



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
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

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Biologie animale

قسم : 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 : BECPI

Intitulé :

Les effets du spinosad (Biopesticide) sur la *Drosophila Melanogaster (meigen, 1830)*

Présenté et soutenu par : Talbi Hammoudi

Le : 30/06/2016

Doghbal Mohamed Abdelali

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme BENKENANA NAIMA (MC - Des frères Mentouri).

Rapporteur : Mme CHAABANE MERIEM (MA- Des frères Mentouri).

Examineurs : Mme AGUIB SIHEM (MC- Des frères Mentouri).

Année universitaire
2015 – 2016

Remerciements

Toute notre gratitude va vers notre encadreur, Madame CHAABEN Meriem, pour la confiance qu'elle nous a accordé en acceptant d'encadrer ce travail.

On tient aussi à remercier Madame BENKENANA Naima, qui a fait l'honneur de présider notre jury de soutenance.

Nos profonds remerciements vont aussi à Madame AGUIB Sihem, qui a aimablement accepté d'examiner ce travail.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

*- A mes parents : mon père **Zoubiret** ma mère **Souad** qui grâce à eux*

*J'ai pu arriver là où je suis maintenant, que Dieu les bénisse et les
garde pour moi.*

*- A mes sœurs : **Sabah, Zahira, Lamis, et Roumaissa***

*- A mes beaux-frères : **Aziz, Seif, Abdou, Walid, Salah et Boubekar***

*- A mes chers amis : **Hakim, Housseem, et Zinou***

*- A mes collègues de Master : **Assia, Ilhem, et Bouchra***

- A tous mes enseignants et au personnel du Département Biologie,

Université de Constantine.

TALBI HAMMOUDI

SOMMAIRE

SOMMAIRE :

Introduction générale	1
1. données bibliographiques	4
1.1 Rappels sur les insecticides	4
1.1.1 Insecticides végétaux	4
1.1.2 Insecticides organiques de synthèses	4
a. Insecticides chlorés	4
b. Insecticides organophosphorés	4
c. Les carbamates	5
d. Les pyréthrinoides	5
e. Les organo-azotés	5
f. Les cyclo diènes ou cycloïdes	5
1.1.3 Insecticides inorganiques ou insecticides minéraux	5
a. Insecticides soufrés	6
b. Insecticides arsenicaux	6
c. L'acide cyanhydrique	6
d. Insecticides fluorés	6
1.1.4 Mode d'action des insecticides	6
1.1.5 Définition des biopesticides	6
1.2 Rappels sur la drosophile	7
1.2.1 Rôle écologique	8
1.2.2 Moyens de lutte	8
a. La lutte biologique (culturale)	8
b. La lutte chimique	9
1.2.3 Symptôme et dégât	9
1.2.4 Piégeage des drosophiles adultes	10

SOMMAIRE

2. Matériel et méthode	13
2.1. Présentation du matériel biologique	13
2.1.1. Présentation de l'insecte	13
a. Taille	13
b. Abdomen	13
c. Organes sexuels	14
d. Peignes sexuels	14
2.1.2. Cycle de développement de <i>D.melanogaster</i>	15
2.2.1. Elevage en laboratoire	16
2.3. Présentation de l'insecticide	17
2.4. Traitement	18
2.5. Dosage enzymatique	18
2.5.1. Dosage de l'Acétylcholinestérase (AChE)	18
2.6. Analyse statistique	20
3. Résultats	21
3.1. Effets sur l'activité spécifique de l'AChE	21
4. Discussion	24
4.1. Effets du spinosad sur l'activité spécifique de l'AChE	24
5. Conclusion et perspectives	26
6. Résumé	27
REFERENCESBIBLIOGRAPHIQUES	30

LISTE DES FIGURES

Liste des figures :

- Données bibliographiques

Figure 1 : L'élimination des fruits trop mûrs et non vendables des champs.....9

Figure 2 : *Drosophile* sur un raisin10

Figure 3 : Des pièges-gobelets du type Becherfalle (à droite) ou des pièges de fabrication maison (à gauche) permettent de surveiller le vol et de faire des piégeages de masse. Composition exacte de l'appât..... 11

Figure 4 : Utilisation d'un microscope pour identifier la *Drosophile*..... 12

- Matériel et méthode

Figure 1 : *D.melanogaster* adulte : femelle (A) et mâle (B) (Média, 2001) 14

Figure 2 : Organes sexuels des drosophiles : plaque vaginale Femelle (A) et pénis Mâle (B) (Média, 2001)14

Figure 3 : Peignes sexuels chez les drosophiles mâles : Patte antérieure femelle (A) et mâle (B) (Média, 2001)15

Figure 4 : Cycle de développement de *D.melanogaster* (Wolpert, 2001)..... 16

Figure 5 : Elevage de drosophiles (Carboni, 2000)17

Figure 6 : Coupe longitudinale de la bactérie *Saccharopolysporaspinoso* (Horowitz et Ishaaya, 2003)17

Figure 7 : Structure du spinosad (Horowitz et Ishaaya, 2003)18

Figure 8 : Dosage des protéines dans le corps chez *D.melanogaster* : droite de régression exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg)..... 20

LISTE DES FIGURES

- Résultats

Figure 1	: Dosage de l'Acétylcholinestérase chez <i>D.melanogaster</i> après traitement au spinosad : absorbances en fonction du temps (R^2 coefficient de détermination).....	22
Figure 2	: Effets <i>in vivo</i> du spinosad testé par application topique (CI 50 : 288.50ppm) sur l'activité spécifique de AChE ($\mu\text{Mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) le jour de l'exuviation adulte de <i>D.melanogaster</i> ($m \pm s.e$; $n = 4-6$)	23

LISTE DES TABLEAUX

Liste des tableaux

- Tableau 1** : Dosage de l'Acétylcholinestérase chez *D.melanogaster* après traitement au spinosad : absorbances en fonction du temps..... 21
- Tableau 2** : Effets *in vivo* du spinosad testé par application topique (CI 50 : 288.50ppm) sur l'activité spécifique de AChE ($\mu\text{Mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) le jour de l'exuviation adulte de *D.melanogaster* ($m \pm s.e$; $n = 4-6$)..... 23

INTRODUCTION

INTRODUCTION :

Les insectes sont très étudiés en raison de leur impact sur la santé humaine et animale, ainsi que sur les cultures et l'habitat. Ils sont caractérisés par leur abondance, leur diversité et leur étendue géographique. Parmi les millions d'espèces qui fourmillent sur la planète, certaines sont considérées comme nuisibles mais beaucoup sont au contraire très utiles. En effet, les insectes assurent par exemple la pollinisation des plantes, recyclent la matière organique dans les écosystèmes, ou servent de nourriture aux animaux.

Il existe différentes méthodes de lutte contre les ravageurs. La lutte biologique qui consiste à détruire les insectes nuisibles par l'utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels appartenant soit au règne animal soit au règne végétal, et la lutte chimique (Strong *et al.*, 2000) qui utilise différents types d'insecticides possédant chacun des caractéristiques physiques et chimiques propres, car le taux de toxicité, la dégradation, la biotransformation ou l'accumulation varient d'un insecticide à un autre (Strong *et al.*, 2000). Cependant, pour des raisons économiques et de facilité de mise en œuvre, la lutte chimique reste la méthode la plus employée en dépit des dangers pour l'Homme et son environnement (Cassier *et al.*, 1997).

Les insecticides se classent en fonction de leur structure chimique ou de leur origine, en insecticides minéraux ou organiques, insecticides naturels ou de synthèse. Quatre groupes principaux sont distingués: les insecticides non organiques, insecticides organiques d'origine végétale ou de synthèse et les régulateurs de croissance.

L'acide borique, insecticide non organique très efficace, agit par ingestion ; son utilisation pour la lutte chimique contre les ravageurs a fait l'objet de divers travaux surtout sur le plan toxicologique (Fort *et al.*, 2001 ; Morakchi *et al.*, 2005 ; Habes *et al.*, 2006). Les insecticides organiques de synthèse, (Strange et Khungsoyr, 1997) regroupent les organochlorés (DDT, Les pyréthénoides), les organophosphorés (parathion, malathion, scharbon) et les carbamates comme le carbaryl ou encore plus récemment le benfuracarbe (Zinkl *et al.*, 1991; Seigfried et Scharf, 2001; Morakchi *et al.*, 2005).

L'application de ces produits chimiques, parfois de façon irraisonnée, a engendré des problèmes inattendus, tels que le développement de phénomènes de résistance aux molécules de synthèse, l'extermination des antagonistes naturels, les effets nocifs sur la santé humaine et

INTRODUCTION

animale et les problèmes liés à la pollution de l'environnement. Dans ce cadre, et dans les années 1970-1990 la recherche a développé des insecticides moins toxiques et plus spécifiques, basés sur des données physiologiques de l'insecte comme les phéromones ou encore les régulateurs de croissance dénommés Insect Growth Régulator (IGRs) qui perturbent le développement et la reproduction des insectes (Dhadialla *et al.*, 2005). Les régulateurs de croissance des insectes (IGRs) sont de nouvelles molécules sélectives et non polluantes préservant l'environnement. Ces composés naturels et/ou synthétiques agissent de manière spécifique en perturbant des éléments vitaux dans le développement (cuticule ou régulation hormonale) de l'insecte visé. Les IGRs comportent les agonistes et antagonistes de l'hormone juvénile (Gäde *et al.*, 1997 ; Kaakeh *et al.*, 1997 ; Aribi *et al.*, 2006), les inhibiteurs de la synthèse de la chitine (Aribi *et al.*, 1999; Wattiez et Beys, 1999) et les agonistes et les antagonistes de l'hormone de mue (Smagghe *et al.*, 2000 ; Aribi *et al.*, 1999 ; Soltani *et al.*, 2002 ; Taibi *et al.*, 2003).

Le développement des nouvelles techniques a permis également l'apparition de nouveaux pesticides à partir de produits naturels ou biopesticides qui sont de plus en plus mis à l'avant pour une lutte propre et efficace. Ces molécules possèdent des actions insecticides, fongicides ou herbicides, provenant des composés végétaux ou animaux pouvant être utilisés dans la lutte contre les insectes nuisibles.

Parmi les biopesticides ou produits dérivés de sources naturelles, se trouvent les néonicotinoïdes, l'azadirachtine ou encore le Spinosad (Copping and Menn, 2000). Cette molécule produite par la fermentation d'une bactérie Actinomycète, *Saccharopolyspora spinosa* (Mertz and Yao, 1990) est développée par les Laboratoires DowAgroSciences. Le spinosad, est un mélange neurotoxique, de deux composants insecticides actifs, la spinosyne A (composant majeur) et la spinosyne D (composant mineur) (Thompson *et al.*, 1995 ; Thompson et Sparks, 2002). Les spinosynes (21 atomes de carbone) constituent un système unique de tétracycliques (cycle lactone) à laquelle les forosamines et les sucres tri-O-méthylrhamnose sont attachés (Huang *et al.*, 2009). Le spinosad, agit par ingestion ou par contact sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine mais aussi sur les récepteurs GABAergiques (Salgado, 1998; Salgado & Sparks, 2005). Le spinosad a été utilisé contre divers insectes ravageurs, y compris les Diptères (Kristensen & Jespersen, 2004) et les Lépidoptères (Wanner *et al.*, 2000) et a montré une légère toxicité pour les oiseaux, poissons, et invertébrés aquatiques (Cetin *et al.*, 2005; Semiz *et al.*, 2006; Wyss *et al.*, 2003).

INTRODUCTION

Le Spinosad est décrit comme une molécule à faible risque toxique sur les insectes prédateurs des ravageurs (Copping et Menn, 2001; Williams *et al.*, 2003), et chez les mammifères (Thomson *et al.*, 2000).

Cependant, tout insecticide est potentiellement capable d'induire un phénomène de résistance chez les insectes cibles (Zhao *et al.*, 2002 ; 2006 ; Roe *et al.*.,2010). En effet, ces dernières années, les insectes semblent développer une résistance au Spinosad (Wyss *et al.*, 2003 ;Wang *et al.*, 2006 ; Shono et Scott, 2003) mais peu d'études ont été menées pour comprendre l'induction du mécanisme de résistance à ce biopesticide.

Ce travail vise à évaluer les effets du spinosad, sur un modèle biologique de choix qui est *Drosophila melanogaster* (Diptère) ; en effet, cet insecte est un modèle de référence pour tous les travaux liés dans les études toxicologique ou sur les mécanismes de résistances du fait du séquençage de la quasi-totalité de son génome, ce travail vise donc à évaluer les effets du spinosad sur un biomarqueurs essentiels en toxicologie, l'acétylcholinestérase (AChE) marqueur de neurotoxicité . l'activité spécifique de cette enzyme sera précisée chez la adultes de *D.melanogaster* au cours de deux générations successives, la génération parent (P) et la première génération (G1).

