



لجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث 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 والحياة

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 : (Biologie, Evolution et Contrôle de Population d'Insectes)

Intitulé :

Effet d'un biopesticide sur un Diptère

Présenté et soutenu par : LARAIS AMINA

Le : 03/07/2018

et BOUCEBIA NOUR EL HOUDA

Jury d'évaluation :

Président du jury : Dr. Frahtia khalida (MC- UFM Constantine).

Rapporteur : Dr. Chaabane Meriem (MC- UFM Constantine).

Examinatrice : Dr. Kohil Karima (MC- UFM Constantine).

**Année universitaire
2017 - 2018**

Dédicace

C'est avec profonde gratitude et sincère mots,
Que nous dédions ce modeste travail de fin d'étude à nos chers parents ;
Qui ont sacrifié leur vie pour notre réussite et nous ont éclairé le chemin par leurs
conseils judicieux.

Nous n'espérons qu'un jour,
Nous pourrons leurs rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour nous,
Que dieu leur prête bonheur et longue vie.
Nous dédions aussi ce travail à nos frères et sœurs, nos familles, nos amis,
Tous nos professeurs qui nous ont enseigné
Et à tous ceux qui nous sont chers.

LARAI AMINA
BOUCEBIA NOUR EL HOUDA

Remerciement

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.

En seconde lieu, nous tenons à remercier notre encadreur Mme : CHAABANE MERIEM, son précieux conseil et son aide durant toute la période du travail.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.

Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
Chapitre I: MATERIEL ET METHODES	
1. Matériel biologique.....	06
1.1. Présentation de <i>D.melanogaster</i>	06
1.2. position systématique	07
1.3. Cycle de vie de <i>D.melanogaster</i>	07
1.4. Élevage en laboratoire.....	10
2. Présentation de l'insecticide	11
3. Traitement des insectes	11
4. Dosage de la catalase (CAT)	12
5. Analyse statistique.....	13
Chapitre II: RESULTATS	
1. Evaluation de la toxicité du Spinosad chez <i>D.melanogaster</i>	15
2. Effets sur l'activité spécifique de la CAT pour la G0 et la G1	15
2.1. Effets chez les pupes de la G0.....	15
2.2. Effets chez les adultes de la G0.....	16
2.3. Effets chez les larves de la G1.....	17
2.4. Effets chez les pupes de la G1.....	18
2.5. Effets chez les adultes de la G1	19
2.6. Comparaison entre les deux générations	20
Chapitre III: DISCUSSION	23
Chapitre IV: CONCLUSION ET PERSPECTIVES	25
RESUME	26
ABSTRACT	27
الملخص	28
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	29
ANNEXES	

Liste des figures

- Matériel et méthodes

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
1	<i>Drosophila melanogaster</i> A : femelle B : male C : peigne sexuel	06
2	Le cycle de vie de <i>D.melanogaster</i> à 25°C (Jouandin, 2013)	09
3	Elevage de <i>D.melanogaster</i> au Laboratoire	10
4	Structure chimique du Spinosad (Ishaay et Horowitz, 1998)	11

- Résultats

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
5	Effets du Spinosad administré <i>in vivo</i> par application topique (DI ₅₀ : 288,50ng) chez les larves du dernier stade de <i>D.melanogaster</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves (L3) pupes (0 et 3 jours) et adultes (0 et 7jours) au cours de deux générations successives G0 et G1 ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6). Les lettres en minuscules correspondent à l'analyse statistique pour un même âge entre les deux générations.	22

Liste des Tableaux :

<i>N°</i>	<i>Titre</i>	<i>Page</i>
1	Effets du Spinosad administré <i>in vivo</i> par application topique (DI ₅₀ :288,50 ng) chez les larves du dernier stade de <i>D.melanogaster</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (µM/min/mg de protéines) au cours du stade pupal (0 et 3jours) de la G0 (m ± sd; n= 4 à 6).	16
2	Effets du Spinosad administré <i>in vivo</i> par application topique (DI ₅₀ : 288,50 ng) chez les larves du dernier stade de <i>D.melanogaster</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (µM/min/mg de protéines) au cours du stade adulte (0 et 7 jours) de la G0 (m ± sd; n= 4 à 6).	17
3	Effets du Spinosad administré <i>in vivo</i> par application topique (DI ₅₀ : 288,50 ng) chez les larves du dernier stade de <i>D. melanogaster</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (µM/min/mg de protéines) au cours du stade larvaire (L3) de la G1 (m ± sd; n= 4 à 6).	17
4	Effets du Spinosad administré <i>in vivo</i> par application topique (DI ₅₀ : 288,50 ng) chez les larves du dernier stade de <i>D. melanogaster</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (µM/min/mg de protéines) au cours du stade pupal (0 et 3 jours) de la G1 (m ± sd; n= 4 à 6).	18
5	Effets du Spinosad administré <i>in vivo</i> par application topique (DI ₅₀ : 288,50 ng) chez les larves du dernier stade de <i>D. melanogaster</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (µM/min/mg de protéines) au cours du stade adulte (0 et 7 jours) de la G1 (m ± sd; n= 4 à 6).	19

6	Effets du Spinosad administré <i>in vivo</i> par application topique (DI ₅₀ : 288,50 ng) sur les larves du dernier stade de <i>D .melanogaster</i> (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (μ M/min/mg de protéines) chez les larves (L3) pupes (0 et 3 jours) et adultes (0 et 7jours) au cours de deux générations successives G0 et G1 : Analyse de la variance à deux critères de classification.	21
----------	---	-----------

INTRODUCTION

Introduction

INTRODUCTION

Les insectes jouent un rôle considérable dans l'équilibre biologique de la nature et l'homme les qualifie d'espèces utiles ou nuisibles. En Agriculture et en absence de produits phytosanitaires, les pertes de récoltes causées par des organismes nuisibles (invertébrés, pathogènes, parasites, champignons) représentent l'équivalent de nourriture pour 1 milliard de personnes (Birch *et al.*,2011). Les ravageurs sont responsables de la majorité des pertes occasionnées (Kulkarni *et al.*,2009; Abhilash & Singh, 2009 ; Dimetry, 2015) mais les arthropodes et, principalement, les insectes sont considérés comme étant les plus importants (McKay *et al.*, 2013 ;White *et al.*, 2014; Govindarajan & Rajeswary, 2015). Parmi cette classe d'invertébrés, se trouvent également de nombreux vecteurs d'agents pathogènes à l'origine de diverses maladies chez l'animal dont l'Homme (El Joubari *et al.* ,2015; Tia *et al* 2016). Par conséquent, la gestion de ces nuisances est primordiale, non seulement, pour la protection de la santé humaine mais aussi pour satisfaire les besoins alimentaires d'une population mondiale sans cesse grandissante. Des moyens importants sont déployés à l'échelle mondiale mais la lutte chimique reste, encore, le moyen le plus largement adopté pour contenir les différents fléaux à un seuil raisonnable (Casida & Durkin, 2013; Noureen *et al.*,2016). L'utilisation des pesticides synthétiques a connu un développement important et différents éléments ont favorisé cet essor: l'accroissement démographique de la population humaine, l'affaiblissement des terres cultivées, l'apparition du machinisme agricole ainsi que les progrès importants dans le domaine de la chimie organique de synthèse.

L'emploi de ces pesticides conventionnels a engendré, non seulement, des effets dramatiques sur la biodiversité et les écosystèmes mais aussi une importante pollution de l'environnement (Gupta & Milatovic, 2014) ainsi, l'Homme souffre de diverses affections

Introduction

et maladies (respiratoires, immunitaires, cancers...etc) suite à des désordres dans le développement des organes et/ou dans la physiologie de diverses fonctions de l'organisme (Nicopoulo-Stamati *et al.*, 2016).

L'utilisation des organochlorés a été fortement réduite dans certaines parties du monde dès 1970 et plusieurs de ces composés ont été retirés du marché des pesticides comme le DDT interdit en 1972 (Hellou *et al.*, 2013). Cependant, beaucoup de molécules synthétiques sont encore maintenues (Cantrell *et al.*, 2012; Casida & Durkin, 2013) du fait de leur grande efficacité dans la gestion des organismes visés (Bruce, 2010).

Des molécules synthétiques à moindre impact environnemental, alternative aux pesticides conventionnels, ont pu être développées puis commercialisées par des firmes phytosanitaires. Ces molécules sont représentées par les perturbateurs de développement des insectes (insect growth disruptors ou IGDs) anciennement connus sous le nom de régulateurs de croissance (Dhadialla *et al.*, 2005, 2010; Pener & Dadhialla, 2012). Parmi ces composés se trouvent les agonistes et antagonistes de l'hormone juvénile ou HJ mais aussi les inhibiteurs de la synthèse de la chitine composé majeur de la cuticule (Dhadialla *et al.*, 2005, 2010; Pener & Dadhialla, 2012). Ces composés présentent l'avantage, comparativement à d'autres pesticides d'être faiblement voire moins toxiques pour les mammifères, les oiseaux, les poissons ainsi que pour un certain nombre d'insectes auxiliaires.

