thompson, G.D. 2010.** Mechanism of resistance to spinosyn in the tobaccobudworm, *Heliothis virescens*. *Pest. Biochem. Physiol.* **96**:8–13.
- Rojas-Avelizapa L, I.C., Ruiz-Camarillo, R., Guerrero, M. 1., Rodriguez-Vázquez R. & Ibarra, J.E. 1999.** Selection and characterization of a proteo-chitinolytic strain of *Bacillus thuringiensis* able to grow in shrimp waste media. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* .**15** (2): 299-308.
- Rosas-Garcia, N.M. 2009.** Biopesticide production from *Bacillus thuringiensis*: an environmentally friendly alternative. *Recent Pat. Biotechnol.* **3**(1): 28-36.
- Rukmini, Reddy, C.Y., Venkateswerlu, G. 2000.** *Bacillus thuringiensis* crystal delta-endotoxin: Role of proteases in the conversion of protoxin to toxin. *Biochimie.* **82**, 109-116.
- Sahu, S., Gunasekaran, K., Raju, H.K., Vanamail, P., Pradhan, M.M. & Jambulingam, P. 2014.** Response of malaria vectors to conventional insecticides in the southern districts of Odisha State, India. *Indian J Med Res.* **139** (2): 294-300.
- Saidenberg, D. et al. 2009.** Monoamine oxidase inhibitory activities of indolylalkaloid toxins from the venom of the colonial spider *Parawixia bistriata*: functional characterization of PwTX-I. *Toxicon*, **54**(6): 717-724.
- Salamitou, S., Ramisse, F., Brehélin, M., Bourguet, D., Gilois, N., Gominet, M. & Lereclus, D. 2000.** The plcR regulon is involved in the opportunistic properties of 7T.
- Sanahuja, G., R. Banakar, et al. 2011.** "*Bacillus thuringiensis*: a century of research, development and commercial applications." *Plant biotechnology journal.* **9**(3): 283-300.
- Santé. 2004.** [Ressource électronique] Programme alimentaire - Nouveaux aliments. [Consulté le 16 septembre 2004] Peut être consulté au : [http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/e\\_index.html](http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/e_index.html)
- Santé Canada. 2000.** Fiche technique sur le *Bacillus thuringiensis* variété kurstaki. Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire, Ottawa (Ontario).

- Schesser, J.H. & Bulla, L.A. 1978.** Toxicity of *Bacillus thuringiensis* spores to the tobacco horn worm, *Manduca sexta*. *Applied and environmental microbiology*. **35**(1):121-123.
- Schmutterer, H. 1990.** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Ann Rev Entomol*. **35**: 271-297.
- Schmutterer, H. 1995.** (eds.), The Neem Tree, *Azadirachta indica* A. Juss and other Meliaceae Plants. VCH: Weinheim .
- Schmutterer, H. & Singh, R.P. 1995.** List of insect pests susceptible to neem products. In: Schmutterer H. (Ed). The Neem Tree *Azadirachta indica* A. Juss, And other Meliaceae Plants. VHC, Verlag, Weinheim Germany. **696**.
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelsohn, J. & Dean, D. H. 1998.** *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and molecular biology reviews*. **62**(3):775-806.
- Scudeler, E.L. & Santos, D.C.D. 2013.** Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on midgut cells of predatory larvae *Ceraeochrysa claveri* (Navas, 1911) (Neuroptera: Chrysopidae). *Micron*. **44**: 125–132.
- Scudeler, E.L., Padovani, C.R. & Santos, D.C. 2014.** Effects of neem oil (*Azadirachta indica* A. Juss) on the replacement of the midgut epithelium in the lacewing *Ceraeochrysa claveri* during larval-pupal metamorphosis. *Acta Histochem*. **116**(5): 771-780.
- Seck, D. 1991.** Etude de l'infestation initiale de *Sitotrogacereallevella* Oliv. (Lepidoptera: Gelechiidae) en fonction de la localisation des champs de mil. *Insects and Science z'application*. **12** (56): 507-509.
- Selvapandiyan, Arora, N., Rajagopa, R.I.J., Alali, S.K., Venkatesan, T., Singh, S.P., and Bhatnagar, R.K. 2001.** Toxicity analysis of N- and C-terminus-deleted vegetative insecticide protein from *Bacillus thuringiensis* As.p pl. *Environ Microbiol*. **67**: 5855-5858.

