

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I
Frères Mentouri Constantine I University
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de 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 et Contrôle des Populations d'Insectes*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**L'effet du Spinosad (biopesticide) sur *Drosophila melanogaster*
(Meigen, 1830)**

Présenté par : MALEK Chaima

Le 22/06/2022

BELLAR Ilhem

Jury d'évaluation :

Encadreur: Mme CHAABANE Meriem (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mme Bakiri Asma (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Mme Frahtia Khalida (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Année universitaire
2021 - 2022**

Remerciements

Le meilleur ami de « merci » est « beaucoup ».

Michel Southot

N'étant pas des plus douée pour les discours, ces remerciements brefs mais sincères ne seront ni en vers ni en chanson et resterons très classiques...

Ce travail est le point culminant d'un long voyage à travers lequel nous avons bénéficié Formation, encouragement et soutien pour bon nombre de nos employés concernés.

*El hamdoulillah, On remercie **ALLAH**, le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, le courage et la volanté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Tout d'abord, nous tenons à exprimer notre gratitude À Mme **CHAABANE MERIEME** Nous ne saurions jamais oublier sa disponibilité, Sa compétence et la confiance qu'elle nous a témoignée et ont été déterminantes dans la réalisation de notre travail de recherche. Pour ses efforts afin de nous encadrer et de nous orienter. Merci Mme d'avoir été très patiente avec nous et merci pour tous les efforts que vous avez déployés pour nous.*

*Notre remerciement s'adresse également à Mme **FRAHIA KHALIDA** de nous avoir accueillis dans son équipe, sa disponibilité et ses qualités humaines nous ont profondément touchées.*

*Nos vifs remerciements à Mme **BAKIRI ASMA** d'avoir acceptés d'examiner ce modeste travail.*

Enfin nous remercierons chacune des personnes qui ont participés de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je tiens à dédier cet humble travail à :

*A ma tendre mère **SAMIRA** et mon très cher père **AHMED***

*A mes sœurs : **RAYEN ZINEB** et **MALAK***

*A mon frère : **ABD ELRAHIM***

*A mon frère et mon petit cœur : **MOUSSA** (Allah yrahmou)*

*Spécial dédicace à vous : Dr **CHAABAN MERIEM***

*A mes meilleurs amis : **Rahma, Hadjer et fatiha***

*A Tous mes amis d'enfance et du long parcours scolaire et
universitaire.*

A Toute ma famille

Tous ceux qui m'aiment et que j'aime

BELLAR ILHEM



Dédicace

Je tien avec grand plaisir que je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère :

Quoi que je fasse ou je dis ; je ne serais point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

A mon très cher père :

Tu as toujours été à mes côté pour me soutenir et m'encourager.

Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

A mes très chers frères SEIFEDDINE, OUSSAMA, ABDOU

ET mes sœur MARIA ET MERIEM.

A mes amis NAILA ET NOURHANE.

Toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

A tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le nom

MALEK

Je dédier ce travail à tous ceux qui ont participé à ma réussite.



MALEK CHAIMA



Sommaire

INTRODUCTION01

Chapitre 1 : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Rappel sur drosophile.....	06
1.1. Morphologie et anatomie.....	07
1.2. Comportement reproducteur de la drosophile	07
1.3. Dimorphisme sexuel.....	08
1.4. Symptômes et dégâts.....	10
1.5. Piégeage des drosophiles adultes.....	11
1.5.1. Piégeages de masse.....	11
1.5.2. Fabrication d'un piège avec une bouteille en PET.....	11
1.6. Moyens de lutte contre drosophile.....	12
1.6.1. Les mesure d'hygiène.....	13
1.6.2. La gestion de la culture.....	13
1.6.3. Les filets et sachets de protection.....	13
1.6.4. Chaîne du froid.....	14
1.6.5. Lutte chimique.....	14
2. Rappels sur les produits phytosanitaires.....	15
2.1. Les produits phytosanitaires communément nommés "pesticides"	15
2.2. Les insecticides.....	15
2.3. Les principales familles d'insecticides.....	16
2.4. Les biopesticides.....	16
2.5. Les avantages et les inconvénients des biopesticides.....	17

Chapitre 2 : MATERIEL ET METHODE

1. Présentation de <i>D. melanogaster</i>	19
1. 1. Systématique de <i>D.melanogaster</i>	20
1. 2. Cycle de vie de <i>D. melanogaster</i>	21
1. 3. Elevage au laboratoire.....	23
2. Présentation de l'insecticide.....	24
3 Traitement des insectes et tests de toxicité.....	25
4. Analyse statistique.....	26
Résultats	28
Discussion	32
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	34
Résumé	35
Liste des références	38