Parallèlement à ces développements, un regain d'intérêt pour l'utilisation de composés naturels a réapparu. Actuellement, ils sont classés en trois grandes catégories selon leur origine (microbienne, végétale ou animale) et présentent de nombreux avantages (Deraveket *et al.*, 2014). Ils peuvent être aussi bien utilisés en agriculture conventionnelle qu'en agriculture biologique, certains permettent aux plantes de résister à des stress abiotiques et d'une manière générale, ils sont beaucoup moins nocifs que leurs homologues

Introduction

chimiques. Les biopesticides sont l'objet d'un intérêt croissant de la part des exploitants, notamment dans le cadre de stratégies de lutte intégrée (Deravelet *et al.*, 2014). Leur apparition sur le marché de pesticides s'est faite grâce à l'essor de la biotechnologie et à la mise en place du processus du développement durable (Sporleder&Lacey, 2013).

Parmi ces molécules, à risque environnemental réduit du fait de leur biodégradation rapide, se trouvent deux molécules fortement recommandées dans la lutte intégrée: l'Azadirachtine et le Spinosad (Shelton *et al.*, 2004). L'Azadirachtine, substance naturelle dérivée du Neem ou *Azadirachta indica* Juss(Miliaceae) agit comme un antagoniste de l'hormone juvénile et des ecdystéroïdes et perturbe donc tous les processus physiologiques (développement et reproduction) où ces deux hormones interviennent (Mordue *et al.*, 2005, 2010; Boulahbel *et al.*, 2015; Bendjazia *et al.*, 2016).

Le Spinosad, lactone macrocyclique, provient de la fermentation d'une bactérie Actinomycète *Saccharopolyspora spinosa* (Mertz & Yao, 1990); il 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 nAChRs (Salgado, 1997; Kirst, 2010 ; Rinkevich & Scott, 2012) .et sur les récepteurs gabaergiques ou GABARs (Salgado & Sparks, 2005; Osorio *et al.*, 2008). Le Spinosad se lie aux nAChRs mais à des sites distincts sur le récepteur par rapport aux néonicotinoïde (Blacquièrre *et al.*, 2012 ; Rinkevich et Scott, 2012; Somers *et al.*, 2017).Ce pesticide agit par contact ou ingestion et est très efficace contre de nombreux insectes nuisibles particulièrement, les Lépidoptères (Sheikh, 2015; Bhatta *et al.*, 2016 , Reddy & Antwi, 2016), les Diptères (Su *et al.*, 2014; Andreazza *et al.* ,2016; Nozad-Bonab *et al.*, 2017) ou encore les Thysanoptères (Vanisree *et al.*, 2017). Le Spinosad présente, comparativement aux insecticides synthétiques classiques, une faible toxicité pour l'Homme, les Mammifères et les invertébrés aquatiques (Liu *et al.*, 2000; Sarfraz *et al.*, 2005; Kirst, 2010 ; Biondi *et al.*, 2012; Cabrera-Marin *et*

Introduction

al., 2016). Par ailleurs, la biodégradation rapide du Spinosad (Huan *et al.*, 2015; Dasenaki *et al.*, 2016; Adak & Mukherjee, 2016) contribue à la préservation de l'environnement (Sarfraz *et al.*, 2005; Dua, 2009). Le Spinosad a été homologué pour être utilisé sur plus de 100 cultures et sa relative compatibilité avec de nombreux ennemis naturels (Legwaila *et al.*, 2013; Cabrera-Marin, 2016; Pereira *et al.*, 2016; Ramos *et al.*, 2017; De Araujo, 2017) permet son utilisation dans un programme de gestion des espèces nuisibles. Le Spinosad est, en outre, recommandé pour lutter contre les vecteurs d'agents pathogènes comme *Aedes aegypti*.

En Algérie, le Spinosad est utilisée depuis 2010 dans la lutte contre le ravageur des tomates *T. absoluta*. Cependant, si une lutte raisonnée n'est pas adoptée, cet insecticide à risque réduit pour l'Homme et l'environnement peut devenir inefficace suite à l'apparition d'une résistance chez l'insecte cible. Par conséquent, la question qui se pose est de savoir comment utiliser le Spinosad dans le cadre d'une lutte intégrée. Ainsi, il s'avère nécessaire de mieux comprendre l'induction ou la mise en place de ce processus afin de prévoir une stratégie de rotation du Spinosad permettant de retarder ou de réduire, chez l'insecte, l'expression de la résistance. Dans cette optique, il convient donc, tout d'abord, d'établir la possible rémanence du Spinosad en mettant en évidence les effets différés du Spinosad qui restent encore méconnus.

Les effets différés du Spinosad seront précisés chez *D. melanogaster*, modèle biologique de référence dans les études de toxicologie. Le choix de *D. melanogaster* peut aussi se justifier par le fait que ce modèle correspond à une espèce non visée; en outre, des travaux récents montrent que le Spinosad pourrait être une alternative à la gestion de *Drosophila suzukii* Matsumara, 1931 (Andreazza *et al.*, 2016) espèce invasive, originaire d'Asie. Cette espèce cause des pertes estimées à des millions de dollars dans les zones envahies qui sont l'Europe, l'Amérique du Sud, les États-Unis et le Canada (Asplen *et al.*,

Introduction

2015). Les plantes attaquées sont très variées et incluent les fruits à noyaux (cerise, abricot, pêche ...etc), les petits fruits rouges (fraise, framboise...etc), mais aussi la figue, la tomate et le raisin (Orhan *et al.*, 2016; Leach *et al.*, 2016).

La recherche de la rémanence du Spinosad chez *D.melanogaster* implique la mise en évidence des effets différés du pesticide sur les stades qui suivent le traitement mais aussi sur les générations suivantes. Aussi, l'objectif de ce travail est d'évaluer, après traitement des larves de dernier stade de *D.melanogaster*, les effets différés du Spinosad sur l'activité enzymatique de la catalase(CAT) de par leur rôle du stress oxydatif (Chakrabarti *et al.* , 2015)à différents stades de développement (larves, pupes et adultes) et ce, au cours de deux générations successives: la génération parent (G0) et la première génération (G1).

MATERIEL
&
METHODES

MATERIEL ET METHODES

1. Matériel biologique

1.1. Présentation du matériel biologique

Drosophila melanogaster (Meigen, 1830) est un insecte Diptère Brachycère, hygrophile et lucicole, appartenant à la famille des Drosophilidae. *D. melanogaster* est une petite mouche jaune brunâtre mesurant environ 3 ou 4 mm de long, ailes incluses (Fig.1). L'abdomen, plutôt court, est rayé de bandes sombres et un dimorphisme sexuel (Parvathi *et al.*, 2009) permet de différencier les mâles et les femelles. L'extrémité abdominale est foncée et arrondie chez le mâle mais plus claire et pointue chez la femelle (Fig. 1 A, 1 B).

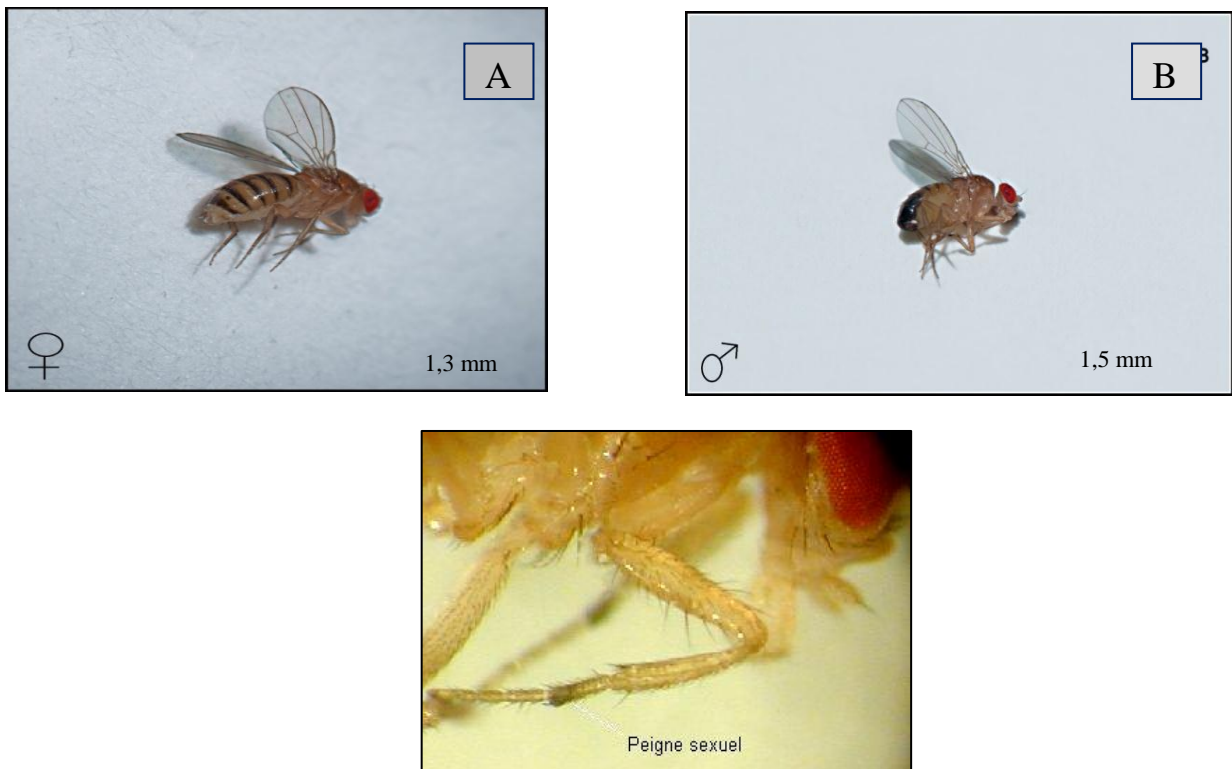


Figure 1. *Drosophila melanogaster*: **A:**femelle; **B:**mâle

Photo C: www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/images/drospatf.