1. données bibliographiques

1.1 Rappels sur les insecticides

1.1.1 Insecticides végétaux :

Ce sont des insecticides d'origine végétale. ils ont un grand intérêt du fait que ce sont des insecticides ou des toxines naturelles dérivées des plantes tel que : le tabac, le pyrethrum, le lederriss, l'hellébore, le quassia, le camphor, et le turpentine ; ces plantes sont les principales utilisées dans la production des insecticides (Ware, 1999). Cette classe de molécule inclut la Pyréthrine, Nicotine et Derris.

1.1.2 Insecticides organiques de synthèses :

La plupart des produits organiques synthétisés sont dérivés chimiquement des produits pétroliers et contiennent du carbone. On retrouve principalement quatre grands groupes : les organochlorés qui ne sont plus très utilisés, les organophosphorés, les carbamates et les pyréthrinoïdes.

a. Insecticides chlorés :

Ce sont des composés constitués d'une molécule organique avec l'ajoute de chlore. Ils représentent les premières générations d'insecticides dont la découverte en 1939, dits « pesticides de première génération » ce sont des substances destinées à repousser détruire ou combattre les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies des substances destinées à être utilisées comme régulateurs de croissance des plantes et de pullulation des populations d'insectes. L'inconvénient de ce type d'insecticide, c'est qu'ils sont très persistants. Certaines études ont montré que lorsque ce pesticide a été utilisé, il est toujours actif après un certain nombre d'années parmi ces insecticides, nous avons le DDT, le Chlordane, le Lindane et le HCB.

b. Insecticides organophosphorés :

Ce sont des composés constitués d'une molécule organique à laquelle on a ajouté du phosphore, ils appartiennent à la famille chimique des anticholinestérasiques, ces pesticides affectent le système nerveux en perturbant l'enzyme qui régule l'acétylcholine, un neurotransmetteur (Anonyme, 1996). Ils ont été développés au cours du 19^{ème} siècle. Toutefois, ils ne sont pas généralement pas persistants dans l'environnement et peu bioaccumulables. Ces substances dans la remance est nettement plus faible que celle des organochlorés. Il existe de nombreux composés utilisés comme insecticides (EX: parathion, malathion, ...).

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

c. Les carbamates :

Les carbamates, substances de synthèse, sont dérivés de l'acide carbamique. Apparus plus tard que les organochlorés et les organophosphorés. Ces molécules sont efficaces contre un large éventail d'organismes nuisibles, modérément résiduelle et efficace à des températures plus élevées (Jeffrey, 1999), Il y a plein de carbamates utilisés comme insecticides (EX : carbaryl, methomyl, propoxur, ...)

d. Les pyréthrinoïdes :

Les pyréthrinoïdes ont été élaborés dans une version synthétique de pyréthrine, pesticide d'origine naturelle. C'est en 1974 qu'a été découverte le premier pyréthrinoïde photo stable (perméthrine). Ils se répartissent en deux catégories; ceux qui sont photostable et ceux qui ne sont pas photo stable et chimiquement stable. (EX : allethrine, fluméthrine, ...)

e. Les organo-azotés :

Principalement utilisés comme herbicides (EX : atrazine, simazine, ...)

f. Les cyclo diènes ou cycloïdes :

La plupart des cyclo diènes sont des insecticides persistants, stables dans le sol et relativement à la réaction des rayons ultraviolets du soleil. De ce fait, une grande quantité de ces insecticides sont utilisés, spécialement pour le traitement contre les termites et les insectes terrioles dont les larves se nourrissent des racines des plantes (Jeffrey, 1999). Généralement, on peut considérer les cycloïdes comme une sous-classe des organochlorés mais la mise en évidence de son mode d'action, permet de le considérer dans la classe des insecticides (Ware, 1999).

1.1.3 Insecticides inorganiques ou insecticides minéraux :

Ils sont essentiellement dérivés de minéraux et ne contiennent du carbone que sous forme de carbonate ou de cyanure. Ils sont principalement des dérivés à base d'arsenic, de mercure, de fluor, de soufre, de cuivre et de cyanure.

a. Insecticides soufrés :

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Le soufre en poudre est un insecticide peu actif mais les bouillies sulfo-calciques sont d'emploi délicat et servent sous forme de pulvérisations (Dajoz, 1986).

b. Insecticides arsenicaux :

Les propriétés toxiques de l'arsenic sont connues depuis longtemps pour tous les animaux, l'arsenic fournit les insecticides d'ingestion (Dajoz, 1986).

c. L'acide cyanhydrique :

Ce gaz très toxique, doit être appliqué en fumigations ; les applications sont par conséquent très limitées (Dajoz, 1986).

d. Insecticides fluorés :

Les composés du fluor sont d'un usage dangereux en raison de leur solubilité dans l'eau qui facilite leur absorption par l'homme et les animaux (Dajoz, 1986).

1.1.4 Mode d'action des insecticides :

Les insecticides sont des produits neurotoxiques qui exterminent les insectes nuisibles, notamment pour les plantes. Les insecticides sont destinés à être inhalés, touchés ou ingérés par l'insecte. Les insecticides, une fois en contact avec l'insecte, pénètrent dans son système nerveux et le tuent comme les organophosphorés. Certains insecticides coupent la sensation de faim et l'insecte s'affame jusqu'à sa mort comme la pymetrozine. D'autres insecticides agissent comme un poison ou étouffent l'insecte. D'autres encore agissent par asphyxie, interférence dans le métabolisme. Les insecticides peuvent également cibler les larves et les œufs d'insectes. (Docteur Pierrick HORDÉ ; Février 2015)

1.1.5 Définition des biopesticides :

Les bio insecticides peuvent se définir au sens large comme des pesticides d'origine biologique, c'est-à-dire, organismes vivants ou substances d'origine naturelle synthétisée par ces derniers, et plus généralement tout produit de protection des plantes qui n'est pas issu de la chimie. Sous ce vocable, les bio pesticides comprennent les agents de contrôle des insectes (auxiliaires) comme les arthropodes entomophages (ex. trichogrammes), les champignons hyphomycètes pathogènes pour les lépidoptères ou coléoptères (ex. Beauveria), les baculovirus responsables des polyèdres nucléaires (NPV) ou des granulomes (GV) chez les lépidoptères, les bactéries (Bacillus), etc..., les insecticides d'origine végétale et

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

les molécules de synthèse biologique (phéromones, molécules allélochimiques). Par contre la majorité des entomologistes exclut systématiquement ces derniers.

1.2 Rappels sur la drosophile :

Drosophile est un genre de petites mouches, appartenant à la famille Drosophilidae, dont les membres sont souvent appelés «mouches des fruits» ou (moins souvent) grignons mouches, vinaigre mouches, ou vin mouches, une référence à la caractéristique de nombreuses espèces de se attarder autour mûrs ou fruits pourris. Ils ne doivent pas être confondus avec l' Tephritidae, une famille liée, qui sont aussi appelés les mouches des fruits (parfois appelé "véritables mouches des fruits"); tephritidés nourrissent principalement immatures ou mûrs fruits, avec de nombreuses espèces étant considérées comme destructrices parasites agricoles, en particulier la mouche méditerranéenne des fruits. Une espèce de drosophile en particulier, *D. melanogaster*, a été fortement utilisée dans la recherche sur la génétique et est une commune organisme modèle en biologie du développement. Les termes «de mouches des fruits» et «*Drosophila*» sont souvent utilisés indifféremment avec *D. melanogaster* dans la littérature biologique moderne. L'ensemble du genre, cependant, contient plus de 1500 espèces et est très diversifiée en apparence, le comportement et l'habitat de reproduction. *Drosophila* sont de petites mouches, généralement jaune pâle à brun rougeâtre au noir, avec les yeux rouges. De nombreuses espèces, y compris les images-ailes hawaïennes constatées, ont distinctes motifs noirs sur les ailes. La plumeuses (plumes) Arista, hérissés de la tête et du thorax, et nervures de l'aile sont caractères utilisés pour diagnostiquer la famille. La plupart sont de petite taille, environ 2-4 millimètres de long, mais certains, notamment de nombreuses espèces hawaïennes, sont plus grandes que d'une mouche domestique. *Drosophila melanogaster* est un animal expérimental populaire parce qu'il est facilement cultivées en masse sur la nature, a un temps de génération court, et les animaux mutants sont faciles à obtenir. En 1906, Thomas Hunt Morgan a commencé son travail sur *D. melanogaster* et rapporté sa première constatation d'un blanc (yeux) mutant en 1910 à la communauté universitaire. Il était à la recherche d'un organisme modèle pour étudier l'hérédité génétique et requis une espèce qui pourrait acquérir hasard mutation génétique qui serait visiblement manifeste que les changements morphologiques dans l'animal adulte. Son travail sur la drosophile lui a valu le 1933 Prix Nobel de médecine pour l'identification des chromosomes en tant que vecteur de l'héritage de gènes. Ceci et d'autres espèces sont largement utilisés dans des études de la génétique, embryogenèse, et d'autres domaines.

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

1.2.1 Rôle écologique :

Cette petite mouche sert de nourriture à plusieurs espèces d'animaux insectivores. Elle contribue à accélérer le processus de décomposition des végétaux sur lesquels elle pond ses œufs. (Ramade ,2003)

1.2.2 Moyens de lutte :

La lutte contre la Drosophile est une combinaison de mesures incluant la surveillance, la lutte culturale (mesures d'assainissement, récolte au moment opportun) et des traitements avec des insecticides homologués (Jacquet *et al*,2002).

a. La lutte biologique (culturale)

Les moyens de lutte culturale sont importants pour la maîtrise de ce ravageur.

- L'élimination des fruits tombés ou trop mûrs, la cueillette au moment opportun et l'éradication des hôtes sauvages permettent de réduire les populations. (Jacquet *et al*,2002)
- Le compostage ne constitue pas une solution fiable pour détruire les œufs et les larves dans les fruits. Il faut enterrer tous les fruits de rebut (à 30 cm et plus) ou les éliminer dans un contenant scellé. (Gillespie, 1988).
- Retirer les fruits non vendables du champ. Ne pas laisser les fruits déclassés exposés pendant plus d'une journée.



DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

Figure1 : L'élimination des fruits trop mûrs et non vendables des champs

b. La lutte chimique :

Quand on détecte les mouches dans les pièges et que les fruits sont à un stade sensible(dèsqu'ils commencent à se colorer), il faut appliquer un insecticide.(Jacquet *et al*,2002).Il faut protéger les fruits dès qu'ils commencent à se colorer jusqu'à la fin de la cueillette.Ilfaudra peut-être une autre application selon l'activité résiduelle du produit.

1.2.3 Symptôme et dégât :

La drosophile est responsable de l'installation de la pourriture grise.Les symptômes sont observés après la véraison :

- grappes serrées, ternes, grisâtres;
- les baies dégagent une odeur aigre et renferment de nombreuses larves.

Les grappes atteintes par les drosophiles donnent en cuve un goût désagréable d'amertume aumoût, ou engendrent des piqûres acétiques. (The Dow Chemical Company (1995-2015))Les fruits attaqués sont reconnaissable par la présence de petites cicatrices à la surface du fruit(trous) engendrées par les piqûres d'oviposition. En se développant, la larve se nourrit de la pulpe, ce qui entraîne un affaissement de l'épiderme autour du site de nutrition.(Chouibani *et al*,2003) Les plaies créées facilitent l'installation d'autres maladies et ravageurs (maladies cryptogamiques, bactéries...) qui contribueront à la détérioration du fruit.Les dégâts causés par une attaque de Drosophile peuvent provoquer une perte de la totalité de la production(Verger *et al*,2005).