Liste des Figures

Figure	Nom de figure	page
01	morphologie de la drosophile	07
02	<i>Dosophila melanogaster</i> adulte (1) male (2) femelle	09
03	peignes sexuels chez <i>D.melanogaster</i> male	09
04	les larves de la drosophile sur la fraise (1)	10
05	l'adulte de la drosophile sur : (1) le raisin (2) les bananes	11
06	une bouteille en PET	12
07	De gauche à droite : pièges RIGA, pièges de fabrication propre en PET et pièges Profatec pour la surveillance et les captures en masse	12
08	Les filets et sachets de protection	14
09	<i>D. melanogaster</i> adulte	19
10	peignes sexuels	20
11	Cycle biologique de <i>D. melanogaster</i>	23
12	Elevage de <i>D. melanogaster</i> au laboratoire	24

LISTE DES FIGURES

<p>13</p>	<p>Structure chimique du Spinosad</p>	<p>25</p>
<p>14</p>	<p>Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i>, par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de <i>D.melanogaster</i>, sur l'inhibition de la mue nymphale: Inhibition observée ($m \pm sd$; n = 3 répétitions de 30 individus chacune).</p>	<p>28</p>
<p>15</p>	<p>Effets du spinosad, administré <i>in vivo</i>, par application topique à différentes doses (ng) au dernier stade larvaire de <i>D. melanogaster</i> : Inhibition corrigée de la mue nymphale et classement des doses testées par le test HSD de Tukey. ($p < 0,001$).</p>	<p>30</p>

Liste des tableaux

Tableau	Nom de tableau	Page
01	Les stades de développement de <i>D. melanogaster</i>	22
02	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de <i>D.melanogaster</i> : sur l'inhibition de la mue nymphale : inhibition corrigée (%) ($m \pm sd$; n = 3 répétitions de 30 individus chacune).	29
03	. Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de <i>D.melanogaster</i> , sur le pourcentage d'inhibition de la mue nymphale : Analyse de la variance a un critère de classification (n = 3 répétitions de 30	29
04	Effets du Spinosad, administré <i>in vivo</i> , par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de <i>D. melanogaster</i> : Détermination des doses d'inhibition de la mue nymphale (DI en ng) et leurs intervalles de confiance à 95%.	30

Introduction général

INTRODUCTION

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 *et al.*, 2009 ; Dimetry, 2014) mais les arthropodes et, principalement, les insectes sont considérés comme étant les plus importants (McKay *et al.*, 2013 ; White *et al.*, 2014; Govindarajan *et al.*, 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 (selon l'ONU, 2016, la population mondiale est passée de 7 milliards en 2011 à 7,4 milliards en 2016 et un chiffre de 7,5 milliards est prévu en 2017). 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. Ils sont utilisés, pour aider les plantations ainsi que l'augmentation de la production alimentaire. (Hiago *et al.*, 2020). l'affaiblissement des terres cultivées (épidémies dans les cultures), 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 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

INTRODUCTION

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 & Dhadialla, 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 & Dhadialla, 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 (Deravelet *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 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 (Blacquière *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

INTRODUCTION

particulièrement, les Lépidoptères (Sheikh, 2015; Bhatta *et al.*, 2016, Reddy & Antwi, 2016), les Diptères (Su *et al.*, 2014; Andrezza *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.). Les utilisations alternatives du biopesticide comme un mélange avec différents composés sont fournis. (Santana *et al.*, 2019).

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; Liburd *et al.*, 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* (dos Santos Dias *et al.*, 2017).

Les pesticides naturels induisent, cependant, des mécanismes de résistance (Pan *et al.*, 2017; Li *et al.*, 2017) à l'instar des insecticides comme les néonicotinoïdes (Abbas *et al.*, 2015; Kavi *et al.*, 2014 ; Matsuura & Nakamura, 2014; Somers *et al.*, 2017) ou encore les IGDs (Khan *et al.*, 2016). Ces processus peuvent être comportementaux (comportement différent de l'insecte en présence de l'insecticide), physiologiques (modifications au niveau de la cuticule ou modifications du métabolisme) ou encore par des modifications au niveau des cibles de l'insecticide (Zimmer *et al.* 2016). Cependant, si aucune résistance n'est encore notée pour l'Azadirachtine, (Mordue *et al.*, 2005; Wang *et al.*, 2014), différents mécanismes après traitement au Spinosad ont été cités. Ainsi, chez *Tuta absoluta*, il a été mis en évidence une résistance métabolique (Reyes *et al.*, 2012) et une modification au niveau des nAChRs, site cible du Spinosad (Silva *et al.*, 2016). Chez *D. melanogaster*, des modifications au niveau des sous-unités $\alpha 6$ des nAChRs, ont été également démontrées (Perry *et al.*, 2015, Zimmer *et al.*, 2016). Par ailleurs, Hojland *et* Kristensen (2017) ont noté que la résistance au Spinosad chez *Musca domestica* n'était pas liée à l'altération d'un seul gène mais à la modification de l'expression différentielle des gènes codant pour les enzymes métaboliques de détoxication.

INTRODUCTION

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 en évitant l'installation de la résistance. 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.*, 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).