- Senthil Nthan, S., Choi, M.Y., Seo, H.Y., Paik, C.H., Kalaivani, K. & Kim, J.D. 2008.**Effect of azadirachtin on acetylcholine esterase (AChE) activity and histology of the brown planthopper *Nilaparvatalugens* (Stål). *Ecotoxicol Environ Saf.* 70(2): 244–250.
- Senthil-Nathan, S., Chung, P.G. & Murugan, K. 2004.** Effect of botanicals and bacterial toxin on the gut enzyme of *Cnaphlocrocismedinalis*. *Phytoparasitica*. 32(5):433-443.
- Senthil Nthan, S., Kalaivani, K., Murugan, K. & Chung, P.G. 2005.**The toxicity and physiological effect of neemlimonoids on *Cnaphlocrocismedinalis* (Guinée) the rice leaf folder. *Pestic Biochem Physiol.* 81(2): 113-122.
- SenthilNthan, S., Kalaivani, K. & Murugan, K. 2006.**Effect of biopesticides on the lactate dehydrogenase (LHD) of the rice leaf folder, *Cnaphlocrocismedinalis* (Guinée) (Insecta: Lepidoptera: Pyralidae). *Ecotoxicol Environ Saf.* 65(1): 102-107.
- Shaurub, el-SH., Abd El-Meguid, A., & Abd El-Aziz, N.M. 2014.**Quantitative and ultra structural changes in the haemocytes of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) treated individually or in combination with *Spodopteralittoralis* multi capsid nucleopolyhedrovirus (SpliMNPV) and azadirachtin. *Micron*. 65: 62-68.
- Shono, Scott, J.G. 2003.** Spinosad resistance in the housefly, *Musca domestica*, is due to a recessive factor on autosome 1. *Pest. Biochem. Physiol.* 75:1–7.
- Shu, B., Wang, W., Hu, Q., Huang, J., Hu, M. & Zhong, G. 2015.** A comprehensive study on apoptosis induction by azadirachtin in *Spodoptera frugiperda* cultured cell line Sf9. *Arch Insect Biochem Physiol.* doi: 10.1002/arch.21233.
- Skovmand, O. 2004.** Le Bti pour contrôler les moustiques et les mouches noires. *Dossiers Biocontrôle, décembre*, p. 7.
- Smirnov, W.A., & Valero, J. R. 1979.** MODE D'ACTION DE BACILLOSE THURINGIENSIS CHEZ *CHORTSTONEURA FUMTFERANA* (LEPTOPTERA TORTRICIDAEI) M: PORTANCE DES SPOREST. *The Canadian Entomologist*, III, 03 :305-308

- Soberon, M., 1. A. Lopez-Diaz, et al. 2013.** "Cyt toxins produced by *Bacillus thuringiensis*: a protein fold conserved in several pathogenic microorganisms." *Peptides*.**41**: 87-93.
- Soltani, N., Hami, M. & Gramdi, H. 2012.** Sublethal effects of methoxyfenozide on reproduction of the Mediterranean flour moth, *Ephesia kuehniella* Zeller. *Invertebr Repr Dev*. **56**(2): 157-163.
- Sparks, Thompson , G.D., Kirst, H.A., Hertlein, M.B., Larson, L.L, Worden, T.V., Thibault, S.T. 1998.** Biological activity of the spinosyns, new fermentation derived insect control agents, on tobacco budworm (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae. *J. Econ. Entomol.***91**:1277–1283.
- Sporleder, M. & Lacey, L.A. 2013.** Biopesticides. In: Giordanengo, P. Vincent, C. Alyokhin, A. (Eds). *Insect pests of potato: Global perspectives on biology and management*. Elsevier, Oxford, UK. 463-497.
- Srivastava, M. & Raizada, R. 2007.** Lack of toxic effect of technical azadirachtin during postnatal development of rats. *Food Chem. Toxicol.*, **45**(3), 465-471.
- Stark, J.D., Vargas, R.I. & Thalman, R.K. 1990.** Azadirachtin: effects on metamorphosis, longevity and reproduction of three tephritid fruit fly species. *J Econ Entomol.***83**(6): 2168-2174.
- Tabashnik, B.E. communication personnelle. 2004.** Résistance des insectes aux cultures Bt aux champs. *Date de la communication : septembre 2004.*
- Tabashnik, B.E. et Y. Carrière. 2004.** Bt transgenic crops do not have favorable effects on resistant insects. *Journal of Insect Science*, 4:4. Peut être consulté en ligne : [insectscience.org/4.4](http://insectscience.org/4.4)
- Thakore, Y. 2006.** The biopesticide market for global agriculture use. *Ind. Biotechnol.* **2**: 194-208.
- Thomas, E. & Ellar, D.J. 1983.** Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* var. *israeliensis* insecticidal delta-endotoxin. *FEBS Letters*. **154**: 362-368.