1.2. Position systématique : (Meigen 1830)

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Sous embranchement : Hexapoda

Classe : Insecta

Sous-classe : Pterygota

Ordre : Diptera

Sous-ordre : Brachycera

Famille : Drosophilidae

Sous-famille : Drosophilinae

Genre : *Drosophila*

Espèce : *Drosophila melanogaster*

1.3. Cycle de vie de *D. melanogaster*

D. melanogaster se reproduit très rapidement et sans interruption. Au laboratoire, à une température de 25 °C, une nouvelle génération est obtenue tous les 12 jours; ceci correspond en moyenne à 25 générations par an (Griffiths *et al.*, 2002; Tavernier & Lizeaux, 2002). Le cycle de vie comprend 4 stades (**Fig. 2**).

Stade œufs: la femelle pond de 200 à 300 œufs (Goudey-Perrière & Perrière,

Matériel et méthodes

1974), allongés et blanchâtres (25 à 35 par jour), présentant une forme semblable à un ballon de rugby (0,5 mm de long environ). Les œufs sont déposés sur des fruits ou autres matières humides en fermentation (Tavernier & Lizeaux, 2002).

Stade larvaire : une trentaine d'heures après la ponte, les œufs donnent naissance à une larve blanchâtre appelée aussi « asticot ». Celle-ci se nourrit alors de la pulpe du fruit en creusant des galeries. Le stade larvaire dure 4 jours environ et comprend 3 stades: L1 (24h) L2 (24h) et L3 (48h). A la fin de ce dernier stade, l'empupement débute; en effet, les larves cessent de s'alimenter et sortent du milieu nutritif. L'animal voit sa taille se réduire par le jeu de la contraction des muscles longitudinaux et de la cuticule elle-même conduisant à un raccourcissement de la plupart des segments prothoraciques et à l'invagination de la tête (Fraenkel & Bhaskaran, 1973). Dans le même temps, le diamètre de l'animal augmente. Parallèlement à cela, l'animal secrète la glue (sorte de colle) synthétisée par les glandes salivaires qui va lui permettre de se fixer solidement au milieu. La cuticule de l'animal se durcit pour former le puparium en forme de tonneau à la surface lisse qui va passer d'une couleur blanche à une coloration brunâtre (Zdarek&Fraenkel, 1972). La drosophile se trouve alors dans **le stade prépupal** et va subir de très importantes modifications morphologiques.

Stade pupal: Le stade pupal ou stade pupe phanérocéphalique débute environ 12 heures après l'empupement et après éversion de la tête (le sac imaginal de la tête est éverté tandis que les pièces buccales de la larve sont expulsées).A ce moment, les pattes mais aussi les ailes vont terminer leur complète extension. La période pupale dure 3 jours et demi environ et à son terme, toutes les structures larvaires sont détruites et les structures adultes élaborées (Quinn *et al.*, 2012).

Matériel et méthodes

Stade adulte : l'adulte apparaît avec un corps non encore pigmenté mais au bout de 6 à 8 heures la pigmentation est achevée et les ailes sont gonflées. Les adultes sont alors sexuellement matures. Les femelles sont fécondables et s'accouplent environ 12 heures après l'émergence (Bouharmont *et al.*, 2007). Elles stockent le sperme des mâles auxquels elles se sont accouplées pour pouvoir l'utiliser ultérieurement et commencent à pondre dès 24 heures après l'émergence (Tavernier & Lizeaux, 2002).

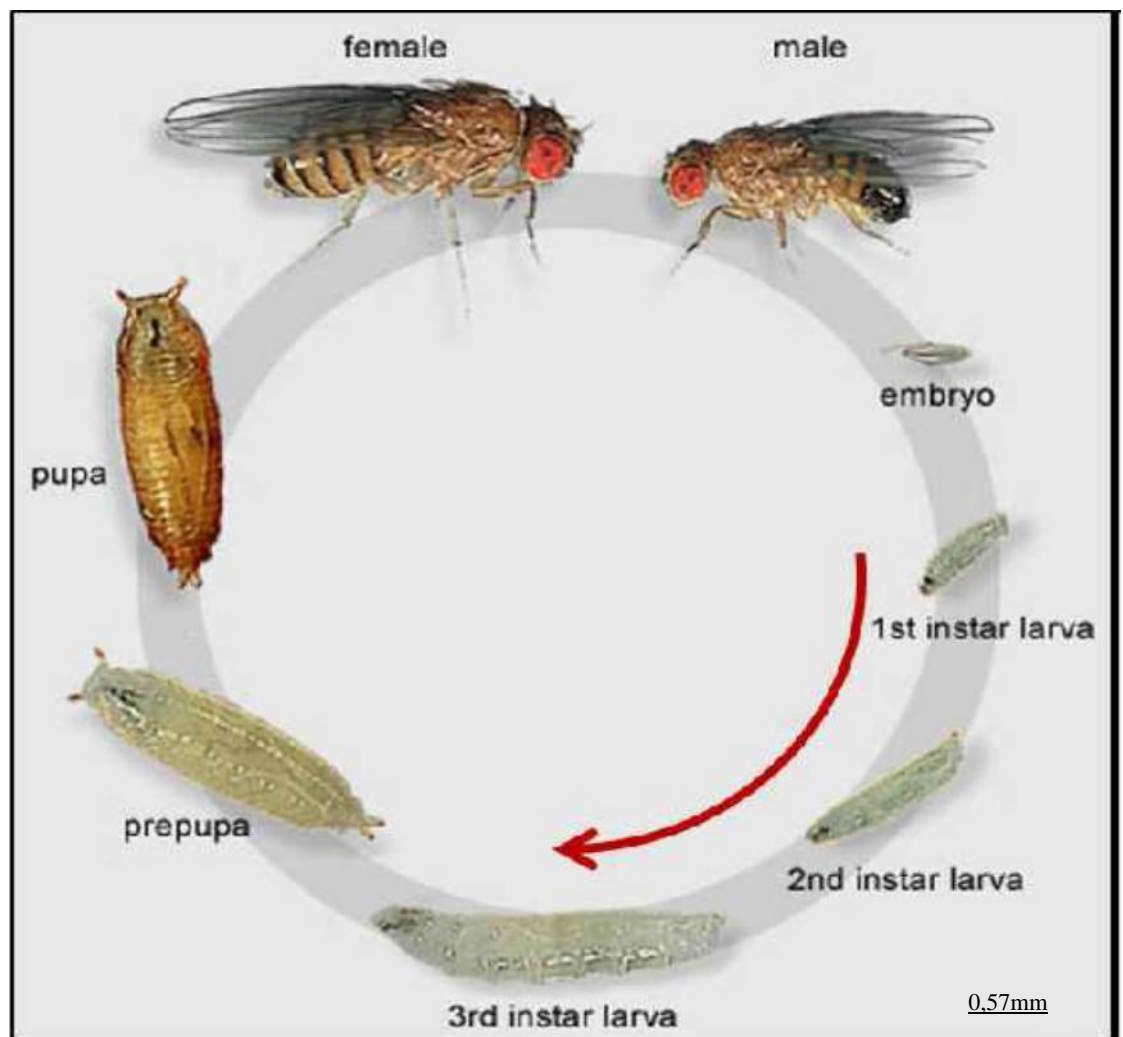


Figure 2. Le cycle de vie de *D. melanogaster* à 25°C (Jouandin, 2013).

Matériel et méthodes

1.4 Elevage au laboratoire

L'élevage de drosophiles s'effectue, en laboratoire, depuis le début du vingtième siècle, suite aux travaux pionniers de Sturtevant (1913) qui a établi la première cartographie génétique. L'élevage de *D. melanogaster* (souche Canton S*) est réalisé, en laboratoire (**Fig.3**), à une température de 25°C, une hygrométrie de 70% et une scotophase de 12 h.