Par conséquent, la présente étude a pour but d'évaluer, la toxicité du Spinosad par application topique sur les larves du 3 eme stade afin de déterminer les différentes doses létales (DL) du pesticide et de préciser la dose à tester pour les différentes expérimentations par la suite.

Chapitre 1 :

DONNEES BIBILOGRAPHIQUES

DONNEES BIBILOGRAPHIQUE

1. Rappel sur drosophile :

D. melanogaster (Meigen, 1830) (Diptera, Drosophilidae) ; mouche du vinaigre. Insecte diptère brachycère élevé depuis le début du vingtième siècle à la suite des travaux pionniers de Thomas Hunt Morgan. Il en établit la première cartographie génétique ce qui lui valut le prix Nobel en 1933. La drosophile est rapidement devenue un organisme modèle sur lequel travaillent aujourd'hui plusieurs dizaines de milliers de chercheurs en génétique et en biologie du développement.

Drosophila melanogaster est un organisme modèle éprouvé en recherche génétique.

Elle est appropriée pour être utilisée dans des études d'intervention nutritionnelle car il présente de nombreuses similitudes avec les espèces de mammifères. Bien que sur le plan corporel des insectes soit plus simple que celui des mammifères, l'anatomie des mouches des fruits comprend des systèmes d'organes avec des équivalentes fonctions du cœur, des poumons, des reins, du foie et des gonades. De plus, elle est titulaire d'un complexe et dynamique intestin semblable dans la structure et l'organisation de l'intestin des mammifères.

En outre, les tissus, la physiologie et l'anatomie des mammifères et Les intestins de *D.melanogaster* présentent des propriétés similaires. En outre, la mouche des fruits possède un système nerveux central et périphérique, produit des hormones gastro-intestinales et sexuelles comme l'insuline peptides, hormone juvénile et ecdysone. (Mohr *et al.*, 2018).

Le nom de la mouche du vinaigre est dérivé du fait que *D. melanogaster* est fortement attiré par l'acide acétique, le composé qui donne au vinaigre son piquant Odeur, qui s'accumule dans les fruits en fermentation (Thomas Flatt,2020 :Jouandet et Gallio, 2015).

1.1. Morphologie et anatomie

Conformément à une morphologie typique des insectes, le Corps segmenté d'un adulte *D.melanogaster* peut être divisé en Trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. La tête Porte des pièces buccales suceuses et des organes sensoriels, dont une paire D'antennes et d'yeux composés. Chacun des trois Segments thoraciques (pro-, méso- et métathorax) porte une paire de membres. De plus, une paire d'ailes est attachée au mésothorax, et un Paire de licols est attachée au segment méta thoracique. Les segments abdominaux n'ont pas d'extrémités mais contiennent le mâle et Organes génitaux féminins. Le corps vermiforme des larves est Également segmenté mais dépourvu d'yeux, de membres et d'ailes composés. Les mouches adultes ingèrent principalement de la nourriture liquide via leur trompe, alors que les crochets buccaux des larves permettent l'ingestion d'aliments solides. (Staats *et al.*, 2018).

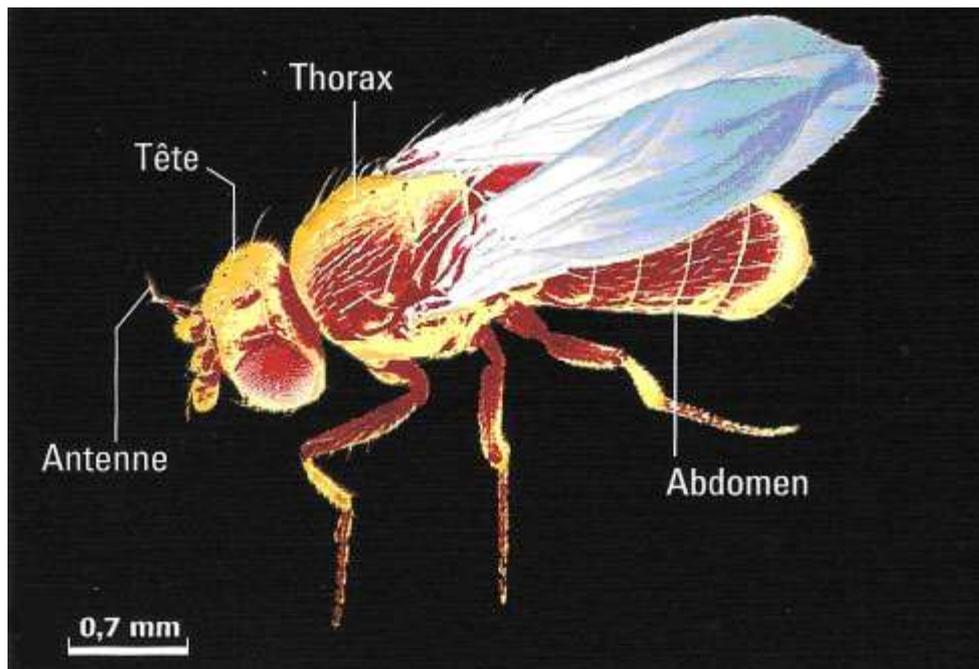


Figure 1 : morphologie de la drosophile (tp-svt.pagesperso-orange.fr)