Figure2 : *Drosophile* sur un raisin

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

1.2.4 Piégeage des drosophiles adultes :

Les producteurs et les dépisteurs peuvent surveiller la présence de la drosophile en plaçant des pièges appâtés dans les cultures vulnérables et en vérifiant leur contenu une ou deux fois par semaine (Keiding, 1977). La conception des pièges fait l'objet d'intenses recherches. On peut se procurer des pièges préfabriqués ou les faire soi-même. Jusqu'à maintenant, l'expérience semble montrer que les pièges maison sont efficaces. Ces derniers doivent être munis de couvercles pour empêcher la pluie d'y pénétrer et être suffisamment solides pour résister au vent. Les pièges peuvent être fabriqués avec des contenants en plastique transparent (250-750ml) munis de couvercle étanche, comme des contenants commerciaux de 500ml. Percer de nombreux petits trous de 3 à 4 mm de diamètre sur les côtés du contenant, ce qui empêchera les insectes plus gros d'y pénétrer tout en permettant aux mouches à vinaigre d'y entrer. Faire deux autres trous vis-à-vis l'un de l'autre de manière à ce que les pièges puissent être suspendus à l'aide d'attaches de jardin ou avec un mince fil flexible. La recherche montre que l'efficacité des pièges augmente avec la surface des orifices de ventilation; par conséquent, plus il y a de trous ou de surface ouverte dans le piège, plus il sera efficace. Éviter toutefois de percer des trous sur tous les côtés du contenant pour qu'il ne soit pas trop difficile de verser le contenu du piège dans le contenant principal (Warlopetal, 2000). Des pièges doivent être posés pour contrôler la présence éventuelle du ravageur dans les cultures sensibles (fraises, cerises, myrtilles, framboises, mûres, raisins, baies sauvages aux environs des vergers). Il faut suspendre ces pièges quand les fruits changent de couleur. On utilisera des boîtes ou des bouteilles en plastique fermées dont la partie supérieure sera percée de trous d'environ 5 millimètres de diamètre faits avec une aiguille chaude. Laisser un côté sans trous pour faciliter la vidange des bouteilles. Comme appât, mettre dans les récipients le mélange suivant:

- 50 % d'eau
- 40 % de vinaigre de pomme
- 10 % de vin rouge
- 2 gouttes de savon ou de détergent pour la vaisselle

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES



Figure3 : Des pièges-gobelets du type Becherfalle (à droite) ou des pièges de fabrication maison (à gauche) permettent de surveiller le vol et de faire des piégeages de masse.

Composition exacte de l'appât

Les pièges seront suspendus dans des endroits ombragés dans les bords des parcelles et régulièrement contrôlés. L'appât liquide doit être changé toutes les deux semaines. Après utilisation, l'appât liquide ne doit pas être versé dans les cultures lors du contrôle des pièges. Les mâles sont facilement reconnaissables à leurs taches sombres sur les ailes, et on peut en général tabler sur un rapport mâles-femelles d'environ 1:1. Pour déterminer si les fruits sont attaqués, mettre des échantillons de 100 fruits au congélateur pendant quelques heures. Les larves sortent des fruits et peuvent être comptées. Une alternative consiste à écraser les fruits dans une solution d'eau salée (350 g de sel par litre). Après 10 minutes environ, les larves apparaissent à la surface et peuvent être comptées. Placer au moins deux pièges par site. Dans le cas de sites couvrant plus de deux hectares, installer un ou deux pièges pour chaque hectare additionnel. Vider le contenu des pièges dans un contenant principal et remplacer les appâts chaque semaine. La prochaine étape consiste à déterminer si les pièges contiennent des drosophiles. Alors que les mâles peuvent être identifiés avec un grossissement minimal, il faut un microscope pour identifier les femelles (Jacquet *et al*, 2002).



Figure 8 : Utilisation d'un microscope pour identifier *la Drosophile*

2. Matériel et méthode

2.1. Présentation du matériel biologique

2.1.1. Présentation de l'insecte

L'espèce *D. melanogaster* (Meigen, 1830) est un Diptère Brachycère de la famille des *Drosophilidae*. C'est sans aucun doute l'espèce la mieux connue du genre *Drosophila*, et l'une des mieux étudiées parmi tous les êtres vivants. Elle a été choisie au cours du vingtième siècle comme organisme modèle pour la génétique et le développement. Elle est mieux connue sous le nom de *Mouche du vinaigre*.

Position systématique : (Meigen 1830).

- Règne: Animalia
- Embranchement: Arthropodes
- Classe: Insecta
- Ordre: Diptera
- Sous-ordre: Brachycera
- Famille: Drosophilidae
- Sous-famille: Drosophilinae
- Genre: *Drosophila*
- Espèce: *melanogaster*

Les drosophiles adultes mesurent environ 3 mm de long et présentent un dimorphisme sexuel (Fig.1). Pour différencier les mâles et les femelles, plusieurs caractères peuvent être considérés (Média, 2001).

a. Taille

Les femelles sont plus grandes que les mâles.

b. Abdomen

L'abdomen de la femelle est de forme pointue, avec des segments terminaux de couleur claire. L'abdomen du mâle est plus arrondi, avec des segments terminaux très foncés.

MATERIEL ET METHODE

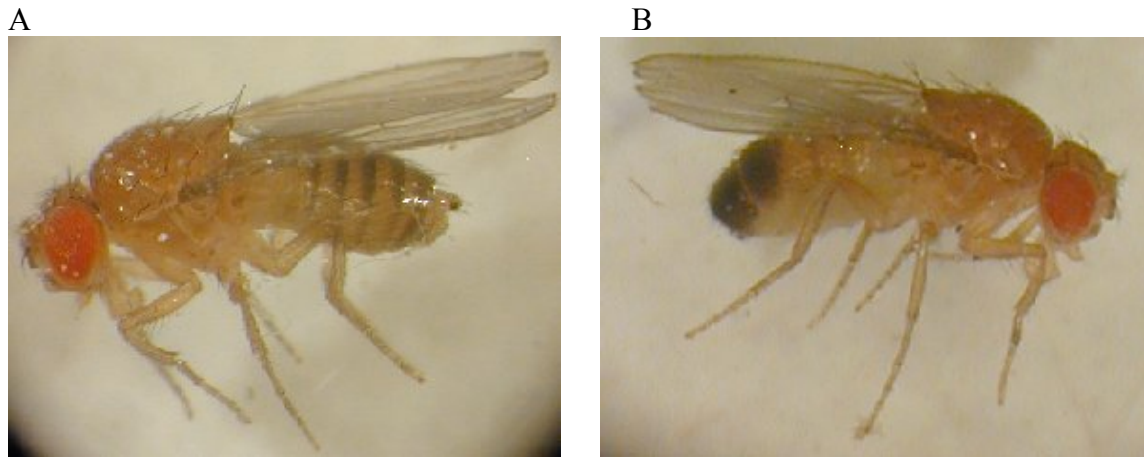


Figure 1. *D.melanogaster* adulte : femelle (A) et mâle (B) (Média, 2001)

c. Organes sexuels :

Lorsque la mouche est sur le dos (Fig.2), on peut observer chez le mâle le pénis très coloré situé à l'extrémité de l'abdomen alors que la plaque vaginale située au même endroit chez la femelle n'est pas colorée.

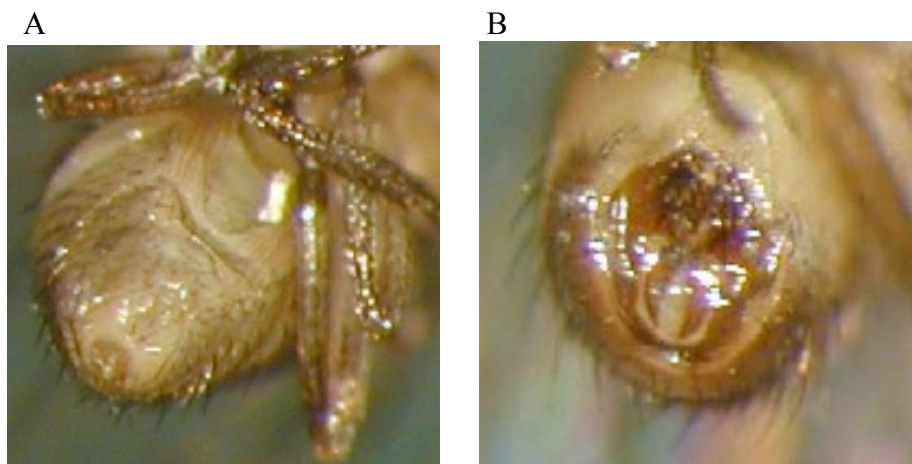


Figure 2. Organes sexuels des drosophiles : plaque vaginale Femelle (A) et pénis Mâle (B) (Média, 2001).

d. Peignes sexuels :

C'est une petite touffe de soies noires (Fig.3), située au niveau du premier article du tarse de la patte antérieure et qui n'existe que chez les mâles.

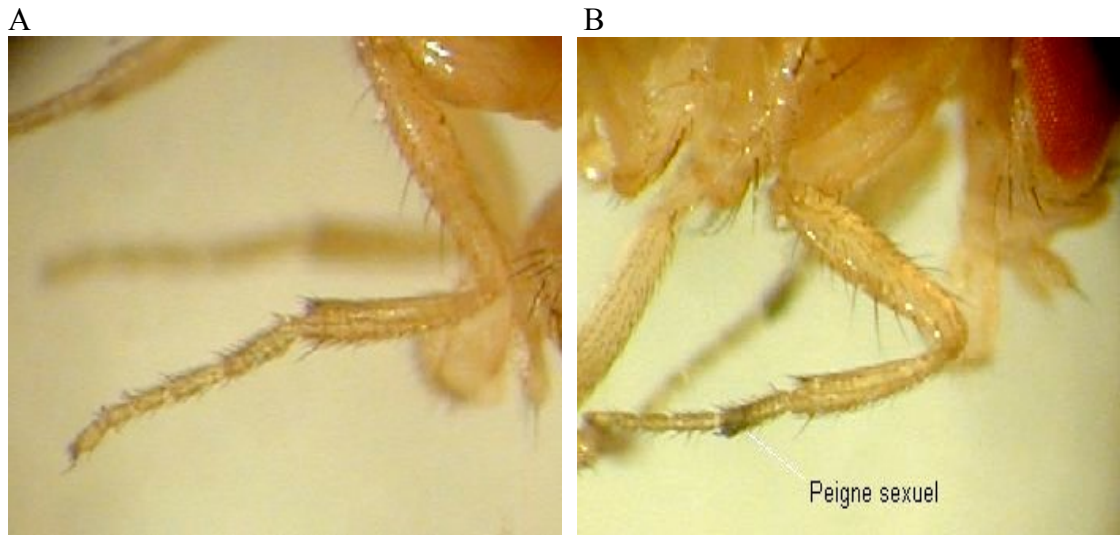


Figure 3. Peignes sexuels chez les drosophiles mâles : Patte antérieure femelle (A) et male (B) (Média, 2001).

2.1.2. Cycle de développement de *D.melanogaster* :

La drosophile est un insecte à métamorphose complète, ou holométabole (Fig.4). La femelle pond quelques centaines d'œufs allongés et blanchâtres, difficiles à voir à l'œil nu. Elle les dépose sur des fruits ou d'autres matières humides en train de fermenter (Roberge, 2008). Son cycle de vie comporte donc des stades larvaires bien différenciés morphologiquement de l'adulte (larves de type «asticot»), et un stade imaginal ailé. En milieu naturel, cet insecte est présent dans les vergers ou les vignobles (Shorrocks, 1982), et plus généralement dans les sites où se trouvent des fruits en décomposition (Mc Kenzie, 1974, Mc Kenzie et Mc Kechnie, 1979, Hoffmann et Parsons, 1991).

La femelle pond ses œufs sur la chair des fruits blessés (McCoy, 1962). Après 24h (à 25°C), une larve sort des œufs. Cette larve de premier stade, ainsi que les larves des deux stades larvaires qui lui succèdent, se nourrissent sur le fruit où la femelle a pondu. Ensuite, les larves gagnent une zone moins humide du substrat et s'empupent. Après quelques jours, il y a émergence d'un adulte ailé. Ce cycle s'effectue en moyenne en 11 jours à 25°C. Il est à noter que le temps de développement est chez cette espèce très sensible à la température.