Le milieu nutritif artificiel gélosé sur lequel est élevée la drosophile est à base de farine de maïs et de levure de bière. Il est composé essentiellement de 33,3 g semoule de maïs, 33,3 g de levure de bière, 4,8 g d'agar-agar, et 20 ml d'antifongique (methyl-hydroxy-4-benzoate à 10%). Les drosophiles sont élevées dans des flacons en plastique qui sont fermés à leur extrémité par un tampon de mousse.



Figure 3.Elevage de *D. melanogaster* au laboratoire.

2. Présentation de l'insecticide

Le Spinosad découvert dans la nature, est issu de la fermentation d'une bactérie, *Saccharopolyspora spinosa*.

Le Spinosad est composé de deux Spinosynes (**Fig.4**), la Spinosyne A ($C_{41}H_{65}NO_{10}$) avec un poids moléculaire de 731,98g/mol) et la Spinosyne D ($C_{42}H_{67}NO_{10}$ avec un poids moléculaire de 746,0 g/mol).

La formulation utilisée est Success 480 SC qui est commercialisée par DowAgroSciences, Indianapolis, USA (SC: suspension concentrée à 480g/l « Tracer »). D'autres formulations ont été développées, commercialisées et évaluées.

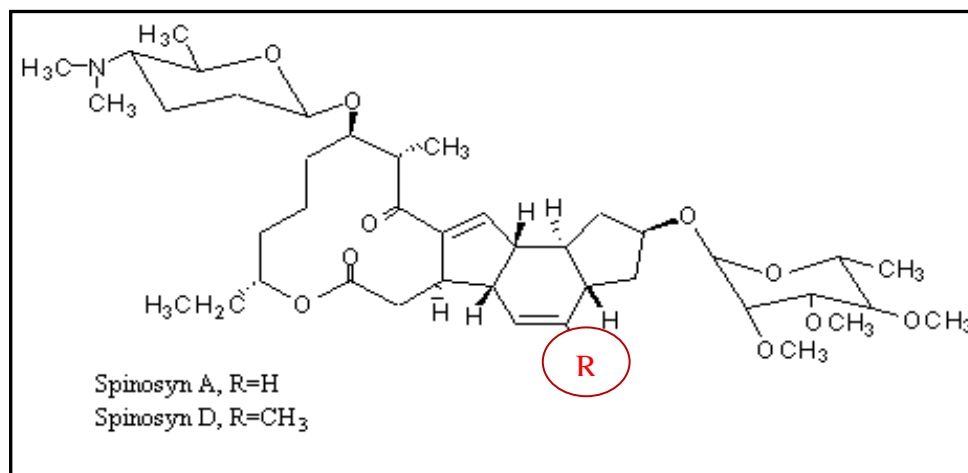


Figure 4. Structure chimique du Spinosad (Ishaaya& Horowitz, 1998)

3. Traitement des insectes

Le Spinosad a été testé, *in vivo*, à une concentration de 288,50 ppm préalablement déterminée, (Chaabane, et *al*, données non publiées) correspondant à la concentration

Matériel et méthodes

d'inhibition de 50% de la mue nymphale ou CI 50 chez *D. melanogaster*. L'insecticide a été administré, par application topique (1 µl par insecte) sur la face ventrale des larves de dernier stade de *D. melanogaster* (L3), à l'aide d'une micro-seringue. Les individus de la série témoin reçoivent uniquement le solvant qui est l'acétone (1 µl).

L'échantillonnage a été réalisé sur les individus ayant survécu au traitement des larves et a été menée sur deux générations successives: la génération parent (G0) et sa descendance génération 1 (ou G1) à différents stades de développement.

4. Dosage de la catalase (CAT)

Le dosage de la catalase (CAT), réalisé selon la méthode de Claiborne (1985), a permis l'évaluation de l'activité spécifique de cette enzyme. Cette méthode est basée sur la mesure spectrophotométrique de la réduction de l'eau oxygénée (H_2O_2) en une molécule d'oxygène (O_2) et deux molécules d'eau (H_2O) en présence de la CAT à une longueur d'onde UV de 240 nm. Les séries témoins sont traitées de *D. melanogaster*, échantillonnées à différents âges pour tous les stades de développement, sont homogénéisées dans 1ml de tampon phosphate¹ (0,1 M, pH7, 4) à l'aide d'un broyeur à ultrasons. L'homogénat, ainsi obtenu, est centrifugé (15,000tours /min, pendant 10 min) puis le surnageant récupéré servira au dosage de la catalase. Le dosage s'effectue, à température ambiante, sur une fraction aliquote de 50 µl de surnageant à laquelle on ajoute 750 µl de tampon phosphate (100 mM, pH 7,4) et 200 µl H_2O_2 (500 mM) préparé extemporanément [1,42 ml eau oxygénée à 30 volumes, 25 ml tampon phosphate (100 mM pH 7,4)]. Après agitation, la lecture est effectuée au spectrophotomètre (dans une cuve en quartz). La lecture des absorbances est effectuée après 15 secondes toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde UV de 240 nm contre un blanc réalisé avec 800 µl de tampon phosphate (100 mM, pH 7,4) et 200 µl de H_2O_2 . L'activité décroît rapidement, il est donc

Matériel et méthodes

important de mettre toujours le même temps entre le pipetage du surnageant et le moment où la cuve est placée dans le spectrophotomètre.

L'activité spécifique de la CAT est déterminée d'après la formule suivante:

$$\text{CAT (mMoles/min/mg protéines)} = \frac{\text{Lmax} - \text{Lmin}}{0.04 \text{ mg protéines}}$$

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

L max: Densité optique maximale enregistrée

L min: Densité optique minimale enregistrée

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

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

1- 16,11 g Na_2HPO_4 (a) \longrightarrow diluent dans 500ml d'eau distillée. 1, 38 g NaH_2PO_4 (b) \longrightarrow dilue dans 500ml d'eau distillée.

Mélanger 404 ml de la solution a avec 95,5 ml de la solution b

5. Analyse statistique

Tous les résultats sont représentés par les moyennes (m) suivies de l'écart type (s.d) du nombre de répétitions (n). La condition de normalité et l'homogénéité des variances ont été vérifiées par les tests respectifs de Shapiro Wilk et de Bartlett. Les données de toxicité ont été analysées en utilisant la régression non linéaire et l'activité insecticide du traitement a été évaluée sur la base des concentrations dose-réponse. La qualité de l'ajustement du modèle de courbe a été évaluée sur la base des valeurs de R^2 . Les résultats obtenus ont été soumis à une analyse de variance suivie d'un test HSD de Tukey (Honest Significant

Matériel et méthodes

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

RESULTATS

Résultats

1- Effets du Spinosad sur l'activité spécifique de la CAT

Le Spinosad administré *in vivo*, par application topique, (DI_{50} : 288, 50ng) sur les larves du dernier stade de *D.melanogaster* a été évalué sur l'activité spécifique de la CAT au cours des différents stades de développement chez les deux générations successives. Les résultats sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéines ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines).

2- Effets sur l'activité spécifique de la CAT chez la G0 et la G1

2-1- Effets chez les pupes de la G0

Chez *D.melanogaster*, la catalase présente une activité spécifique qui augmente significativement chez les pupes traitées au Spinosad comparativement aux témoins (**Tab.1.**). Le Spinosad induit une augmentation de cette enzyme du stress oxydatif, chez les pupes, le jour de l'exuviation (jour 0: $t_6=3,3$; $p = 0,039$) mais aussi au jour 3 du stade pupal ($t_6= 24,50$; $p < 0,001$). Entre les âges, il est observé également une différence très significative chez la série témoin ($p = 0,001$) et chez la série traitée ($p = 0,003$).

Tableau01. Effets du Spinosad administré *in vivo* par application topique (DI_{50} :288,50 ng) chez les larves du dernier stade de *D.melanogaster* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade pupal (0 et 3jours) de la G0 ($m \pm$ sd; n= 4 à 6)

Résultats

Pupes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	0,45 ± 0,02 ^a A	0,78 ± 0,17 ^b A
3	0,73 ± 0,01 ^a B	1,57 ± 0,06 ^b B

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

2-2 Effets chez les adultes de la G0

Les résultats obtenus, chez les adultes de *D.melanogaster*, indiquent une augmentation très significative de l'activité spécifique de la CAT entre les séries témoins et celles traitées au Spinosad (**Tab.02**). Ce résultat est observé le jour de l'émergence des adultes ($t_6 = 4,90$; $p = 0,008$) mais aussi au jour 7 ($t_6 = 7,83$; $p = 0,001$). Par ailleurs, entre les deux âges évalués, les valeurs de l'activité spécifique de la CAT ne présentent aucune différence significative aussi bien chez les séries témoins ($p = 0,509$) que chez les séries traitées ($p = 0,398$).