1.2. Comportement reproducteur de la drosophile :

Les drosophiles adultes exécutent une série de comportements liés à la survie Et remise en forme. Les drosophiles mâles et femelles doivent localiser Substrats d'accouplement, dont la plupart sont également associés à Ressources alimentaires. Une fois dans l'arène

d'accouplement, les mouches doivent identifier Congénères et, dans certains cas, se disputent l'accès à les partenaires. Ce dernier englobe souvent des comportements agressifs

Pour défendre les opportunités d'alimentation et d'accouplement. Une fois que l'accouplement Réussi, les femelles doivent trouver un endroit approprié pour Pondre. Les stimuli biotiques et abiotiques ont un impact sur la reproduction Comportements. Par exemple, les conditions sociales peuvent affecter la reproduction (Robert R *et al.*, 2020 : Krupp *et al.*, 2008).

1.3. Dimorphisme sexuel :

Drosophila melanogaster (Meigen, 1830) est une espèce sexuellement dimorphe, où les mâles et les femelles peuvent être facilement distingués sur la base de plusieurs différences morphologiques.

Taille :

Les femelles sont généralement plus grosses que les mâles (mais cela peut varier selon l'âge, les conditions de culture et les facteurs génétiques).

Couleur :

Chez les mâles, les segments postérieurs de l'abdomen (A5 et A6) sont entièrement sombres et brillants ; chez les femelles, la coloration de ces segments varie du pâle au presque entièrement foncé. Les deux sexes ont un motif de sombre transversale rayure sur la face dorsale de chaque segment abdominal.

Morphologie externe :

- Les femelles ont un abdomen avec une pointe pointue tandis que l'abdomen du mâle est arrondi ; en plus le mâle

L'abdomen a tendance à se courber vers l'intérieur.

- Les organes génitaux externes masculins (epandrium) sont plus grands, plus complexes et plus foncés que les organes génitaux externes féminins

(Plaques génitales et ovipositeur).

- Les pattes antérieures des mâles ne portent que des peignes sexuels des rangées de soies épaisses et foncées sur le premier segment tarsien. Ce trait est

Facile à coter et fiable, bien qu'affecté par plusieurs mutations. (Chyb S , 2018).

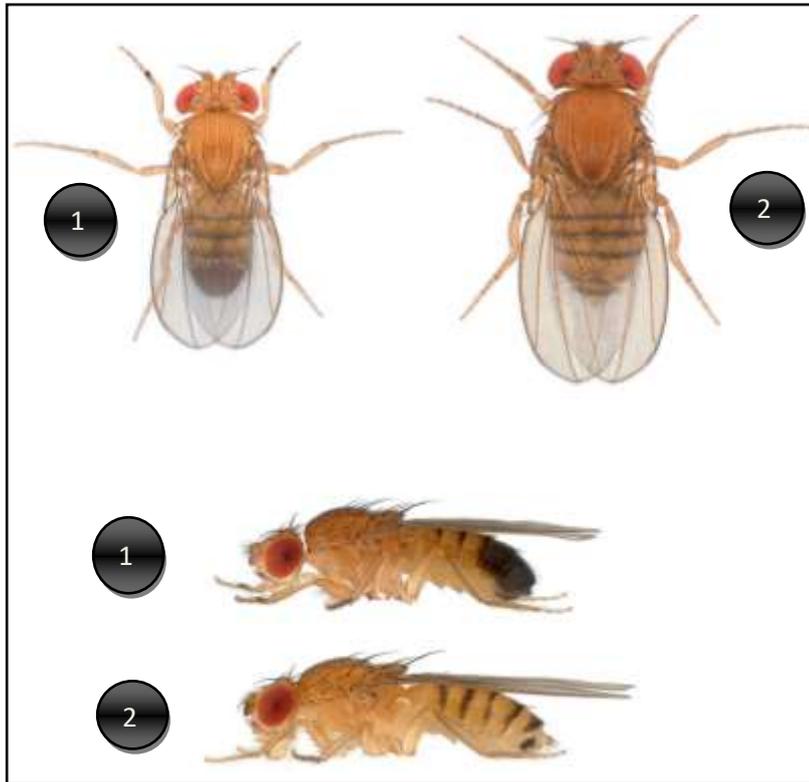


Figure 2 : *Drosophila melanogaster* adulte (1) male (2) femelle (Chyb S, 2018)