MATERIEL ET METHODE

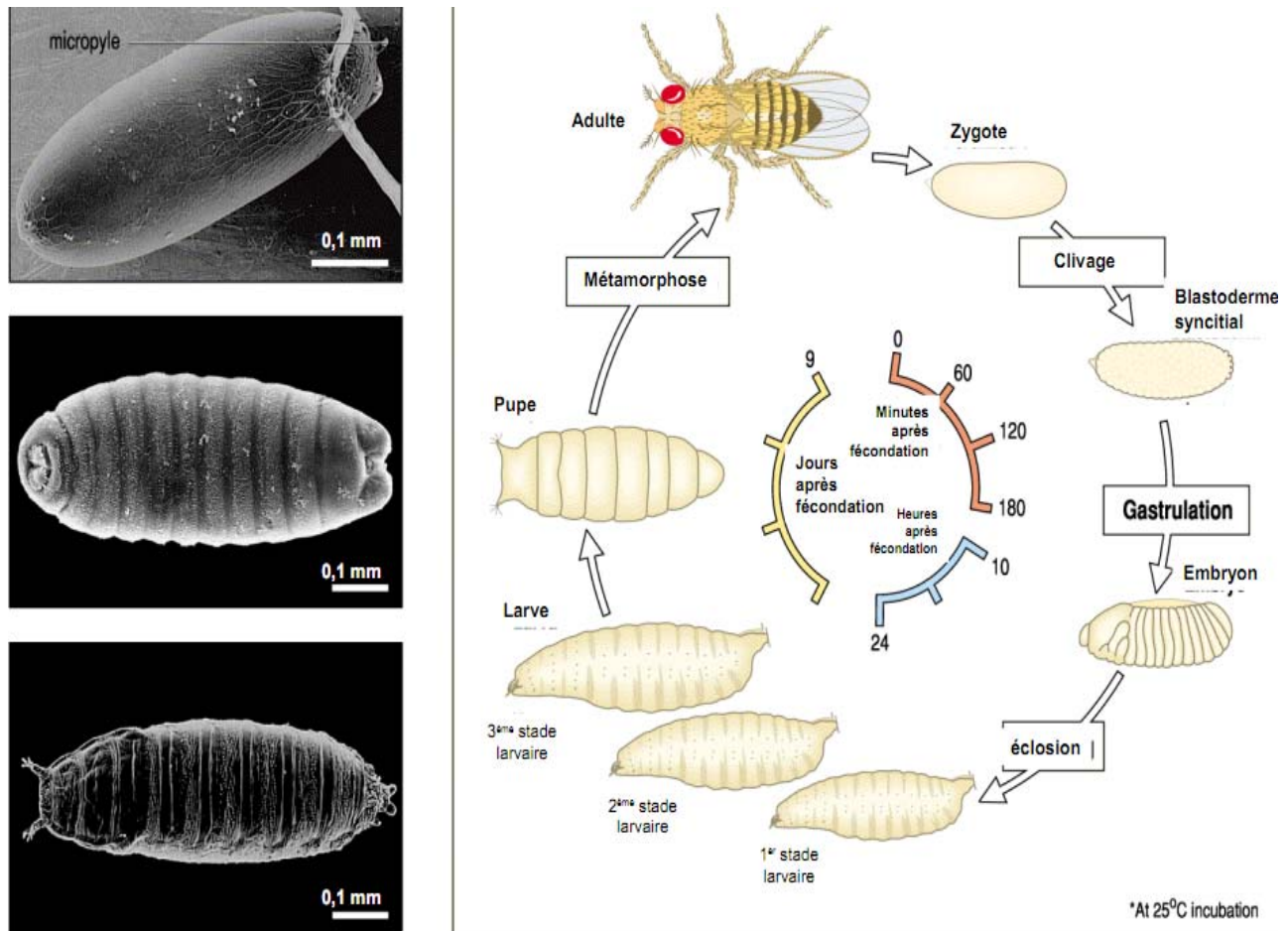


Figure 4. Cycle de développement de *D.melanogaster* (Wolpert, 2001)

2.2.1. Elevage en laboratoire :

La drosophile s'élève facilement en laboratoire sur un milieu artificiel (Fig.5). Il est possible de se procurer dans le commerce un milieu de culture à préparation instantanée ou de préparer son propre milieu à partir des composants suivants :

- Farine de maïs : 33,3 g
- Levure sèche : 33,3g
- Agar-agar en fibres : 4,8 g
- Antifongique hydroxy-benzoyate de méthyle à 10%
- Eau distillée : selon nécessité

MATERIEL ET METHODE

L'élevage des drosophiles en laboratoire est réalisé à une température de 25°C, une hygrométrie de 70% et une scotophase de 12h. Le milieu nutritif artificiel préparé au niveau de notre laboratoire est un milieu gélosé à base de farine de maïs et de levure de bière. Les drosophiles sont élevées dans des flacons de plastiques et bouchés pas un tampon de mousse (Fig.5).



Figure 5. Elevage de drosophiles (Carboni, 2000).

2.3. Présentation de l'insecticide :

Le Spinosad est dérivé de la fermentation d'une bactérie actinomycète que l'on retrouve naturellement dans le sol, *Saccharopolyspora spinosa* (Fig.6). C'est un produit qui agit à la fois par contact et par ingestion. Le Spinosad est classifié par l'ARLA (Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire) comme un 'produit à risque réduit'. (Rapport synthèse – Volet Entomologie 2006)

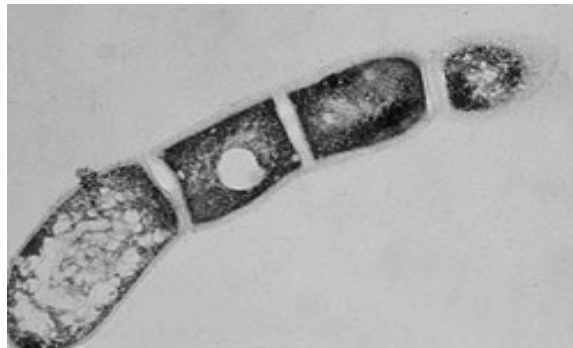
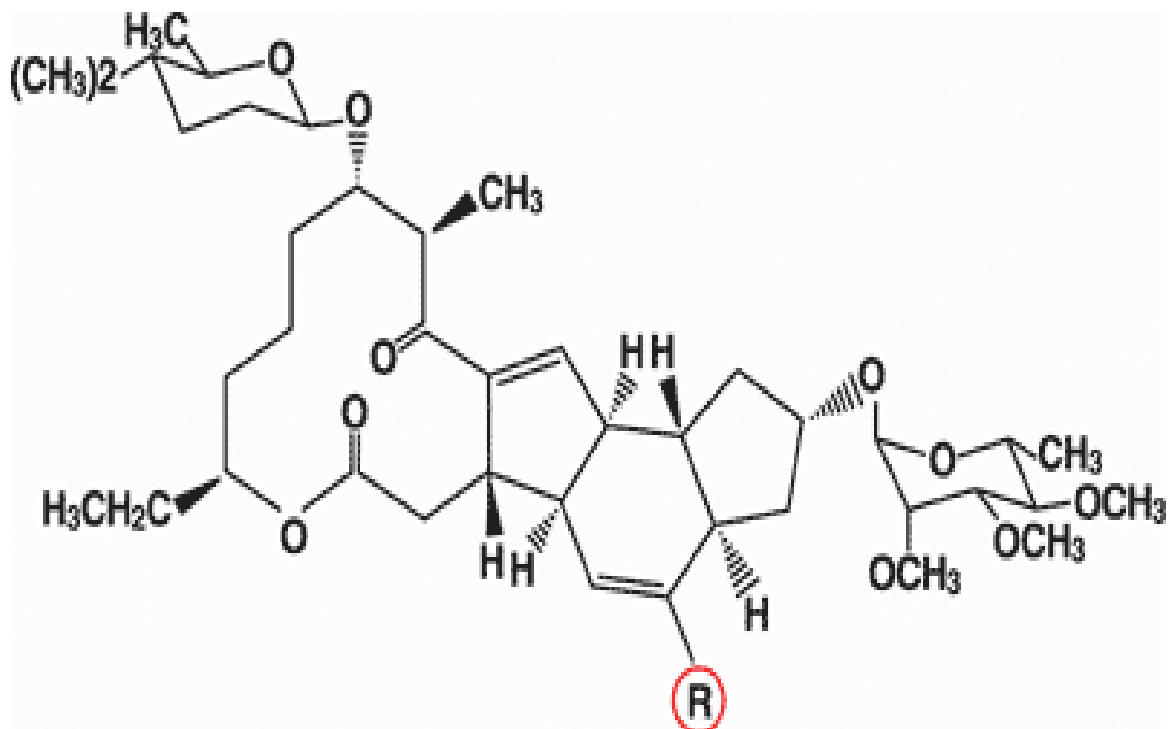


Figure 6 : Coupe longitudinale de la bactérie *Saccharopolyspora spinosa* (Horowitz et Ishaaya, 2003)

Son extraction s'effectue par un procédé original, la fermentation donnant deux métabolites biologiquement actifs baptisés spinosynes A et spinosynes D (Fig.7). Le spinosad est le nom donné au mélange des deux spinosynes. (Agro science)



Spinosyne A: R = H
Spinosyne D: R = CH₃

Figure 7. Structure du spinosad (Horowitz et Ishaaya, 2003)

2.4. Traitement

Le spinosad a été testé, *in vivo* à une dose de 288.50 ppm, correspondant à la CI 50 ou concentration d'inhibition de la mue nymphale entraînant une mortalité de 50% des individus. L'insecticide a été administré par application topique, à raison de 1µl par insecte, déposé à l'aide d'une micro-seringue sur la face ventrale des larves de L3 de *D.melanogaster*. Les témoins reçoivent le solvant seul (Acétone).

2.5. Dosage enzymatique :

2.5.1. Dosage de l'Acétylcholinestérase (AChE) :

MATERIEL ET METHODE

La méthode de dosage la plus courante de l'AChE est celle d'Ellman et *al* (1961). Elle consiste à fournir à l'enzyme AChE, un substrat artificiel l'acétylthiocholine¹, dont l'hydrolyse catalysée par l'AChE libère de la thiocholine et de l'acide acétique.

La quantité de thiocholine obtenu est proportionnelle à l'activité enzymatique révélée grâce à une méthode colorimétrique faisant intervenir le DTNB² (5-5-dithio-bis-2-nitrobensoïque) qui se lie avec la thiocholine pour former un complexe jaune, le TNB (acide 5-thio-2-nitrobensoïque). L'activité spécifique de l'AChE est évaluée à partir des échantillons biologiques (têtes) des adultes des séries témoins et traitées. Les têtes (pool de six) sont homogénéisées dans un 1ml de solution détergente³. L'homogénat est centrifugé (9000 tours/min pendant 10 min), et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage a été réalisé comme suit : 100µl de surnageant sont additionnés à 100µl de DTNB dans du tampon tris (0,1M ; pH 7) et 1ml de tampon tris (0,1M ; pH 7). Après 3 à 5 minutes de repos nécessaire pour épuiser la réaction spontanée, 100µl de substrat acétylthiocholine (préparé extemporanément) sont ajoutés. La lecture des absorbances s'effectue toutes les 4 min pendant 20 min grâce à un spectromètre (SHIMADZI-UV-1202), à une longueur d'onde de 412 nm contre un blanc de gamme⁴.

$$\text{AChE} = \frac{\delta\text{do}/\text{min}}{1,36 \times 10} \times \frac{1}{\frac{\text{Volume de l'homogénat}}{\text{Volume total de la cuve}} \times \text{mg de prot}}$$

M/min/mg de prot

δdo : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat

1,36 × 10 : coefficient d'extinction molaire du DTNB. (M⁻¹cm⁻¹)

Volume de l'homogénat: 1300 µl (100 µl homogénat + 100 µl DTNB+ 100µl d'acétylthiocholine + 1000µl de tompon tris).

1- 118 mg d'Acethylthiocholine dans 5 ml d'eau distillée

2- 36.9 mg DNTB + 15 mg CO₃HNa, dilués dans 10 ml du tampon tris (0.1M ; pH 7)

3- solution détergente: 38,03 mg d'EGTA + tritonx 100% + 5,845 g Nacl + tampon tris (10mM ; pH7) 80 ml

4- 100 µl de solution détergente +100 µl DNTB+1 ml tris (0,1M ; pH 7) + 100 µl de substrat Acethylthiocholine.

La quantité en protéines totales des différents échantillons biologiques (homogénat) a été préalablement déterminée grâce à l'équation de la droite de régression ($y=0.00924x-0.0283$) (Fig.8) obtenue après un dosage selon la technique de Bradford (1976).

Dans nos résultats l'activité spécifique de AChE est exprimée en $\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine.