Tableau 02. Effets du Spinosad administré *in vivo* par application topique (DI_{50} : 288,50 ng) chez les larves du dernier stade de *D.melanogaster* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade adulte (0 et 7 jours) de la G0 ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Résultats

Adultes (jours)	Génération 0	
	Témoins	Traités
0	0,88 ± 0,02 a A	1,32 ± 0,08 b A
7	0,91 ± 0,03 a A	1,24 ± 0,01 b A

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

2-3 Effets chez les larves de la G1 :

Le Spinosad, appliqué chez les larves du dernier stade de *D.melanogaster* de la génération parent, entraîne une augmentation significative ($t_6 = 3,87$; $p = 0,031$) de l'activité spécifique de la CAT chez les larves de la génération suivante (**Tab.03**).

Tableau 03. Effets du Spinosad administré *in vivo* par application topique (DI₅₀: 288,50 ng) chez les larves du dernier stade de *D. melanogaster* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT (μM/min/mg de protéines) au cours du stade larvaire (L3) de la G1 (m ± sd; n= 4 à 6).

Larves (stade)	Génération 1	
	Témoins	Traités
L3	0,58 ± 0,02 a	0,88 ± 0,07 b

Résultats

2-4-Effets chez les pupes de la G1

Les résultats obtenus révèlent un stress oxydatif chez les pupes de la G1 (**Tab.04**), démontré par l'évaluation de l'activité spécifique de la CAT, qui augmente de manière significative chez les individus traités au Spinosad comparativement à ceux de la série témoin. Les valeurs de l'activité spécifique de la CAT, sont significativement plus importantes chez les pupes nouvellement exuvies ($t_6 = 7,01$; $p = 0,006$) et chez celles âgées de 3 jours ($t_6 = 4,83$; $p = 0,008$). L'analyse statistique, effectuée entre les âges d'un même stade, révèle une différence significative chez les séries témoins ($p < 0,001$) mais aucune différence chez les traitées ($p = 0,339$).

Tableau 04. Effets du Spinosad administré *in vivo* par application topique (DI_{50} : 288,50 ng) chez les larves du dernier stade de *D. melanogaster* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade pupal (0 et 3 jours) de la G1 ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Pupes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	$0,43 \pm 0,01$ A	$1,10 \pm 0,02$ A
3	$0,72 \pm 0,01$ B	$1,45 \pm 0,15$ A

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

Résultats

2-5-Effets chez les adultes de la G1

Le **Tableau 05** présente les valeurs de l'activité spécifique de la CAT chez les adultes de la G1. Les résultats montrent, entre les séries témoins et celles traitées, des valeurs comparables le jour de l'émergence ($t_6 = 2,46$; $p = 0,090$) et le jour 7 suivant ($t_6 = 1,09$; $p = 0,354$). Le stress oxydatif, précisé dans à la génération parent mais aussi dans stades précédents (larves et pupes), n'est plus noté chez les adultes de la G1. La comparaison entre les âges ne révèle aucune différence significative entre 0 et 7 jours aussi bien chez les séries traitées ($p = 0,687$) que chez les témoins ($p = 0,062$).

Tableau 05. Effets du Spinosad administré *in vivo* par application topique (DI_{50} : 288,50 ng) chez les larves du dernier stade de *D. melanogaster* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) au cours du stade adulte (0 et 7 jours) de la G1 ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6).

Adultes (jours)	Génération 1	
	Témoins	Traités
0	$0,90 \pm 0,01$ a A	$1,06 \pm 0,06$ a A
7	$0,99 \pm 0,29$ a A	$1,11 \pm 0,11$ a A

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

Résultats

2-6- Effets sur la CAT: comparaison entre les deux générations

Chez *D.melanogaster*, la CAT, enzyme du stress oxydatif, présente une activité spécifique qui augmente significativement, chez les séries traitées comparativement aux témoins chez les deux générations successives (**Fig.05**). Le profil de cette enzyme, en parfaite corrélation avec celui des GSTs, révèle un stress oxydatif dès l'exuviation des pupes de la G0 à la fin du stade pupal de la génération suivante (G1) Ainsi, chez les adultes de la G1 aux jours 0 et 7, le stress oxydatif n'est plus observé et les séries traitées au Spinosad retrouvent des valeurs comparables aux témoins.. La comparaison des moyennes pour un même âge entre les deux générations montre que le stress oxydatif est plus important à la G0 comparativement à la G1.L'analyse de la variance à deux critères de classification confirme ce résultat (**Tab.06**). En effet, des différences significatives sont notées pour les critères génération ($F_{3, 48} = 54,24, p < 0,001$), stade ($F_{3, 48} = 21,25; p < 0,001$) mais aussi pour l'interaction génération-stade ($F_{9, 48} = 7,79, p < 0,001$).

L'induction de l'activité spécifique de la CAT, notée aussi avec un effet différé, est un mécanisme constituant la première étape de défense contre le stress oxydant induit par le Spinosad.

Tableau 06. Effets du Spinosad administré *in vivo* par application topique (DI_{50} : 288,50 ng) sur les larves du dernier stade de *D .melanogaster* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\mu M/min/mg$ de protéines) chez les larves (L3) pupes (0 et 3 jours) et adultes (0 et 7jours) au cours de deux générations successives G0 et G1 : Analyse de la variance à deux critères de classification.

Résultats

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Génération	3,68342	3	1,22	54,24	p<0,001**
Stade	1,44428	3	0,48	21,25	p<0,001**
Interaction	1,5870	9	0,17	7,79	p<0,001**
Erreur résiduelle	1,0865	48	0,02		

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

Résultats

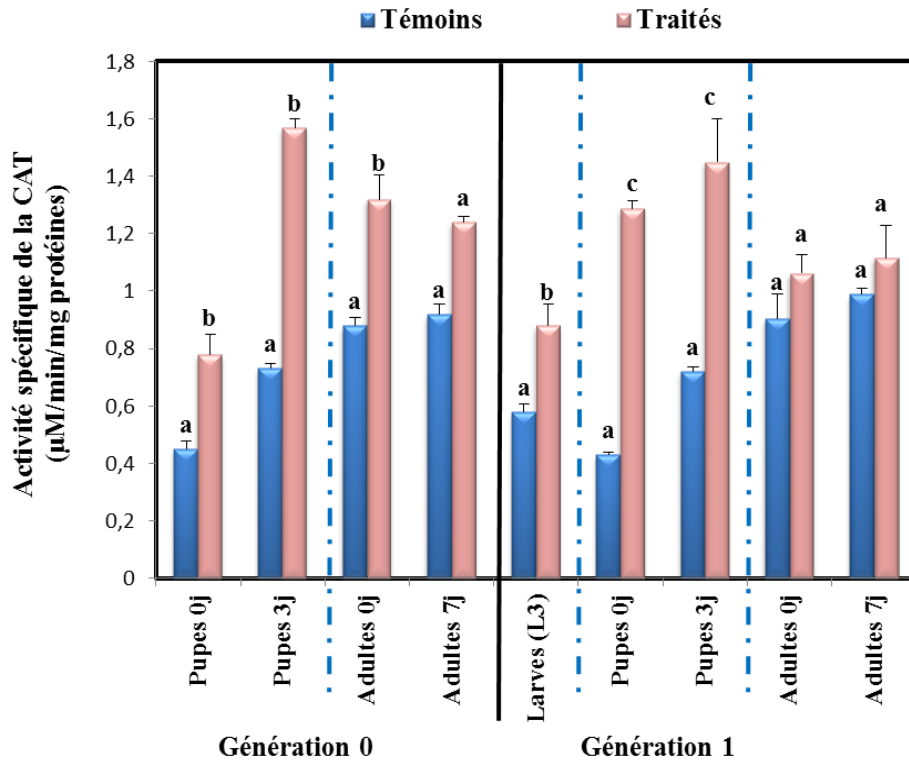


Figure 05. Effets du Spinosad administré *in vivo* par application topique (DI_{50} : 288,50ng) chez les larves du dernier stade de *D.melanogaster* (G0) et évalués sur l'activité spécifique de la CAT ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves (L3) pupes (0 et 3 jours) et adultes (0 et 7 jours) au cours de deux générations successives G0 et G1 ($m \pm sd$; $n = 4$ à 6). Les lettres en minuscules correspondent à l'analyse statistique pour un même âge entre les deux générations.