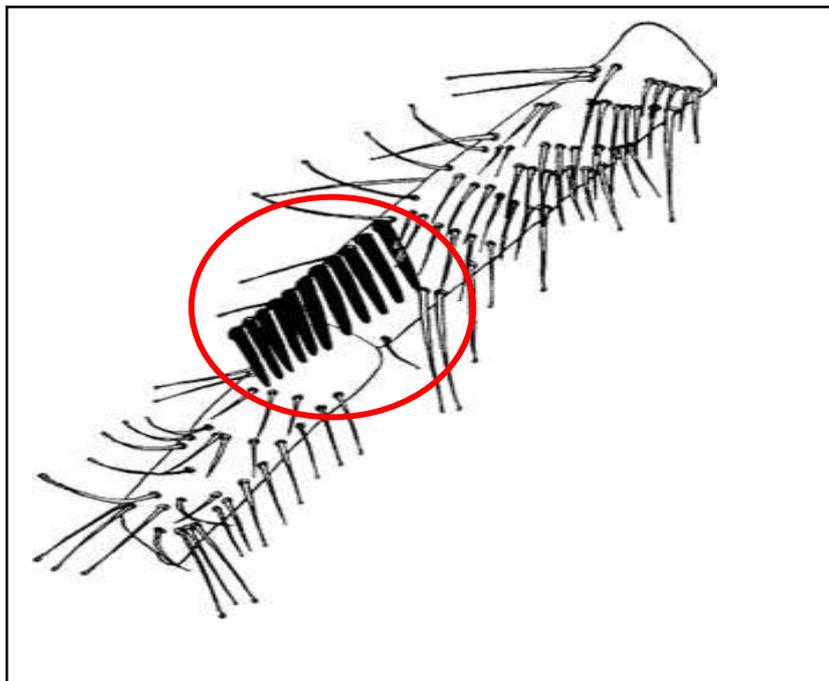


Figure 3 : peignes sexuels chez *D.melanogaster* male (Markow *et al.*, 2006)

1.4. Symptômes et dégâts :

Les symptômes apparaissent après la véraison. Les grappes touchées sont serrées ; elles présentent une couleur terne, grisâtre. Au stade ultime, les baies totalement vidées dégagent une odeur aigre ; elles renferment aussi de très nombreuses larves. En cuve, les grappes atteintes donnent un goût désagréable d'amertume au moût ou engendrent des piqûres acétiques.

Les larves, en se nourrissant de la pulpe des fruits, provoquent des dépressions sous l'épiderme et l'affaissement général du fruit. Les fruits ainsi endommagés sont souvent contaminés par des champignons ou des bactéries. Les fruits tombés au sol sont sources d'infestations secondaires. Fruits concernés : fraises, cerises, groseilles, framboise, mûres, kiwis...



Figure4 : les larves de la drosophile sur la fraise (1) (www.probodelt.com)

(2) (www.biobestgroup.com)



Figure5 : l'adulte de la drosophile sur : (1) le raisin (www.mon-viti.com)
(2) l'orange (www.matelma.com)

1.5. Piégeage des drosophiles adultes :

1.5.1. Piégeages de masse

Les piégeages de masse peuvent être faits aussi bien avec des pièges commerciaux qu'avec des pièges de fabrication maison. On utilisera des boîtes ou des bouteilles en plastique – si possible rouges ou noires – avec un couvercle qui ferme bien. Percer dans la partie supérieure des trous d'environ 5 mm de diamètre avec une aiguille chauffée ou un fer à souder. Laisser un côté de la boîte ou de la bouteille sans trous pour faciliter la vidange.

Il y a actuellement différents types de pièges disponibles dans le commerce : le DrosoTrap (Biobest / Andermatt Biocontrol), le Gasser-Becherfalle (Riga) et le piège Profatec (Profatec). (bioactualites.ch)

1.5.2. Fabrication d'un piège avec une bouteille en PET :

La bouteille en PET doit être percée dans sa moitié supérieur de 20 à 30 trous de 2-3mm de diamètre et remplie à moitié d'un mélange composé d'un tiers de vinaigre de pomme, d'un tiers de vin rouge et d'un tiers d'eau avec une goutte de produit vaisselle. (Bastien *c et al.*, 2019).



Figure6 : une bouteille en PET (Bastien c *et al.*, 2019).



Figure 7 : De gauche à droite : pièges RIGA, pièges de fabrication propre en PET et pièges Profatec pour la surveillance et les captures en masse. (Stefan K *et al.* , 2017).

1.6. Moyens de lutte contre drosophile :

La lutte contre ce ravageur s'appuie principalement sur des mesures préventives et mécaniques. Il n'existe aucun moyen de lutte suffisamment efficace qui permette de stopper la drosophile du cerisier. La combinaison réfléchie de plusieurs mesures ciblées est l'unique approche réaliste pour protéger les cultures.

Les moyens de lutte adaptée sont :

1.6.1. Les mesures d'hygiène :

L'objectif est d'éliminer les fruits pouvant contenir des œufs ou des larves en développement en :

- Récoltant quotidiennement tous les fruits mûrs.
- Eliminant de la parcelle les fruits abîmés, sursaturés ou tombés au sol. Ces fruits ne doivent en aucun cas être jetés au compost. Afin de tuer les éventuels œufs ou larves présents dans les fruits, ils doivent être soit stockés dans des sacs ou tonneaux fermés hermétiquement puis être exposés au soleil pendant minimum deux jours (solarisation), soit immergés dans de l'eau savonneuse pendant 24h au minimum. Les fruits peuvent ensuite être évacués au compost.