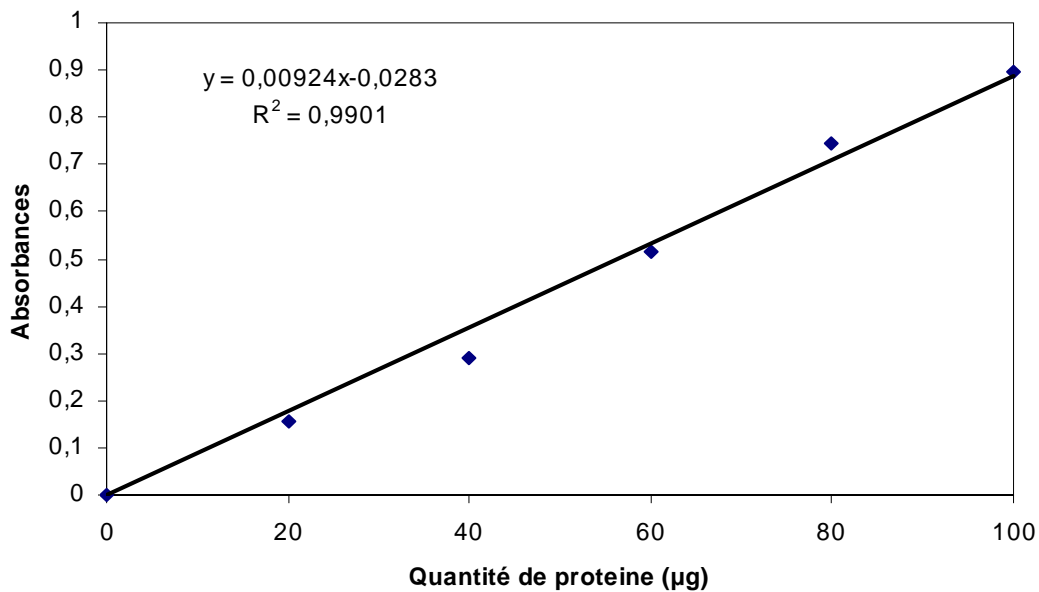


Figure 8. Dosage des protéines dans le corps chez *D.melanogaster* : droite de régression exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg).

2.6. Analyse statistique

Les résultats obtenus sont représentés par la moyenne suivie de l'écart type des échantillons biologiques. La régression linéaire, le test t de Student ainsi que l'analyse de la variance à un critère de classification ont été effectués.

Pour toutes les séries de données, l'égalité des variances a été confirmée grâce aux tests de Bartlett et Levene avant l'utilisation des tests paramétriques.

Tous les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel MINITAB d'analyse et de traitement statistique des données, version Française 13 pour Windows (X, 2000).

RESULTATS

3. Résultats

L'activité enzymatique (AChE) a été mesurée chez *D. melanogaster* le jour de l'exuviation adulte (0 jour).

3.1. Effets sur l'activité spécifique de l'AChE

L'activité spécifique de l'Acétylcholinestérase (AChE) a été estimée chez les séries témoins et traitées par application de la formule d'Ellman et *al.* (1964), en utilisant les pentes des droites de régression, exprimant l'absorbance en fonction du temps (Tableau 1); les résultats relatifs à l'activité spécifique de l'AChE sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéines ($\mu\text{Mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

Tableau 1 : Dosage de l'Acétylcholinestérase chez *D.melanogaster* après traitement au spinosad : absorbances en fonction du temps.

Temps par (min)		0	4	8	12	16	20
Absorbances	Témoin Parents	0,07 ± 0,02	0,21 ± 0,07	0,40 ± 0,10	0,55 ± 0,09	0,73 ± 0,06	0,86 ± 0,06
	Traitée Parents	0,09 ± 0,03	0,28 ± 0,05	0,43 ± 0,06	0,58 ± 0,11	0,71 ± 0,09	0,85 ± 0,10
	Témoin Génération 1	0,07 ± 0,02	0,25 ± 0,02	0,44 ± 0,04	0,59 ± 0,03	0,77 ± 0,03	0,93 ± 0,04
	Traitée Génération 1	0,10 ± 0,06	0,13 ± 0,02	0,20 ± 0,05	0,27 ± 0,05	0,33 ± 0,05	0,42 ± 0,04

RESULTATS

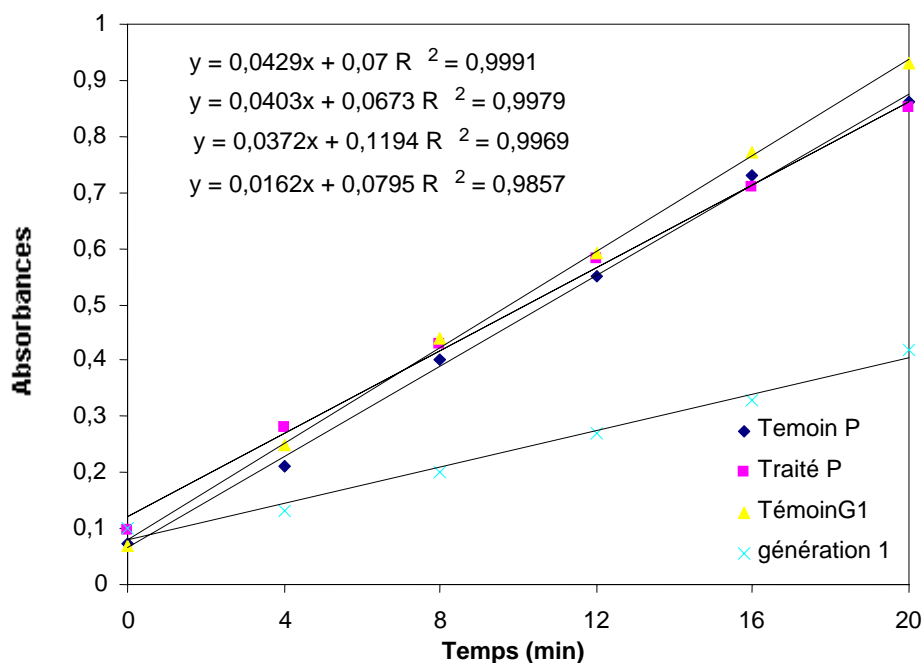


Figure 1. Dosage de l'Acétylcholinestérase chez *D.melanogaster* après traitement au spinosad : absorbances en fonction du temps (R^2 coefficient de détermination).

L'activité spécifique de l'AChE (Tableau 2 ; Fig10), enregistrée chez la génération parents, entre la série témoin et traitée, montre une diminution significative après comparaison des moyennes ($p=0.022$). Une différence très significative a été aussi révélée au cours de la première génération entre les séries témoins et traitées ($p=0.001$). La comparaison entre la génération parents et la génération 1 indique également une diminution très significative ($p=0.010$).

L'analyse de la variance à un critère de classification confirme ces résultats (Tableau 2). Un effet traitement très significatif a été observé sur l'activité de l'AChE entre les différentes séries ($p=0.004$).

Le traitement au spinosad entraîne une neurotoxicité au stade adulte de *D.melanogaster*, au cours des deux générations. Par ailleurs, la neurotoxicité semble très importante chez les adultes de la génération 1 montrant un effet différé du spinosad.

RESULTATS

Tableau 2 : Effets *in vivo* du spinosad testé par application topique (CI 50 : 288.50ppm) sur l'activité spécifique de AChE ($\mu\text{Mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) le jour de l'exuviation adulte de *D.melanogaster* ($m \pm s.e$; $n = 4-6$).

Traité et âge	Génération parents		Génération 1		ANOVA
Adultes (0 jour)	Témoin Parents	Traitée Parent	Témoin génération1	Traitée Génération 1	
	$69,78 \pm 3.40$ a	55.30 ± 2.90 b	$70,49 \pm 1,60$ a	37.28 ± 3.40 c	P=0.004** p<0.01

Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de $p > 0.05$

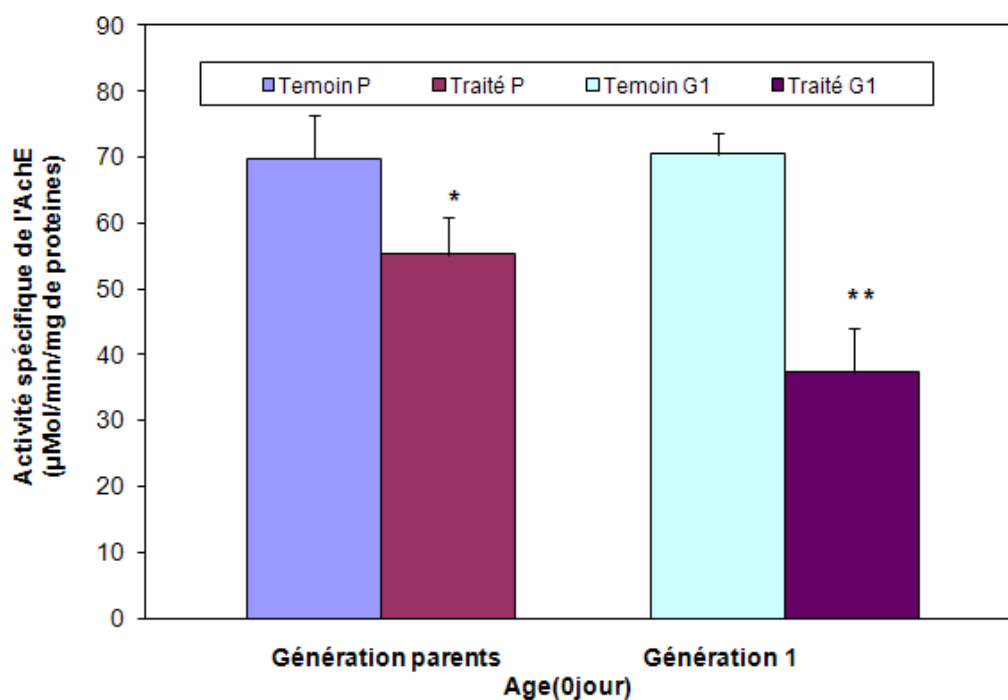


Figure 2. Effets *in vivo* du spinosad testé par application topique (CI 50 : 288.50ppm) sur l'activité spécifique de AChE ($\mu\text{Mol}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) le jour de l'exuviation adulte de *D.melanogaster* ($m \pm s.e$; $n = 4-6$).

Comparaison entre séries témoins et traitées :

(*)Différences significatives

(**)Différences très significatives

4. Discussion

4.1. Effets du spinosad sur l'activité spécifique de l'AChE

L'AChE est une enzyme clé du système nerveux central des insectes ; cet enzyme de neurotoxicité découverte par Naschmanshn (1938), joue un rôle crucial dans la neurotransmission cholinergique par l'hydrolyse rapide du médiateur chimique, l'acétylcholine (Guèdes *et al.*, 1997 ; Jensen, 1998 ; Rebeiro *et al.*, 1999 ; Charpentier *et al.*, 2000 ; Ischaaya, 2001). L'hydrolyse de l'acétylcholine par l'AChE permet la fermeture des canaux associés aux récepteurs du neurotransmetteur ; si l'action de cette enzyme est bloquée, la membrane post synaptique reste continuellement excitée ce qui conduit à l'accumulation dans la région synaptique provoquant une hyperexcitation causant la mort de l'insecte (Haubruge et Amichot, 1998).

Cette enzyme est un site cible des divers insecticides à action neurotoxique, essentiellement les organophosphorés (Toutant, 1989 ; Fournier et Mutero, 1994 ; Ecobichon, 1996 ; Tomita *et al.*, 2000 ; Seigfried et Scharf, 1991 ; Maiza *et al.*, 2004 ; Morakchi *et al.*, 2005).

Nos résultats montrent que, le spinosad affecte l'activité spécifique de l'AChE chez l'adulte de *D.melanogaster* après traitement au stade larvaire. L'altération des sites cibles de l'acétylcholinestérase est citée chez *B. germanica*, après traitement par l'acide borique, insecticide inorganique (Sifi, 2002; Gore et Schal, 2004; Habes *et al.*, 2006), l'acétamipride un néonicotinoïde (Morakchi *et al.*, 2005), ou encore des carbamates comme le benfuracarbe (Maiza, 2004) ou le bendiocarbe (Valles, 1998). L'inhibition de l'AChE par les carbamates a été également observée chez d'autres espèces notamment chez *Carassius auratus* (Breteau *et al.*, 2000) traitées avec le carbofuron ou encore chez *Nasanovia ribisnigri* (Rufingier *et al.*, 1999) traitées avec le propoxure. La neurotoxicité des organophosphorés a été également notée chez *Schizahis graminum* (Zhou *et al.*, 2000) et *Ambelema plicata* (Wendi *et al.*, 2003) traitées par le chloriprifos-éthyl mais aussi chez *Eisenia foetida* (Rao et Kavita, 2004) traitées avec l'azodrine; le fenithion et l'éthion entraînent de la même manière l'inhibition de l'AChE chez *Bombyx mori* (Nath et Kumar, 1999). Ce même effet a été également rapportée chez de nombreuses autres espèces d'Arthropodes telles que les Crustacés comme *Penaeus stylirostris*, traitée au fenithion (Lingnot *et al.*, 1998), *Porcellio dilatatus* soumis à l'action du

DISCUSSION

parathion (Ribeiro *et al.*, 1999) et le Copépode *Tigriopus brevicornis* traité au carbofuron et malathion (Forget *et al.*, 1999).