DISCUSSION

Discussion

Le mécanisme de détoxification des xénobiotiques impliquent plusieurs types d'enzymes qui dégradent les insecticides en métabolites moins toxiques (Soderlund, 1997). Le processus de détoxification comprend différentes phases et les deux premières sont essentielles. La première phase ou phase de fonctionnalisation des xénobiotiques est assurée par des enzymes telles que les monooxygénases, hydrolases et réductases. La deuxième phase ou phase de conjugaison est réalisée par des enzymes telles que les GSTs qui catalysent la conjugaison des molécules fonctionnalisées à des substrats endogènes afin de faciliter leur excrétion (Li, 2009; Misra *et al.*, 2011). Les GSTs représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles, essentiellement cytosoliques impliquées, dans de nombreux processus physiologiques parmi lesquels le transport intracellulaire, la biosynthèse des hormones, la protection contre le stress oxydatif et la détoxification des substances endogènes et de nombreux xénobiotiques (Enayati *et al.*, 2005, Board & Menon, 2013). Par ailleurs, les GSTs sont considérées comme des modérateurs du stress oxydatif et la catalase correspond à un biomarqueur de ce stress (Konus, 2015). La catalase (CAT : EC 1.11.1.6) est impliquée dans la défense de la cellule contre les effets toxiques du peroxyde d'hydrogène en catalysant sa décomposition en oxygène et eau, ce qui limite les effets délétères des espèces réactives à l'oxygène (ROS). L'activité de ces enzymes n'est pas spécifique à un groupe de contaminants; celle-ci peuvent être induites par une large gamme de xenobiotiques (Chakrabarti *et al.*, 2015) comprenant les pesticides naturels comme l'Azadirachtine (Boulahbel *et al.*, 2015).

Les résultats obtenus, chez *D.melanogaster*, après traitement au Spinosad, mettent en évidence une augmentation des activités spécifiques de la CAT, observée dès 24 h après traitement au Spinosad et démontrant donc l'installation d'un stress oxydatif. Le Spinosad,

Discussion

provoque une induction de cette enzyme au cours des deux générations successives (G0 et G1) à tous les stades comparativement aux témoins; cet effet différé, retrouvé chez les larves, pupes et adultes de la génération suivante (G1), est en accord avec les résultats de Benchaabane *et al.*, (2016) chez *T.absoluta* après traitement avec ce même pesticide. Des effets similaires sont également observés chez *Tribolium castaneum* (Awan *et al.*, 2012) et *A. mellifera* (Carvalho *et al.*, 2013). La hausse dans l'activité spécifique de la catalase pourrait être expliquée par un mécanisme d'adaptation à la prévention de l'accumulation des (ROS) résultant de la présence du Spinosad et à une intensification de la sensibilité envers ce pesticide au niveau des membranes cellulaires. L'augmentation de l'activité de la catalase dès 24h après traitement est expliquée par le fait que cette enzyme est connue pour présenter une réponse claire et rapide de la contamination par les xénobiotiques (Wenning *et al.*,1988). Par ailleurs, le retour à des normes physiologiques chez les adultes à la G1 peut s'expliquer par la détoxification plus importante qui a lieu à cette même période de développement.

L'augmentation dans les valeurs de la catalase observée entre les âges chez les pupes pourrait être liée à toutes les modifications histologiques relatives à la métamorphose.

CONCLUSION
&
PERSPECTIVES

CONCLUSION ET PERCEPECTIVES

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le Spinosad, testé par application topique, sur les larves de dernier stade de *D.melanogaster* présente une DI_{50} de 288,50 ng. Chez cette espèce non cible, cette valeur plus importante, comparativement à d'autres insectes visés, reste, néanmoins, similaire à certains Lépidoptères ravageurs.

L'évaluation des activités spécifiques de la CAT, les résultats montrent, au cours des deux générations, un stress oxydatif mais aussi l'induction d'un mécanisme de détoxification plus drastique en G1. Les expérimentations conduites ont donc mis en évidence l'effet indirect ou différé du Spinosad sur les stades qui suivent le traitement mais aussi sur la génération suivante démontrant ainsi la rémanence du Spinosad. Ce nouvel élément démontrant la persistance des effets toxiques chez *D.melanogaster* doit être pris en considération dans le contrôle des insectes ravageurs et ce, dans le cadre d'un programme de lutte intégrée. Cependant, avant la mise en place d'un tel programme, il est essentiel de tester les effets du Spinosad dans les conditions naturelles afin de mettre en évidence les impacts sur les ennemis naturels; en effet, le Spinosad peut être sans effets ou encore modérément nuisible à nuisible sur ces espèces non cibles (Biondi *et al.*, 2012; Mahdavi *et al.*, 2015; de Araujo, 2017; De França *et al.*, 2017).

A l'avenir il serait intéressant, après obtention des souches de *D. melanogaster* résistantes au spinosad de comparer par différentes analyses moléculaires (extraction d'ADN génomique, et la polymérase chaîne réaction, purification et séquençage des amorces) et ce par rapport à des souches sensibles.

RESUMES

Résumé

Le Spinosad, pesticide naturel, a été utilisé par application topique, sur les larves de dernier stade de *Drosophila melanogaster* puis évalué à différents stades au cours de deux générations successives (G0 et G1) afin de mettre en évidence les effets différés éventuels de la molécule.

Dans un premier temps, des tests de toxicité ont été effectués afin de préciser les doses d'inhibition (DI), dont la DI₅₀ qui a été retenue pour évaluer les effets du Spinosad sur les marqueurs de toxicité (CAT).

Le Spinosad, chez *D.melanogaster*, entraîne une inhibition de la mue nymphale avec une relation dose-réponse; Le Spinosad, testé à la DI₅₀, induit l'augmentation du stress oxydatif. La hausse de l'activité spécifique de la CAT est notée au cours des deux générations successives.

Ainsi, les résultats obtenus démontrent des effets différés du Spinosad et mettent donc en évidence la rémanence de ce pesticide.

Mots clés: *Drosophila* - Spinosad - Toxicité - Stress - Rémanence.

ABSTRACT

Spinosad, a natural pesticide, was used by topical application on the last stage of *Drosophila melanogaster* and was evaluated at different stages during two successive generations (G0 and G1).

Initially, toxicity tests were carried out to specify inhibition doses (DI), the DI50 was chosen to evaluate the effects toxicity markers (CAT) .Spinosad, in *D. melanogaster*, results in inhibition of nymphal moult with a dose-response relationship.

The Spinosad, tested at the DI50, induces a mechanism of detoxification which is observed in both generations. Therefore, the increase in the CAT thus confirming the induction of an oxidative stress. The increase in the specific activity of the CAT assayed is noted during the two successive generations. Furthermore, The comparison between the two generations seems to show a return to basic values for CAT,

Thus, the results obtained show deferred effects of Spinosad and thus show the persistence of this pesticide.

Key Words: *Drosophila*, Toxicity, Spinosad, Stress, persistence

الملخص

Spinosad، مبيد طبيعي، استخدم بواسطة التطبيق الموضوعي المجرى على يرقات الطور الثالث لذبابة الفواكه *D. melanogaster* وتم تقييمه على مراحل مختلفة خلال جيلين متعاقبين (G0 و G1) من أجل تسليط الضوء على التأثيرات المتأخرة الممكنة للجزيء. في البداية، تم إجراء اختبارات السمية لتوضيح الجرعات المثبطة (ID)، وقد تم اختيار DI_{50} لتقييم آثار Spinosad على مؤشرات السمية (CAT)

يسبب Spinosad عند *D.melanogaster* تنشيط انسلاخ العذراء مع وجود علاقة بين الجرعة والاستجابة.

اختبار Spinosad بجرعة الممية (DI_{50}) أدى التنشيط آلية إزالة السموم ملاحظ عند الجيلين. زيادة (CAT) تؤكد إحداث الإجهاد التأكسدي. في الواقع، يتم تسجيل زيادة في نشاط (CAT) عند الجيلين المتعاقبين. و هكذا، النتائج المتحصل عليها تبين الآثار المتأخرة ل Spinosad و تسليط الضوء على استمرار هذا المبيد.

كلمات مفتاحية: - Spinosad - *Drosophila* - السمية- الإجهاد- استمرار

Références bibliographiques :

- Abhilash P.C. & Singh N. 2009.** Pesticide use and application: An Indian scenario. *JHazard Mater.* **165**(1-3): 1-12p.
- Adak T., Mukherjee I. 2016.** Investigating Role of Abiotic Factors on Spinosad Dissipation. *Bull. Environ. Conta. Toxicol.* **96**(1):125-129p.
- Andreazza F., Bernardi D., Baronio C., Pasinato J., Nava D.E., & Botton M. 2016.** Toxicities and effects of insecticidal toxic baits to control *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae). *Pest Manag Sci* **73**:146-152p .
- Asplen M., G. Anfora A. Biondi D., Choi D., Chu K., Daane P., Desneux, N 2015.** Invasion biology of spottedwing *Drosophila (Drosophila suzukii)*: a global perspective and future priorities. *J. Pest Sci.* **88**: 469-494p.
- Awan D.A., Saleem M.A., Nadeem M.S., Shakoori A.R. 2012.** Toxicological and biochemical studies on Spinosad and synergism with piperonyl butoxide in susceptible and resistant strains of *Tribolium castaneum*. *Pakistan J. Zool.* **44**(3): 649-662p.
- Bendjazia-Bezzar R., Kilani- Morakchi S. & Aribi N., 2016.** Larval exposure to azadirachtin affects fitness and oviposition site preference of *Drosophila melanogaster*. *Pest Biochem. and Physiol.* **133**: 85-90p.
- Benchaabane S., Aribi N., Kilani-Morakchi S. & Chaabane M. 2016.** Delayed toxic effects of spinosad on G1 progeny of an invasive species, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Afr Entomol.* **24**(2):412-420p.
- Bhatta D., Henderson G. & Gautam B.K. 2016.** Toxicity and nonrepellency of Spinosad and Spinetoram on *formosan subterranean* termites (Isoptera: Rhinotermitidae). *J Econ. Entomol.* **109**(3):1341-1349p.
- Biondi A., Desneux N., Siscaro G. & Zappalà L. 2012.** Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere.* **87**: 803-812p.
- Birch A E., Begg G. S & Squire G. R. 2011.** How agro-ecological research helps to address food security issues under new IPM and pesticide reduction policies for global crop production systems. *J Exp Bot.* **62** (10): 3251-3261p.