1.6.2. La gestion de la culture :

L'objectif est d'entretenir un environnement défavorable au développement de la drosophile du cerisier. Limiter dans la mesure du possible les recoins humides et ombragés que la drosophile du cerisier affectionne en :

- Entretien régulièrement la culture et en maintenant des plants bien aérés par une taille d'entretien.
- Limitant l'enherbement sur la ligne et au pied des plantes ainsi qu'à proximité de la culture.

1.6.3. Les filets et sachets de protection

Les arbres et buissons peuvent aussi être protégés à l'aide de filet anti-insecte. Ce dispositif est assez coûteux mais très efficace lorsqu'il est installé sur une culture saine. Il faut s'assurer que la maille soit assez fine pour empêcher la drosophile du cerisier de pénétrer à l'intérieur du filet (< 1.4 x 1.7 mm, filets 6/8).

Il existe aussi des sachets à maille très fine qui peuvent être mis en place directement sur les rameaux fruitiers. Les filets et les sachets doivent être installés après la formation des fruits pour garantir une bonne pollinisation. (Bastien *c et al.*, 2019).



Figure 8 : Les filets et sachets de protection (Bastien *c et al.*, 2019).

1.6.4. Chaîne du froid

Au bout de trois jours à 3 °C, une grande partie des œufs et des jeunes larves sont détruits. A une température de 1 °C, c'est la quasi-totalité qui meurt (Stefan K *et al.*, 2017 : Kaiser *et al.*, 2015). De cette manière, les marchandises infestées, mais non identifiées comme telles, conservent un aspect propre et les dommages dus à la pourriture peuvent être évités. Presque toutes les espèces de fruits à noyau et toutes les baies peuvent être réfrigérées à -0,5 °C. Pour la récolte des cerises, les cuves remplies d'eau glacée ont fait leurs preuves comme solution de refroidissement intermédiaire. Dans les centres de collecte et de distribution, les systèmes d'hydrocooling constituent une procédure sûre, mais néanmoins coûteuse.

1.6.5. Lutte chimique :

Les cultures menacées peuvent être protégées en associant une prophylaxie efficace à une lutte ciblée contre la drosophile du cerisier. Une application d'insecticides ne peut être efficace qu'associée à toutes les autres mesures. Les mouches absorbent probablement la substance en cherchant à se nourrir sur les feuilles. Ces produits ont néanmoins un problème: ils résistent mal à la pluie et ne supportent pas plus de 10 mm de précipitations. Spinetoram, le dérivé de synthèse qui n'est pas autorisé en Suisse, apporte une amélioration. Le cyantraniliprole, qui lui non plus n'est pas encore autorisé en suisse, présente une efficacité modérée sur les insectes adultes, mais une efficacité élevée sur les œufs et les larves. Il faut également citer sa résistance élevée à la pluie, ainsi que ses effets secondaires contre la tordeuse de la pelure (*Adoxophyes orana*) et la mouche de la cerise

(*Rhagoletis* spp.). Les produits phytosanitaires autorisés en Suisse pour lutter contre la drosophile du cerisier dans les cultures de fruits à noyau figurent dans la disposition générale de l'OFAG. Il est impératif de respecter les règles d'application. (Stefan K *et al.*, 2017).

2. Rappels sur les produits phytosanitaires :

2.1. Les produits phytosanitaires communément nommés "pesticides" :

Le terme «produit phytosanitaire» se réfère aussi bien aux produits sous la forme dans laquelle ils sont livrés (concentrés) qu'aux produits mélangés à la concentration d'utilisation. Les produits phytosanitaires comprennent à la fois les substances fabriquées artificiellement et celles existant à l'état naturel (p. ex. extraits de plantes comme le pyrèthre). Ils englobent également les produits utilisés dans l'agriculture biologique. (Berne, 2013)

Les produits phytosanitaires sont classés selon le type de nuisibles visés dont les principaux sont :

Fongicides, contre les champignons.

Herbicides ou désherbants, contre les mauvaises herbes.

Insecticides, pour éliminer les insectes et acariens.

Les pesticides sont des substances dont les propriétés physiques, chimiques, et biologiques permettent de détruire ou de limiter le développement et la croissance d'organismes vivants. Ce ne sont donc pas des substances anodines et leur mise en œuvre doit nécessairement être soumise à des règles strictes d'utilisation. Celle-ci est ainsi confrontée à plusieurs problématiques en relation avec les aspects technologique des traitements, la pollution de l'environnement, la sécurité de la manipulation et la sécurité alimentaire. (Raoul. C *et al.*, 2005)

2.2. Les insecticides :

Les insecticides sont des biocides destinés à détruire les insectes. On les trouve dans notre environnement domestique, les insecticides sont, de loin, la famille de produits phytosanitaires la plus souvent responsable d'effets sur la santé de par leur effets potentiellement toxiques pour le système nerveux central et/ou périphérique. Leur neurotoxicité explique à la fois leur efficacité sur les insectes et leurs effets toxiques chez l'homme. (Cécile D, 2012)

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 tue 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 H., 2015 ; Talbi *et al.*, 2016)

2.3. Les principales familles d'insecticides :

Les organochlorés sont relativement peu toxiques mais leur persistance => pollution de l'environnement, accumulation dans la chaîne alimentaire. Souvent classés Polluants Organiques Persistants (POPs).