Les herbicides, le thiobencarbe et le glyphosphate entraînent également l'inhibition de l'AChE chez *Anguilla anguilla* (Fernandez-Vega *et al.*, 2002) et *Leparinus obtasideus* (Glusezak *et al.*, 2006) respectivement.

Des effets similaires sont aussi rapportés chez d'autres espèces d'invertébrés comme chez les Mollusques Gastéropodes *Lymnaea stagnalis* et *L. acuminate* (Varanka, 1968; Singh et Agarwal, 1983) et chez les Nématodes (Edwards et Fisher, 1991). Les vertébrés comme les poissons présentent aussi des effets neurotoxiques après action de carbamates (carbofuron) tels que chez *Clariassius auratus* (Bretaud *et al.*, 2000) ou encore un organophosphoré l'endosulfon tels que chez *Leponus macrochiris* (Dutta et Arends, 2003).

Récemment des travaux ont montré que la réduction de l'activité de l'AChE n'est pas due exclusivement aux organophosphorés et aux carbamates, et que d'autres classes de contaminants tels que les détergents et les métaux et les pyrethrinoides sont également impliqués dans la réduction de l'AChE (Diamantino *et al.*, 2003 ; Frasco *et al.*, 2005 ; Guilhermino *et al.*, 1998 ; Payne *et al.*, 1996 ; Reddy *et al.*, 1999).

Reddy *et al.*, (1991) ont montré une baisse de 29% de l'activité de l'AChE dans le tissu de cerveau des poissons juvéniles et une diminution de 20% chez la carpe (Szegletes *et al.*, 1995). Rao et Rao (1995) ont également montré une inhibition de l'AChE *in vitro* par la perméthrine et cyperméthrine. Bendahou *et al.*, (1999) ont montré que la cyperméthrine et le fenitrothion inhibent l'activité de l'ACE à des doses sub-létales. Badiou *et al.*, (2008) montrent également et confirment l'inhibition de la l'AChE par la deltaméthrine (pyréthrinoides) et pirimicarbe (carbamate).

En conclusion, l'utilisation du spinosad affecte l'activité de l'AChE .

5. Conclusion et perspectives

Le traitement au spinosad, entraîne une modification des activités spécifiques de l'AChE chez les adultes de *D.melanogaster* ; en effet il existe un effet significatif de la molécule sur le biomarqueur.

Le spinosad présente des effets sur la neurotoxicité non seulement chez la génération parent mais aussi chez la première génération.

A l'avenir, il serait intéressant d'évaluer chez la *D.melanogaster* l'effet de cette molécule sur :

- D'autres stades de développement.
- D'autres doses sublétales.
- D'autres enzymes de détoxification (mono-oxygénés, estérases et réductases).
- Marqueurs du stress oxydatif (catalase).
- Vitellogénines et vitellines.

RESUME

6. Résumé

Les effets d'un biopesticide, lespinosad, ont été évalués sur les adultes de *D.melanogaster* le jour de l'exuviation sur le biomarqueurs l'AChE. Le traitement a été réalisé par application topique à la CI50 sur les larves de dernier stade.

Le dosage de l'AChE, réalisé selon la méthode d'Ellman et *al.* (1964) révèle que le spinosad a une action neurotoxique; en effet, l'activité spécifique de l'AChE est significativement inhibée aussi bien chez les adultes de la génération parent que ceux de la première génération de *D.melanogaster*. Une inhibition de l'AChE est également observée entre les deux générations avec un effet plus différé que de la molécule.

Mots clés: biopesticides,
D.melanogaster, biomarqueur, Acétylcholinestérase

spinosad,

RESUME

Summary

The effects of a biopesticide, the spinosad , were estimated on the adults of *D.Melanogaster* the day of the exuviation on the biomarker ; the ACHE the treatment was realised by topical application in the CI50 on the larves of last stage.

The dosage of Ache , realised according to the method of Ellman and Al , reveals that the spinosad has a neurotoxic action ; indeed, the specific activity of Ache is significantly inhibited as well at the adult's of the parent generation while those of the first generation of *D.Melanogaster*. An ACHE inhibition is also observed between both generations with an effect more deferred that of the molecule.

ملخص

تمتقييما لآثار المترتبة على المبيدات الحويوية spinosad على الأفراد البالغين من النوع *D.melanogaster* وذلك بتأثيرها على العلامات البيولوجية أستيلكولينسترازو المعالجة التي أجريت بالتطبيق الموضعي لـ CI50 على الطور النهائي لليرقات.

جرعة الأستيلكولينستراز المحققة حسب طريقة Ellman et al. (1964) كشفت أن لـ spinosad تأثير عصبي، حيث أنه يثبط نشاط الأستيلكولينستراز عند الأفراد البالغين لجيل الآباء بشكل أكبر من أفراد الجيل الأول من النوع *D.melanogaster*.

كما لوحظ أيضا تثبيط الاستيلكولينستراز بين الجيلين مع وجود تأثير متأخر لـ spinosad.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Ahmed S. & Wilkins R.M. 2002.** Studies on some enzymes involved in insecticide resistance in a fenitrothion- resistant and -susceptible strains of *Musca domestica* (Dipt, Muscidae). *I.I. Appl. Ent*, **126**: 1-7.
2. **Anonyme.1996.** spinosad guide .Dow Agrosience, 25p
3. **Anspaugh D. D., Rose R. L., Koehler P. G., Hodgson E. & Roe R. M., 1994.** Multiples mechanisms of pyrethroid resistance in the German cockroach. *Pestic. Biochem. Physiol.*, **50**: 138-148.
4. **Aribi N., Quennedy A., Soltani N. & Delbecque J.P., 1999.** L'initiation de la métamorphose chez *Zophobas atratus* (Coléoptera : Tenebrionidae): effets des ligatures et des régulateurs de croissance. *Ann. Soc. Entomol. FT.*, **35** (Suppl): 59-64.
5. **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**: 55-62.
6. **Ballesteros M.L. Wunderlin D.A. & Bistni M.A. 2009.** Oxidative stress responses in different organs of *Jenyasia multidentata* exposed to endosulfan. *Ecotox. Envir. Safety*, **72**: 199-205.
7. **Baussant T, Bechmann R.K., Taban I.C., Larsen B.K., Tandberg A.H., Bjernstad A., Torgrimsen S., Naevdal A., Oysaed K.B., Jonsson G. «& Sanni S., 2009.** Enzymatic and cellular responses in relation to body burden of PAHs in bivalve molluscs: A case study with chronic levels of North Sea and Barents Sea dispersed oil. *Marine Pollution Bulletin*, **58**: 1796-1807.
8. **Blanchette B.N. & Singh B.R., 1999.** Induction of Glutathione-S-Transferase in the Northern Quahog *Mercenaria mercenaria* After Exposure to the Polychlorinated Biphenyl (PCB) Mixture Aroclor 1248. *J. Prot. Chem.*, **(21)8**: 489-494.
9. **Bolton R.M. & Ahokas J.T., 1997.** Ontogenic expression of detoxication enzymes in an Australian marsupial, the brushtail possum (*Trichosurus vulpeculd*). *Comp. Biochem. Physiol. Biochem. Mol Biol*, **118(1)**: 239-47.
10. **Borgeraas J., Nilsen K. & Stenersen J., 1996.** Methods for purification of glutathione transferases in the earthworm Genus eisenia, and their characterization. *Comp. Biochem. Physiol. C. Pharmacol. Toxicol. Endocrinol*, **114(2)**: 129-40.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

11. **Bouvier J. C., Boivin T., Beslay D. & Sauphanor B., 2002.** Age-dependent response to insecticides and enzymatic variation in susceptible and resistant codling moth larvae. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, **51**: 55-66.
12. **Boyer S., Tilquin M., Ravanel P. 2006.** Differential sensitivity to *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* and temefos in field mosquito populations of *Ochlerotatus cataphylla* (Diptera: Culicidae): toward resistance. *Envir. Toxic. Chemistry*, **26(1)**: 157-163.
13. **Breudaud S., Toutant J. P. & Saglio P. 2000.** Effects of Carbofuron, Diuron, and Nicosulfuron on Acetylcholinesterase Activity in Goldfish (*Carassius auratus*). *Ecotox. Envir. Safety.*, **47**: 117-124.
14. **Breuer M., Hote B., Loof A. D. & Naqvi S. N. H., 2003.** Effect of *Melia azedarach* extract on the activity of NADPH-cytochrome *c* reductase and cholinesterase in insects. *Pest. Bioch. Physiol.*, **76**: 99-103.
15. **Bull D. L., & Patterson R. S., 1993.** Characterization of pyrethroid resistance in a strain of the German cockroach (Diptoptera: Blattellidae). *J. Econ. Entomol.*, **86**: 20-25.
16. **Cassier P., Lafont R., Descamps M., Porchet M. & Soyeux D., 1997.** La reproduction des invertébrés: stratégies, modalités et régulation. *Edition Masson.*, 354 p.
17. **Cetin, H., Yanikoglu, A., Cilek, J.E., 2005.** Evaluation of the naturally derived insecticide spinosad against *Culex pipiens L.* (Diptera: Culicidae) larvae in septic tank water in Antalya, Turkey. *J. Vector Ecol*, **30**: 151-154.
18. **Charpentier A., Menozzi P., Marcel V., Villatte F. & Fournier D., 2000.** A method to estimate acetylcholinesterase-active sites and turnover in insects. *Ann. Biochem.*, **285**: 76-81.
19. **Chatterjee S. & Bhattacharya S., 1984.** Detoxication of industrial pollutants by the glutathione S-transferase system in the liver of *Anabas testudineuse* (Bloch). *Toxicol. Lett.*, **22**: 187 - 198.
20. **Chouibani M; Ouizbouben A et KAACKH; 2003**: protection intégrée des agrumes . Ed . ouvrage realize par la direction de la protection des vegetaux, des controles technique et de la repression des faudes en cooperation avec la GTZ (projet contrôle phytosanitaire). 13p.
21. **Cinzia A., Baldracchini F., Piazzoli A., Frosini R., Talesa V. & Giovannini E., 2006.** Activity changes of glyoxalase system enzymes and glutathion S-transferase in

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- the bivalve mollusc *Scapharca inaequalis* exposed to the organophosphate chlorpyrifos. *Pestic. Biochem. Physiol.*.
22. **Clark D.G. 1989.**The comparative enzymology of the glutathione S-transferase from non-verbrate organisms. *Comp. Biochem. Physiol.*, **92B**: 419-449.
 23. **Copping L.G. & Menn J.J., 2000.** Biopesticides. A review of their action, applications and efficacy. *Pest. Manag. Sci*, **56**: 651-676.
 24. **Copping, L.G & Menn J.J., 2001.** Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Manag. Sci*, **56**: 651-676.
 25. **Dajoz R., 1986.**Les insecticides.E d.Dunod.paris, 147 p.
 26. **Dellali M., Gnassia-Barelli M., Romeo M. & Aissa P., 1999.** The use of glutathione S-transferase activity in *Ruditapes decussatus* and *Mytilus galloprovincialis*., *Pest. Biochem. Physiol.* **44**: 74-81.
 27. **Dhadialla T. S., Retnakaran A. & Smaghe G., 2005.** Insect growth- and development- disturbing insecticides, *in*: L.I. Gilbert, K. Latrou, S.S. Gill (Ed), *Compreh. Mol. Insect S, Elsevier- Pergamon, Oxford, UK*, **vol. 6**, PP. 55-115.
 28. **Dutta H. M. & Arends D. A., 2003.** Effects of endosulfant on brain acetylcholinesterase activity in juvenile blue gill sunfish. *Environ. Res.*, **91**: 157-162.
 29. **Ecobichon D. J., 1996.** Toxic effects of pesticides. *In*: Klaassen C. D. (Ed). Casarett and Doull's Toxicology; The basic science of poisons Me Graw- Hill, *New York*, **pp**: 643-689.
 30. **Edwards C. A., & Fisher s. W., 1991.** The use of cholinesterase measurements in assessing the impacts of pesticides on terrestrial and aquatic inventebrates. *In*: Mineau P. (Ed). Cholinesterase inhibiting insecticides. *Elsevier, Amsterdam*, **pp**. 225-275.
 31. **Fernandez-Vega C., Sancho E., Ferrando M. D. & Andreu E., 2002.** Thiobencarb- Induced changes in Acetylcholinesterase Activity of the Fish *Anguilla anguilla*. *Pest. Biochem Physiol.***72**: 55-63.
 32. **Fitzpatrick P.J. & Sheehan D., 1993.** Separation of multiple forms of glutathione S-transferase from the blue mussel *Mytilus edus*. *Xenobiotica*, **23**: 851-861.
 33. **Fitzpatrick P.J., Krag T.O.B., Hojrup P. & Sheehan D., 1995.** Characterization of glutathione S-transferase and related glutathione-binding protein from gill of the blue mussel *Mytilus edus*. *Biochem. J.*, **305**: 145-150.
 34. **Foley Y. & Sheehan D., 1998.** Glutathione S-transferases of the yeast *Yarrowia lipolytica* have unusually large molecular mass. *Biochem. J.*, **1**: 839-45.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