- Thompson, G.D., Dutton, R., Sparks, T.C. 2000.** Spinosad - a case study: an example from a natural products discovery programme. *Pest Manag.Sci.* **56**:696–702.
- Toivonen, J.M. & Partridge, L. 2009.** Endocrine regulation of aging and reproduction in *Drosophila*. *Mol Cell Endocrinol.* **299**(1): 39-50.
- Vachon, V.R., Laprade, et al. 2012.** "Current models of the mode of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins: A critical review." *Journal of Invertebrate Pathology* .**111**(1): 1-12.
- Vallet, C., 2006.** Le neem : insecticide naturel, petit guide pratique. HSF-France :**14**p.
- van Munster, M., Prefontaine, G, Meunier, L, et al .2007.**Altered gene expression in *Choristoneura fumiferana* and *Manduca sexta* in response to sublethal intoxication by *Bacillus thuringiensis* Cry1Ab toxin. *Insect Molecular Biology.* **16**: 25-35.
- Vilas-Bôas, G.T., & Lemos, M.V.F. 2004.** Diversity of cry genes and genetic characterization of *Bacillus thuringiensis* isolated from Brazil. *Canadian journal of Microbiology.* **50**(8): 605-613.
- Wang, D., Qiu, X., Ren, X., Zhang, W. & Wang, K. 2009.** Effects of spinosad on *Helicoverpa amirigera* (Lepidoptera: Noctuidae) from China: tolerance status, synergism and enzymatic responses. *Pest Manag.Sci.* **65**(9): 1040-1046.
- Wang, H., Lai, D., Yuan, M. & Xu, H. 2014.**Growth inhibition and differences in protein profiles in azadirachtin-treated *Drosophila melanogaster* larvae. *Electrophoresis.* **35**(8): 1122-1129.
- Wang, Y.M., Liu, H.Y., Xin, Z. & Xue, M. 2013.** Lethal and sub lethal effects of spinosad on *Spodoptera exigua* (Lepidoptera: Noctuidae). *J EconEntomol.* **106**(4):1825-1831.
- Wang, Z., Cheng, X., Meng, Q., Wang, P., Shu, B., Hu, Q., Hu, M. & Zhong, G. 2015.** Azadirachtin-induced apoptosis involves lysosomal membrane permeabilization and cathepsin L release in *Spodoptera frugiperda* Sf9 cells. *Int J Biochem Cell Biol.* **4**(64): 126-135.

- Watson. 2001.** Actions of insecticidal spinosyns on gamma-amino butyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. *Pesticide Biochemistry and Physiology* .**71**: 20–28.
- Watson, Chouinard, S.W., Cook, K.R., et al. 2010.** A spinosyn-sensitive *Drosophila melanogaster* nicotinic acetylcholine receptor identified through chemically induced target site resistance, resistance gene identification, and heterologous expression. *Insect Biochem. Mol. Biol.***40**:376–384.
- Weddle, P., Welter S. & Thomson D. 2009.** History of IPM in California pear-50 years of pesticide use and the transition to biologically intensive IPM. *Pest Manage. Sci.*, **65**(12), 1287-1292.
- WHALON, M.E. & Mcgaughey, W.H. 1998.** *Bacillus thuringiensis*: use and resistance management. Insecticide with Novel Mode of Action. *Springer-Verlag*, **106**-137.
- White, N.J., Pukrittayakamee, S., Hien T.T., Faiz M.A., Mokuolu O.A, & Dondorp, A.M. 2014.** paludisme. *Lancet*. **383**(9918): 723-735.
- Wirth, M.c., G.P. Georghiou, et al. 1999.** "Cyt A enables CryI V endotoxins of *Bacillus thuringiensis* to overcome high levels of CryIV resistance in the mosquito, *Culex quinquefasciatus*." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **94**(20): 10536-10540.
- Wolsten holme, Kaplan, R.M. 2012.** Resistance to macrocyclic lactones. *Curr.Pharm. Biotechnol.***13**:873–887.
- Xu. X., Jeffries, P., Pautasso M. & Jeger M. 2011.** Combined use of biocontrol agents to manage plant disease in theory and practice. *Phytopathology*. **101**(9): 1024-1031.
- Yamanaka, N., Rewitz, K.F. & O'Connor, M.B. 2013.** Ecdysone control of developmental transitions: lessons from *Drosophila* research. *Annu Rev Entomol*. **58**: 497-516.
- Yang, M.L., Zhang, J.Z., Zhu, K.Y., Xuan, T., Liu, X.J., Guo, Y.P. & Ma, E.B. 2009.** Mechanisms of organophosphate resistance in a field population of oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). *Arch Insect Biochem Physiol*. **71**(1): 3-15.

**Yengué, J.L. & Callot Y., 2002.**L'arbre et la ville dans la région de Maroua (l'Extrême-Nord Cameroun). *Secheresse*. **13** (2): 157-162.

**Young, Bailey, W.D., Roe, R.M. 2003.**Spinosad selection of a laboratory strain of the tobaccobud worm, *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae), and characterization of resistance. *Crop Protection*.**22**:265–273.

**Zhang, X.B.M. Candas, et al. 2006.**"A mechanism of cell death involving an adenylyl cyclase PKA signaling pathway is induced by the CryIAb toxin of *Bacillus thuringiensis*." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **103**(26): 9897-9902