Les organophosphorés ont une toxicité aiguë plus élevée que les organochlorés, mais dégradation plus rapide. Manque de sélectivité => rupture des équilibres biologiques. Les parasites ciblés sont détruits, comme les auxiliaires et autres insectes non ciblés.

Les carbamates sont potentiellement très toxiques, synthétisés à partir d'isocyanate issu du phosgène (gaz de combat en 1914-1918). A l'origine du drame de Bhopal en Inde.

Les Pyréthrinoïdes de synthèse sont stables /aux produits naturels. Actifs à faible dose (- de 10 g/ha, contre 850 g/ha pour le carbaryl / carbamate), sélectifs des insectes doses toxiques chez le rat sont 3000 plus fortes que chez le criquet. (Vanniere., 2012)

Pour chacune de ces grandes familles d'insecticides seront développés successivement la toxicocinétique, le mode d'action à l'échelon biochimique et les effets toxiques décrits chez l'homme dans les principaux contextes d'exposition : incidents et accidents en milieu domestique, exposition professionnelle (accidents aigus et effets à long terme). (Pontal PG, 2007, in Cécile D. 2012)

2.4. Les biopesticides

Les biopesticides (pesticides biologiques) sont des substances chimiques et des agents antiparasitaires issus de sources naturelles et pouvant être utilisés dans différents environnements de production : Bactéries, des champignons, des virus, des plantes, des animaux et des minéraux.

Peuvent offrir une solution de rechange aux produits chimiques de synthèse utilisés pour lutter contre les populations de ravageurs (maladies, les insectes, les acariens et les mauvaises herbes). (Patrice A., 2016)

Caractéristiques :

Il y a plusieurs catégories de biopesticides :

Microbien : Substances actives extraites des micro-organismes de bactéries, de champignons, de virus, de protozoaires, ... Agissent plus comme bio-agresseur.

Animal : Prédateurs, parasites ou molécules extraites d'animaux agissant contre les ravageurs. C'est aussi les signaux et molécules qui peuvent être émis des animaux (appelés « semio-chimiques ») pour créer la confusion et les repousser.

Végétale : Substances actives qui sert d'insecticide, d'asepticide, ou de régulateur. Il existe aussi des préparations et des mélanges d'extraits de certaines plantes (les purins) ayant des effets après la vaporisation de la solution sur la culture. (Jovana D *et al.*, 2013)

2.5. Les avantages et les inconvénients des biopesticides :

Les biopesticides offrent de nombreux avantages. Leur nature permet leur utilisation aussi bien en agriculture biologique qu'en agriculture conventionnelle. Il est cependant à noter que, dans certains pays, la réglementation en vigueur ne permet pas l'utilisation en agriculture biologique de tous les biopesticides commercialisés sur leur territoire. Si la substance active de ces produits ne pose pas de problème réglementaire, leurs co-formulants peuvent ne pas être compatibles avec ce type d'agriculture. Ainsi, il est recommandé aux agriculteurs biologiques de consulter les listes de produits commerciaux à base de biopesticides autorisés par leur organisme certificateur avant toute utilisation.

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

Chapitre 2 :

MATERIEL ET METHODE

MATERIEL ET METHODES

1. Présentation de *D. melanogaster*

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.9). 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. Le mâle se distingue aussi par sa plus petite taille et par la présence de « peignes sexuels ». (Fig.10) sur ses pattes avant.



Figure 09 : *D. melanogaster* adulte (Jo W *et al.*., 2000)



Figure 10 : peignes sexuels. (www.snv.jussieu.fr/bmedia/ATP/images/drospatf.)

1. 1. Systématique de *D.melanogaster* : (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 : <i>Drosophila</i>
Espèce : <i>Drosophila melanogaster</i>

1. 2. 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. 11).

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

Stade adulte : l'adulte apparait 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).