35. **Forget J., Pavilion J. F., Beliaeff B. & Bocquené G., 1999.** Joint action of pollutant combinations (Pesticides and metals) on survival (LC₅₀ Values) and acetylcholinesterase activity of *Tigriopus brevicornis* (Copepoda, Harpacticoida). *Envir. Toxicol Chemes.*, **5**: 912-918.
36. **Fort D. G., Stover E. L., Bantle J. A., Dumont J. N. & Finch R., 2000.** Evaluation of a reproductive toxicology assay using *Xenopus laevis*: boric acid, cadmium and ethylene glycol monomethyl ether. *J. App. Toxicol.*, **21**: 41-52.
37. **Fournier D. & Mutero A., 1994.** Modification of acetylcholinesterase as a mechanism of resistance to insecticides. *Comp. Biochem. Physiol.*, **108C**: 19.
38. **Gäde G., Hoffmann R. H. & Spring J. H., 1997.** Hormonal regulation in insects: Facts, Graps and future direction. *Physiol. R.*, **77(4)**: 963-1032.
39. **George S.G. & Young P., 1988.** Purification and properties of plaice liver cytosolic glutathione S-transferase. *Mar. Environ. Res.*, **24**: 93-96.
40. **Georges G.S. & Buchanan G., 1990.** Isolation, properties and induction of plaice liver cytosolic glutathione S-transferase. *Fish. Physiol. Biochem.*, **8(6)**: 437-449.
41. **Gillespie, D.R. 1988** Greenhouse evaluations of a predatory mite, *hypoaspis* sp, 1 :34.
42. **Gluszczak L., Dos -Santos M. D., Crestani M., Bragada F. M., Araujo P. F. D, Duarte M. F. & Vieira V. L., 2006.** Effect of glyphosate herbicide on acetylcholinesterase activity and metabolic and hematological parameters in piava (*Leporinus obtusidens*). *Ecotox. Environ. Safety.*
43. **Gore J. C. & Schal C., 2004.** Laboratory evaluation of boric acid- Sugar solution as based for management of German Cockroach infestation. *J. Econ. Entomol.*, **97(2)**: 581-587.
44. **Guedes R. N. C., Zbu K. Y., Kambhampti S. & Dover B. A., 1997.** An altered acetylcholinesterase conferring negative cross insensitivity to different insecticidal inhibitors in organophosphate-resistant lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica*. *Pest. Biochem. Physiol.*, **58**: 55-62.
45. **Habes D., Kilani-Morakchi S., Aribi N., Farine J.P. & Soltani N., 2006.** Boric acid toxicity of the German cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activity. *Pest. Biochem. Physiol.* **84** : 17-24.
46. **Habig W.H., Pabst M.J. & Jacoby W.B., 1974.** The glutathione S-Transferase: The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.*, **249**: 7130-7139.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

47. **Hock T., Cotrill T., Keegan J. & Garza D., 2000.** The E23 early gene of *Drosophila* encode an ecdysone-inducible ATP-binding cassette transporter capable of repressing ecdysone-mediated gene activation. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **97**: 9519-9524.
48. **Hoffmann, A. A., & Parsons, P. A. (1991).** Evolutionary genetics and environmental stress, (284 p.). Oxford University Press.
49. **Hong S.H., Park H.J. & Kong K.H., 1999.** Purification and biochemical properties of glutathione S-transferase from *Oryza sativa*. *Comp. Biochem. Physiol*, **122**: 21-27.
50. **Hu W., Cook B.J., Ampasala D.R., Zheng S., Caputo G., Krell P.J., Retnakaran A., Aril B.M. & Feng Q., 2004.** Morphological and Molecular Effects of 20-hydroxyecdysone and its Agoniste Tebufenozide on CF-203, a Midgut-Driven Cell Line From the Spruce Budworm, *Christoneura fumiferana*. *Archiv. Insect. Biochem. Physiol.*, **55**: 68-78.
51. **Huang ,K.X., Xia L., Zhang Y., Ding X., Zahn J.A., 2009.** Recent advances in the biochemistry of spinosyns. *Applied Microbio and Biotech*, **82**:13–23.
52. **Ishaaya L., 2001.** Biochemical sites of insecticide action and resistance. *Springer-Verlag Berlin Heidelberg.*, pp. 293-321.
53. **Jacquet V.F.Guéguen, R.Dutton, 2002.** intérêt du spinosad en viticulture pour lutter contre les lépidoptères, les thrips et la drosophile. annales.6e CIRA, montpellier, 46. decembre 2002, 8p.
54. **Jeffrey., 1999.** insecticides. *Chemistries and caracteristios.* blacksburg. virginis. 18p
55. **Jensen S. E., 1998.** Acetylcholinesterase activity associated with methiocarb resistance in a stain of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis* (pergande). *Pest. Biochem. Physiol.*, **61**: 191-200.
56. **Kaakeh W. Bennett G. W., 1997.** Evaluation of trapping and vacuuming compared with low impact insecticide tractics for managing German cockroaches in residences. *J. Econ. Emomol.*, **90(4)**: 976-982.
57. **Kamisaka K. & Habig W.H., Kelley J.N., Arias I.M. & Jakoby W.P., 1975.** Multiple forms of human glutathione S-transferase and their affinity for bilirubin. *Eur. J. Biochem.*, **60**: 153-161.
58. **Keeran W. S., & Lee R. F., 1987.** The purification and characterisation of glutathione S-transferase from the hepatopancreas of the blue crab, *Callinectes sapidus*. *Arch. Biochem. Biophys.*, **255**: 233-243.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

59. **Keiding J., 1977.** resistance in the housefly in denmark and elsewhere in WatsunDL, braown AWA. pesticide management and insecticide resistance. new York, academic press, page: 261, 302
60. **Kirst, H.A., Michel, K.H., Mynderse, J.S., Chio, E.H., Yao, R.C., Nakasukasa, W.N., Boeck, L.D., Occlowitz, J.L., Pascak, J.W., Deeter, J.B., Thompson, G.D., 1992.** Discovery, isolation, and structure elucidation of a family of structurally unique fermentation-derived tetracyclic macrolides, *in*: D.R. Baker, J.G. Fenyes, J.J. Steffens (Eds.), *Synthesis and Chemistry of Agrochemicals III*, American Chemical Society, Washington, DC. pp 214–225.
61. **Kralli A., Bohem S.P. & Yamamoto K.R., 1995.** LEM1, an ATP binding cassette transporter, selectively modulates the biological potency of steroids hormones. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*, **92**: 4701-4705.
62. **Kristensen, M., Jespersen, J.B., 2004.** Susceptibility of spinosad in *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) field populations, *J. Econ. Entomol.* **97**: 1042–1048.
63. **Lagbouri A., 1997.** Etude de la biologie de *Donax trunculus* dans la baie d'Agadir et de réponse à la pollution à travers trois biomarqueurs (Acétylcholinestérase, Peroxydation lipidique et Glutathion S-transférase). *Fac. Sci. Agadir (Maroc)*: **171p**.
64. **Leonova !.N. & Slynco N.M. 2004.** Life stage variation in insecticidal susceptibility and detoxification capacity of the beet webworm, *Pyrausta sticticalis* L. (Lep., Pyralidae). *Blackwell Verlag, Berlin*, **128(6)**: 419-425.
65. **Lignot J. H., Charmantier G. & Cochard J. C., 1998.** Effects of an organophosphorus insecticide, fenitrothion, on survival osmoregulation, and acetylcholinesterase activity in different life stages of two panaeid shrimps : *Penaeus stylirostris* and *Penaeus vannamei* (Crustacea Decapoda). *J. Shellfish Res.*, **17**: 1251-1258.
66. **Maiza A., Kilani-Morakchi S., Farine J.P., Smagghe G., Aribi N., Soltani N., 2004.** Hormone analogue methoprene and carbamate benfuracarb. *Comm. Appl. Biol. Ghent University*. **69/3**. 257.
67. **Martinez-Lara E., George S.G., Lopez-Barea J. & Barcena J.A., 1997.** Purification and characterization of multiple glutathione transferase isoenzymes from grey mullet liver. *Cell. Mol. Life. Sci.*, **53(9)**: 759-68.
68. **McCoy, C. E. (1962).** Population ecology of the common species of *Drosophila* in Indiana. *J. Econ. Entomol.*, **55**: 978-985.
69. **McKenzie, J. A. (1974).** The distribution of vineyard populations of *Drosophila melanogaster* during vintage and non-vintage periods. *Oecologia*, **15**: 1-16.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

70. **McKenzie, J. A., & Mc Kechnie, S. W. (1979).** A comparative study of resource utilization in natural populations of *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*. *Oecologia*, **40**: 299-309.
71. **Mertz, F.P., Yao R.C., 1990.** *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar mill rum still. *Inter. J. Sys. Bacter.*, **40**: 34–39.
72. **Morakchi S., Maiza A., Farine J. P., Aribi N. & Soltani N., 2005.** Effects of a neonicotinoid insecticide (acetamipride) on acetylcholinesterase activity and cuticular hydrocarbons profil in german cockroache. *Comm. Appl. Biol. Sci, University*, 70/4.
73. **Nath D. S. & Kumar R. S. S., 1999.** Toxic impact of organophosphonis insecticides on acetylcholinesterase activity in the silkworm, *Bombyx mori* (L.) *Ecotox. Environ. Safety.*, **42**: 157-162.
74. **Pascal S. & Scalla R., 1998.** Purification and characterization of a safener-induced glutathione S-transferase from wheat (*Triticum aestivuni*). *Physiol Plant.*, **106**: 17-27.
75. **Patterson J., R. Wagner., L. Wharton., 1 avril 1943.** Le drosophilidés du Sud- Ouest. Austin, TX: The University of Texas Press.400p.
76. **Perez-Lopez M., Anglade P., Bec-Ferte M.P., Debrauwer L., Perdu E., Cravedi J.P. & Rouimi P., 2000.** Characterization of hepatic and extrahepatic glutathione S-transferases in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and their induction by 3,3_,4,4_-tetrachlorobiphenyl. *Fish. Physiol. Biochem.* **22**: 21-32.
77. **Prapantadara L.A., Koottathep S., Promtet. N., Hemingway J. & Ketterman A.J., 1996.** Purification and characterization of a major glutathione S-transferase from the mosquito *Anopheles dims* (species B). *Insect. Biochem. Mol. Biol*, **26**: 277-285.
78. **Ramade F., 2003:**element écologie fondamentale, édition DUNOD, Paris ,690p.
79. **Rao J. V. & Kavitha P., 2004.** Toxicity of azodrin on the morphology and acetylcholinesterase activity of the earthworm *Eisenia foetida*. *Environ. Res.* **96**: 323-327.
80. **Retnakaran A., Krell P., Feng Q. & Arif B., 2003.** Ecdysone Agonists: Mechanism and importance in controlling Insect pest of Agriculture and Forestry. *Archiv. Insect. Biochem. Physiol.*, **54**: 187-199.
81. **Ribeiro S., Guilbermino L., Sousa J. P. & Soares A. M., 1999.** Novel Bioassay based on acetylcholinesterase and lactate dehydrogenase activities to evaluate the toxicity of chemicals to soil isopods. *Ecotox. Environm. Safety.*, **44**: 287-293.
82. **Rosewell, J., & Shorrocks, B. (1987).** The implications of survival rates in natural populations of *Drosophila*: capture-recapture experiments on domestic species. *Biol. J. Linnean Soc*, **32**: 373-384.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