Références bibliographiques

- Blacquière T., Smaghe G., Van Gestel C. A. & Mommaerts V. 2012.** Neonicotinoids in bees: a review on concentrations, side-effects and risk assessment. *Ecotox.* **21**(4): 973-992p.
- Board P.G. & Menon D. 2013.** Glutathione transferases, regulators of cellular metabolism and physiology. *Biochim Biophys Acta.* **1830** (5): 3267-3288p.
- Bouharmont, J., Masson, P.L. & Van Hove, C. 2007.** Biologie. Révision scientifique de Charles- Marie Evrard. Edition *De Boeck université.* **386**: 1250p
- Boulahbel B., Aribi N., Kilani-Morakchi S. & Soltani N. 2015.** Insecticidal activity of azadirachtin on *Drosophila melanogaster* and recovery of normal status by exogenous 20-hydroxyecdysone. *Afr Entomol.* **23** (1): 224-233p.
- Bruce T.J.A. 2010.** Tackling the threat to food security caused by crop pests in the new millennium. *Food Sec.* **2**: 133-141p.
- Cabrera-Marín N.V., Liedo P., Sánchez D. 2016.** The effect of application rate of GF 120 (Spinosad) and Malathion on the mortality of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) foragers. *J Econ Entomol.* **109**(2): 515-519p.
- Cantrell, C.L., Dayan, E.F. & Duke, S.O. 2012.** Natural products as sources for new pesticides. *J Nat Prod.* **75**(6): 1231-1242p.
- Carvalho S.M., Belzunces L.P., Carvalho G.A., Brunet J.L. & Badiou Beneteau A. 2013.** Enzymatic biomarkers as tools to assess environmental quality: a case study of exposure of the honeybee *Apis mellifera* to insecticides. *Environ Toxicol Chem.* **32**: 2117-2124p.
- Casida J.E. & Durkin K.A. 2013.** Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu .Rev. Entomol.* **58**: 99-117p.
- Chakrabarti P., Rana S., Sarkar S., Smith B. & Basu P. 2015.** Pesticide-induced oxidative stress in laboratory and field populations of native honey bees along intensive agricultural landscapes in two Eastern Indian states. *Apidologie.* **46**(1): 107-129p.
- Dasenaki M.E., Bletsou A.A., Hanafi A.H. & Thomaidis N.S. 2016.** Liquid chromatography tandem mass spectrometric methods for the determination of Spinosad, thiacloprid and pyridalyl in spring onions and estimation of their pre-harvest interval values. *Food Chemistry.* **(213)**: 395–401p.
- De Araújo T.A., Picanço M.C., Ferreira D.O., Campos J.N.D., de Arcaño L.P., Silva G.A. 2017.** Toxicity and residual effects of insecticides on *Ascia monuste* and predator *Solenopsis saevissima*. *Pest. Manag. Sci.* DOI:10.1002/ps.4603.
- De França S.M., Breda M. O., Barbosa D. R. S., Araujo M. N. & Guedes C. A. 2017.** The sublethal effects of insecticides in Insects: Biological control of pest and

Références bibliographiques

vector insects In: Vonnied.C. Shields (Ed): *Agricultural and Biological Sciences*.DOI:10.5772/66461.

Deravel J., Krier F. & Jacques P. 2014. Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron.Soc.Environ.***18** (2):220-232p.

Dhadialla T.S., Retnakaran A. & Smaghe 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**: 55-116p.

Dhadialla T.S., Retnakaran A. & Smaghe G. 2010.Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert L.I. & Gill S.S. (Eds). *Insect Control*. Elsevier, New York. USA. 121-166p.

Dimetry N.Z. 2015. Different plant families as bioressource for pesticides. In: Singh, D. (Ed): *Advances in Plant Biopesticides*. Springer, New York, Dordrecht, London: 1-20p.

Dua V.K., Pandey A.C., Raghavendra K., Gupta A., Sharma T. & Dash A.P.2009.Larvicidal activity of neem oil (*Azadirachta indica*) formulation against mosquitoes. *Malaria J.***8**: 124-129p.

El Joubari M., Faraj C., Louah A., Himmi O. 2015.Sensibilité des moustiques *Anopheleslabranchiae*, *Culex pipiens*, *Ochlerotatus detritus* et *Ochlerotatus caspius* de la region de Smir (Nord-Ouest du Maroc) aux organophosphores utilises en sante publique. *Environ. Risque Sante* **14**: 72-79p.

Enayati A. A., Ranson H., & Hemingway J. 2005. Insect glutathione transferases and insecticide resistance. *Insect Mol. Biol.***14**: 3–8p.

Fraenkel G. & Bhaskaran G. 1973 .Pupariation and Pupation in *Cyclorrhaphous Flies* (Diptera): Terminology and Interpretation1.*Ann Entomol Soc Am* .**66** (2): 418-422p.

Goudey-Perrière F. & Perrière C. 1974.Guide de travaux pratiques de Zoologie et de Biologie Animale. Paris *Centre de documentation universitaire*. Vol 2.100p

Govindarajan M. & Rajeswary M. 2015. Ovicidal and adulticidal potential of leaf andseed extract of *Albizia lebbek* (L.) Benth. (Family: Fabaceae) against *Culex quinque fasciatus*, *Aedes aegypti*, and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.***114**(5): 1949-1961p.

Griffiths A.J.F., Miller J. H., Suzuki D. T., Sanlavielle C., Lewontin R. C. & Gelbart W.M. 2002.Introduction à l'analyse genetique. 3eme édition *De Boeck Université*.860p.

Gupta R.C. & MilatovicD. 2014. Insecticides. In: Gupta, R.C. (Ed). *Biomarkers inToxicology*. Academic Press, Elsevier, Amsterdam. 389-407p.

Références bibliographiques

- Hellou J., Lebeuf M., & Rudi M. 2013.** Review on DDT and metabolites in birds and mammals of aquatic ecosystems. *Environ. Rev.* **21**: 53-69p.
- Huan Z., Luo J., Xu Z., Xie D. 2015.** Residues, dissipation, and risk assessment of spinosadin cowpea under open field conditions. *Environ Monit Assess.* **11**:706p.
- Jouandin, P. 2013.** Rôle de la voie de signalisation « Insuline » dans le couplage des informations nutritionnelles et développementales au cours de l'ovogénèse chez *Drosophila*. Thèse de Doctorat. Université de Nice Sophia-Antipolis. 226 p.
- Kirst H.A. 2010.** Spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. *J. Antibiot.* **63**(3): 101-111p.
- Konuş M. 2015.** Effects of Oxidative Stress on xenobiotic metabolizing enzymes in *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae). *Turk. J. Biochem.* **40** (2):175-180p.
- Kulkarni J., Kapse N. & Kulkarni D.K. 2009.** Plant based pesticides for control of *Helicoverpa armigera* on *cucumis sativus*. *Asian Agric Hist.* **13**(4): 327-332p.
- Leach H., Van Timmeren S., & Isaacs R. 2016.** Exclusion Netting delays and reduces *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) infestation in raspberries. *J. Econ Entomol.* **109** (5): 2151-2158p.
- Legwaila M.M., Munthali D.C., Obopile M., & Kwerepe B.C. 2013.** Effectiveness of Spinosad against diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) eggs and larvae on cabbage under Botswana conditions. *J. Insect. Sci.* **6**: 15- 21p.
- Li X. 2009.** Glutathione and Glutathione-S-Transferase in detoxification mechanisms In: Ballantyne, B., Marrs, T. & Syversen, T. (Eds). *General and Applied Toxicology*, (Third Edition). John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK. 411-423p.
- Liu N. & Yue X. 2000.** Insecticide resistance and cross-resistance in the house fly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* **93**: 1269-1275p.
- Mahdavi V., Saber M., Rafiee-Dastjerdi H., Kamita S. G. 2015.** Lethal and Demographic Impact of chlorpyrifos and spinosad on the ectoparasitoid *Habrobracon hebetor* (Say) (Hymenoptera: Braconidae). *Neotrop Entomol.* **44** (6):626-633p.
- 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): 871-878p.
- Meigen J.W. 1830.** Systematische Beschreibung der bekannten europäischen zweiflügeligen Insekten. *Hamm.* **6**: 401p.