83. **Rouimi P., Anglade P., Debrauwer L. & Tulliez J., 1996.** Characterization of pig liver glutathione S-transferases using HPLC-electrospray-ioni/ation mass spectrometry. *Biochem. J.*, **317**: 879-884.
84. **Rufingier C., Pasteur N., Lagnel J., Martin C., & Navajas M., 1999.** Mechanisms of insecticide resistance in the aphid *Nasonovia ribisnigri* (Mosley) (Homoptera: Aphididadae) from France. *Insect. Biochem. Mol. Bio.*, **29**: 385-391.
85. **Salgado, V.L. 1998.** Studies on the mode of action of Spinosad: Insect symptoms and physiological correlates. *Pest. Biochem. Physiol.*, **60**: 91-102.
86. **Salgado, V.L., Sparks, T.C., 2005.** The spinosyns: chemistry, biochemistry, mode of action, and resistance, in: L.I. Gilbert, K. Iatrou, S.S. Gill (Eds.), *Comp. Insect Mol. Sci, Conrol.*, **6** :137-173.
87. **Semiz, G., Cetin H., Isik K., Yanikoglu A., 2006.** Effectiveness of a naturally derived insecticide, spinosad, against the pine processionary moth *Thaumetopoea wilkinsoni* Tams (Lepidoptera: Thaumetopoeidae) under laboratory conditions. *Pest Manag. Sci.*, **62**: 452-455.
88. **Siegfried B. D. & Scott J. G., 1991.** Mechanisms responsible for propoxur resistance in German cockroach, *Blattella germanica* (L.). *Pest. Set.*, **33**: 133-138.
89. **Sifi K., 2002.** Evaluation de l'effet d'un xénobiotique, l'acide borique sur la structure du tube digestif, l'inhibition d'un site cible, l'acétylcholinestérase et l'activité d'une enzyme de détoxification, la lactate dehydrogenase chez *Blattella germanica*. Thèse de Magister en Biologie Animale. *Université d'Annaba*.
90. **Singh D. K. & Agarwal R. A., 1983.** *In vitro* and *in vivo* studies on synergism with acetylcholinesterase pesticides in the *Lymnaea acuminata*. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, **12**: 483-487.
91. **Shono, T., 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.
92. **Shorrock, B. (1982).** The breeding sites of temperate woodlands *Drosophila*. In M. Ashburner, H. L. Carson, & J. N. J. Thompson (Eds.), *The genetics and biology of drosophila*, Vol. 3b (pp.385-428). New York: Academic Press.
93. **Smagghe G., Medina P., Schuyesmans S., Tirry L., Vinuela E., 2000.** Insecticide resistant monitoring of tebufenozide for managing *Spodoptera exigua* (Hobner [1808]). *Bol. San. Veg. Plagas.*, **26**: 475-481.
94. **Smirle M. J., Vincent C., Zurowski C. L. & Rancourt B., 1998.** Azinphosmethyl resistance in the obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana*: reversion in absence of selection and relationship to detoxication enzyme activity. *Pest. Biochem. Physiol.* **61**: 183-189.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

95. **Soltani N., Aribi N., Berghiche H., Lakbar C. & Smagghe G., 2002.** Activity of RH-0345 on ecdysteroid production and cuticule secretion in *Tenebrio molitor* pupa *in vivo* and *in vitro*. *Pest. Biochem and Physiol.*, **72**: 83-90.
96. **Souissi M, Wali K, Hadj Moussa W, Rouachdia R, Djabourabi A, Bensouilah M. 2008.** Proportioning of biomarkers (GSH, GST, AChE, Catalase) indicator of pollution at *Gambusia affinis* (Teleostei Fish) exposed to cadmium. *Environ. Res. J.*, **2(4)**:177-181.
97. **Stenersen J., Guthenberg C. & Mannervik B., 1979.** Glutathione S-transferases in earthworms (Lumbricidae). *Biochem. J.*, **181**: 47-50.
98. **Stenersen J., Kobro S., Bjerke M. & Arend IL, 1987.** Glutathione transferases in aquatic and terrestrial animals from nine phyla. *Comp. Biochem. Physiol. C.*, **86(1)**:73-82.
99. **Strange K. & Klungsoyr J., 1997.** Organochlorine contaminants in fish and polycyclic aromatic hydrocarbons in sediments from the Barents sea. *ICES J. Mar. Sci.*, **54**: 318-332.
100. **Strong C. A., Koehler P. G. Patterson R. S., 2000.** Oral toxicity and repellency of borates to German cockroach (Dictyoptera : Blattellidae). *J. Econ. Entomol*, **86(5)**: 1458-1463.
101. **Taïbi F., Smagghe G., Amrani L.& Soltani-Mazouni, N., 2003.** Effect of ecdysone agonist, RH-0345, on reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*. *Com. Biochem. Physiol.*, **135** : 257-267.
102. **Teles M., Pacheco M. & Santos M. A., 2003.** *Anguilla anguilla* , liver ethoxyresorufin O-deethylation, glutathione S-transferase, erythrocytic nuclear abnormalities, and endocrine responses to naphthalene and β -naphthoflavone. *Ecotox. Environ. Safety.*, **55(1)**: 98-107.
103. **Teles M., Pacheco M. & Santos M.A., 2003.** *Anguilla Anguilla* L., liver ethoxyresorufin O-deethylation, glutathione S-transferase, erythrocytic nuclear abnormalities, and endocrine responses to naphthalene and B-naphthoflavone. *Ecotox. Environ. Safety*, **55(1)**: 98-107.
104. **Thompson, G.D., Busacca, J.D., Jantz, O.K., Kirst, H.A., Larson, L.L., Sparks, T.C., 1995.** Spinosyns: an overview of new natural insect management systems. In: Proceedings Beltwide Cotton Conference. *National Cotton Council, Memphis, TN*, pp. 1039–1043.
105. **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.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

106. **Thompson G.D., Sparks T.C., 2002.** Spinosad a green natural product for insect control, 823 (advancing sustainability through green chemistry and engineering), *ACS Symp* pp :61–73.
107. **Tomita T., Hidoh O. & Kono Y., 2000.** Absence of protein polymorphism attributable to insecticide- insensitivity of acetylcholinesterase in the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps*. *Insect. Biochem. Molecular Biology.*, **30**: 325-333.
108. **Toutant J. P., 1989.** Insect acetylcholinesterase: catalytic propeite, tissue distribution and molecular forms. *Prog. Neurobiol.*, **32**: 719-734.
109. **Traccqui. P, Demongeot. J, 2003.** Eléments de biologie à l’usage d’autres
110. **Tsukamoto M., 1983.** Methods of genetic analysis of insecticide resistance. *In* : Georghiou G. P. and Saito T. (Ed) *Pest resistance to pesticides*. *Plenum New York* . **PP**: 71-98.
111. **Rao J.V. 2006.** Subletha! effects of an organophosphorus insecticide (RPR-II) on biochemical parameters of tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Compar, Biochem. Physiol*, 143:492-498.
112. **Valles S. M. & Yu S. J., 1996.** Detection and biochemical charaterzation of insecticides resistance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Enthomol.*, **86**: 21-26.
113. **Valles S. M., 1998.** Stage dependent bendiocarb tolerance in the German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *J. Econ. Enthomol.*, **33**: 313-315.
114. **Valles S. M., Dong K. & Brenner R. J., 2000.** Mechanisms responsible for cypermethrin resistance in a strain of German cockroach, *Blattella germanica*. *Pest. Biochem. Physiol.*, **66**: 195-205.
115. **Varanka L., 1968.** Biochemical investigation of cholinesterase in the central nervous system of *Lymnaea stagnalis* (L.) (Gastropoda). *Ann. Biol. Tihany.*, **35**: 93-107
116. **Verger P.Aulagnier M,Schvoebel V,et lang T.2005.** « D émarche épidémiologiques après une catastrophe » la documentation française, 266p.
117. **Wang, W., Mo, J., Cheng, J., Zhuang, P., Tang, Z., 2006** .Selection and characterization of spinosad resistance in *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae), *Pest. Biochem. Physiol.* **84** : 180–187.
118. **Wanner, K. W., Helson, B. V., and Harris, B. J. 2000.** Laboratory and field evaluation of Spinosad against the gypsy moth, *Lymantria dispar*. *Pest Manag. Sci.* **56** : 855–860.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

119. **Ware, G.W.1999, introduction** to insecticides;p.7274.
120. **Wattiez C. & Beys B., 1999.** Pas de pesticides à la maison solution sans danger pour le contrôle de Bestioles indésirables. *Pest. Action. Network (Pan) Belgium. Yip*
121. **Williams, T., Vale J., Vinuela E., 2003.** Is the naturally derived insecticide spinosad compatible with insect natural enemies. *Biocontrol Sci. Technol*, **13**: 459–475.
122. **Windi J.D., Cope W. G., Rada R. G. & Sandheinrich M.B., 2003.** Acetylcholinesterase inhibition in the threeridge Mussel (*Ambuema plicata*) by chloropyrifos: implication for biomonitoring. *Ecotox. Environ. Safety.*, **49**: 91-98.
123. **Wyss ,C.F., Young H.P., Shukla J., Roe R.M., 2003.** Biology and genetics of a laboratory strain of the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (Lepidoptera: Noctuidae), highly resistant to spinosad. *Crop Protect*, **22**: 307–314.
124. **Yang Y., Wu Y., Chen S., Devine G.J., Denholm I., Jewess P. & Moores G.D., 2004.** The involvement of microsomal oxidases in pyrethroid resistance in *Helicoverpa amigera* from Asia. *Insect. Bioch. Molecul. Biol.*, **34**: 763-773.
125. **Yu S.J., 1992.** Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *J. Econ. Entomol.*, **85**: 675-682.
126. **Yu S.J. & Nguyen S.N., 1992.** Detection and biochemical characterization of insecticide resistance in the diamondback moth. *Pestic. Biochem. Physiol.* **44**: 74-81.
127. **Yu S.J., 2004.** Induction of detoxification enzymes by triazine herbicide in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Pestic. Biochem. Physiol.*, **80**: 113-122.
128. **Zaidi N., 2005.** Effets secondaires d'un insecticide sélectif (Dimlin) sur un organisme non ciblé, *Gambusia affinis*: croissance, activités enzymatiques et analyse par CLHP des résidus. Thèse de Magistère. *Université d'Annaba. Algérie.*
129. **Zhao, J.Z., Collins, H.L., Li, Y.X., Mau, R.F., Thompson, G.D.,Hertlein, M., Andaloro, J.T., Boykin, R. and Shelton, A.M.,2006.** Monitoring of diamond backmoth(Lepidoptera :Plutellidae) resistance to spinosad, indoxacarb, and emamectin benzoate. *J. Econ. Entomol*,**99**: 176–81.
130. **Zhao, J.Z., Li, Y.X., Collins, H.L., Gusukuma-Minuto, L., Mau, R.F.L., Thompson, G.D.,Shelton, A.M., 2002.** Monitoring and characterization of diamondback moth (Lepidoptera: Plutellidae) resistance to spinosad. *J. Econ. Entomol*,**95** :430–436.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

131. **Zhou K. Y., Gao J. R. & Starkey S. R., 2000.** Organophosphate resistance Mediated by Alteration of acetylcholinesterase in a resistant clone of the Greenbug, *Schizaphis graminum* (Homoptera: Aphididae). *Pestic. Biochem. Physiol.*, **68**: 138-147.
132. **Zinkl J.G., Lockhart W.L., Kenny S.A. & Ward F. J., 1991.** The effects of cholinesterase inhibiting insecticides on fish. *In* " Chemical in Agriculture" (P. Mineau, Ed), **Vol. 2**: 233-253.

Les effets du spinosad (Biopesticide) sur *Drosophila Melanogaster* (meigen ,1830)

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en **BECPI**

. Résumé

Les effets d'un biopesticide, le spinosad, ont été évalués sur les adultes de *D.melanogaster* le jour de l'exuviation sur le biomarqueur l'AChE . Le traitement a été réalisé par application topique à la CI50 sur les larves de dernier stade.

Le dosage de l'AChE, réalisé selon la méthode d'Ellman et *al.* (1964) révèle que le spinosad a une action neurotoxique ; en effet, l'activité spécifique de l'AChE est significativement inhibée aussi bien chez les adultes de la génération parent que ceux de la première génération de *D.melanogaster*. Une inhibition de l'AChE est également observée entre les deux générations avec un effet plus différé que de la molécule.

Mots clés : biopesticides, spinosad, *D.melanogaster*, biomarqueurs,

Laboratoire de recherche : Université des Frères Mentouri Constantine
Laboratoire de biosystématiques et écologie des Arthropodes

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme BENKENANA NAIMA (MC - Des frères Mentouri).

Rapporteur : Mme CHAABANE MERIEM (MA- Des frères Mentouri).

Examineur : Mme AGUIB SIHEM (MC- Des frères Mentouri).

Date de soutenance : 30/06/2016