Références bibliographiques

- Mertz F.P. & Yao R.C. 1990.** *Saccharopolyspora spinosa* sp. novel isolated from soil collected in a sugar mill rum still. *Int J Syst Bacteriol.* **40**(1): 34-39p.
- Misra J.R., Horner M.A., Lam G. & Thummel C.S. 2011.** Transcriptional regulation of xenobiotic detoxification in *Drosophila*. *Genes Dev.* **25**(17): 1796-1806p.
- 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**: 117-135p.
- 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. 204-206p.
- Nicolopoulou-Stamati P., Maipas S., Kotampasi C., Stamatis P., Hens L. 2016.** Chemical pesticides and Human health: the urgent need for a new concept in agriculture. *Front Public Health*. **4**:148p.
- Noureen N., Hussain M., Samman F & Mobeen G. 2016.** Cotton mealy bug management: a review. *J. Entomol. Zool. Studies* .**4**(4): 657-663p.
- Nozad-Bonab Z., Hejazi M.J., Iranipour S.H., Arzanlou M. 2017.** Lethal and sublethal effects of some chemical and biological insecticides on *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae) eggs and neonates. *J. Econ. Entomol.* **110** (3): 1138-1144p.
- Orhan A., Aslantaş R., Şebnemönder B., Tozlu G. 2016.** First record of the invasive vinegar fly *Drosophila suzukii* (Matsumura) (Diptera: Drosophilidae) from eastern Turkey. *Turk J Zool.* **40**: 290-293p.
- Osorio A., Martinez A.M., Schneider M.I., Diaz O., Corrales J.L., Aviles M.C., Smagghe G. & Pineda S. 2008.** Monitoring of beet armyworm resistance to spinosad and methoxyfenozide in Mexico. *Pest Manag Sci.* **64**(10): 1001-1007p.
- Parvathi D.V., Amritha A. S. & Paul S.F.D. 2009.** Wonder animal model for genetic studies *Drosophila melanogaster* its life cycle and breeding methods a review. *Sri Ramachandra J. Med.* **2**(2): 33-38p.
- Pener M.P. & Dhadialla T.S. 2012.** An overview of insect growth disruptors; applied aspects. *Adv. Insect. Physiol.* **43**: 1-162p.
- Pereira B.B., Caixeta E. S., Freitas C .P., Vieira Santos V., Limongi E. J., de Campos Júnior E. O., Campos C. F., Souto H.N., Rodrigues T.S & Morelli S. 2016.** Toxicological assessment of Spinosad: Implications for integrated control of *Aedes aegypti* using larvicides and larvivorous fish. *J. Toxicol. Environ. Health, Part A*, **79**(12): 477-481p.
- Quinn L., Lin J., Cranna N., Lee J.E.A., Mitchell N. & Hannan R. 2012.** Steroid hormones in *Drosophila*: How ecdysone coordinates developmental signaling with

Références bibliographiques

- cell growth and division. In: Abdul-Jabbar, H. (Ed). *Steroid Basic Science*. Intech, Rijeka. 141-168p.
- Ramos R. S., Sediyaama C. S., Queiroz E. A., Costa T. L., Martins J. C., Araujo T. A. & Picanc M. C. 2017.** Toxicity of insecticides to *Chrysodeixis includens* and their direct and indirect effects on the predator *Blaptostethus pallelescens*. *J. Appl. Entomol.* doi: 10.1111/jen.12382.
- Reddy G.V. & Antwi F.B. 2016.** Toxicity of natural insecticides on the larvae of wheat head armyworm, *Dargida diffusa* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ Toxicol Pharmacol.* **42**:156-62p.
- Rinkevich F.D. & Scott J.G. 2012.** Reduction of *dADAR* activity affects the sensitivity of *Drosophila melanogaster* to spinosad and imidacloprid. *Pest Biochem. Physiol.* **104**(2): 163-169p.
- Salgado V.L. 1997.** The modes of action of spinosad and other insect control products. *Down to Earth.* **52** (1): 35-44p.
- Salgado V.L. & Sparks T.C. 2005.** The spinosyne: Chemistry, biochemistry, mode of action and resistance. In Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S (Eds.). *Comprehensive Molecular Insect Science*, Elsevier, Oxford, UK. **6**: 137–173p.
- Sarfraz M., Dosdall L.M. & Keddie B.A. 2005.** - Spinosad: a promising tool for integrated pest management. *Outlook Pest Manag.* **16** (2): 78-84p.
- Sheikh EI-S.A. 2015.** Comparative toxicity and sublethal effects of emamectin benzoate, lufenuron and spinosad on *Spodoptera littoralis* Boisduval (Lepidoptera: Noctuidae). *Crop Prot.* **67**: 228-234p.
- Shelton A.M. & Nault B.A. 2004.** Dead-end trap cropping: a technique to improve management of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Crop Prot.* **23**: 497–503p.
- Soderlund DM. 1997.** Pharmacokinetic behavior of enantiomeric pyrethroid esters in cockroach. *Periplaneta Americana L. Pest Biochem Physiol.* **12**: 38-48p.
- Somers J., Luong H.N.B., Mitchell J., Batterham P. & Perry T. 2017.** Pleiotropic effects of loss of the *Da1* subunit in *Drosophila melanogaster*: Implications for Insecticide Resistance. *Genet.* **205** (1):263-271p.
- 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. 463-497p.
- Su T., Cheng M.L. & Thieme J. 2014.** Laboratory and field evaluation of spinosad formulation Natular T30 against immature *Culex* mosquitoes (Diptera: Culicidae). *J. Med Entomol.* **51**(4): 837-844p.

Références bibliographiques

- Tavernier R. & Lizeaux C. 2002.** Sciences vie de la Terre Terminale S- Spec. *Maisonneuve & Larose*. Paris, France. 255 p.
- Tia E., Konan K. G., Boby Ouassa A.M., Moussa K., Tea Sea A., Koffi B., Kadjo K. 2016.** Evaluation au laboratoire de l'efficacité de la peinture insecticide acrylique titan contre *Anopheles Gambiae*, vecteur majeur du Paludisme en Côte d'Ivoire. *Europ. Sci. J.* **12** (27):229p.
- Vanisree K., Upendhar S., Rajasekhar P & Rao G .R.2017.** Effect of newer insecticides against chilli thrips, *Scirtothrips dorsalis* (Hood). *J. Entom. Zool. St.* **5**(2): 277-284p.
- Wenning R.J., Di Giulio R.T. & Gallaghe E.P. 1988.** Oxidant mediated biochemical effects of paraquat on the ribbed mussel, *Geukensia demissa*. *Aquat. Toxicol.* **12**: 157-170p.
- White N.J., Pukrittayakamee S., Hien T.T., Faiz M.A., Mokuolu O.A, & Dondorp, A.M. 2014.** Paludisme. *Lancet.* **383**(9918): 723-735p.
- Zdarek J., Fraenkel G .1972.** The mechanism of puparium formation in flies. *J. Exp. Zool Part a* **179** (3): 315-323p.

Année universitaire : 2017/2018

Présenté par : LARAIS AMINA

BOUCEBIA NOUR EL

HOUDA

Effets d'un biopesticide sur un Diptère

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

Résumé

Le Spinosad, pesticide naturel, a été utilisé par application topique, sur les larves de dernier stade de *Drosophila melanogaster* puis évalué à différents stades au cours de deux générations successives (G0 et G1) afin de mettre en évidence les effets différés éventuels de la molécule.

Dans un premier temps, des tests de toxicité ont été effectués afin de préciser les doses d'inhibition (DI), dont la DI₅₀ qui a été retenue pour évaluer les effets du Spinosad sur les marqueurs de toxicité (CAT).

Le Spinosad, chez *D.melanogaster*, entraîne une inhibition de la mue nymphale avec une relation dose-réponse; Le Spinosad, testé à la DI₅₀, induit l'augmentation du stress oxydatif. La hausse de l'activité spécifique de la CAT est notée au cours des deux générations successives.

Ainsi, les résultats obtenus démontrent des effets différés du Spinosad et mettent donc en évidence la rémanence de ce pesticide.

Mots clés: *Drosophila* - Spinosad - Toxicité - Stress - Vitellogénèse - Rémanence.

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

Jury d'évaluation :

Président du jury : Mme FRAHTIA KHALIDA (MC – Des frères Mentouri).

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

Examineur : Mme KOHIL KARI MA (MC- Des frères Mentouri).

Date de soutenance : 03/07/2018