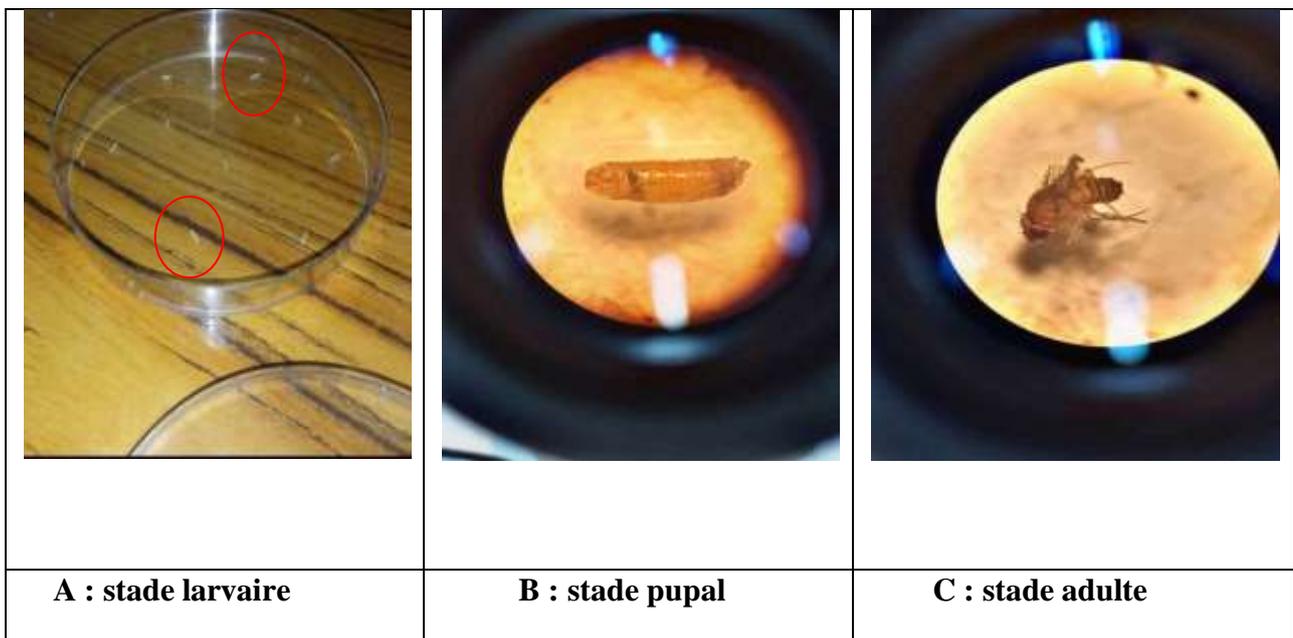


Tableau 1 : Les stades de développement de *D. melanogaster* (photo original : Laboratoire de Biosystematique et Ecologie des Arthropodes)

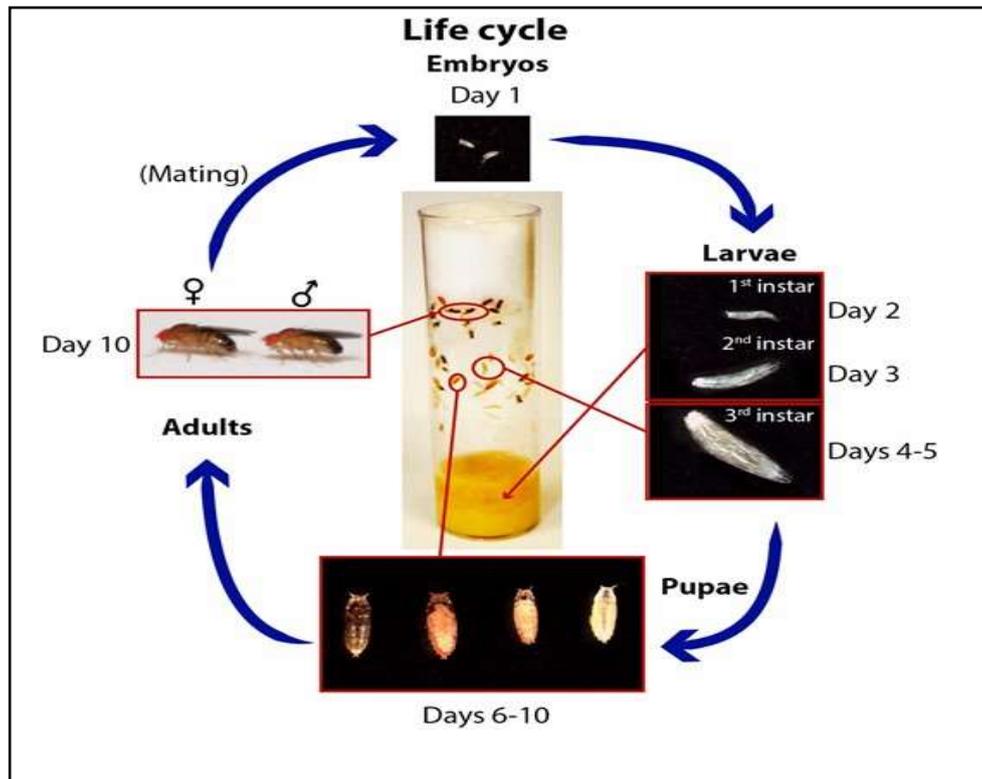


Figure 11 : Cycle biologique de *D. melanogaster* (Karen G. 2015)

1. 3. 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.12), 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 12 : 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, *Saccharopolysporaspinosa*.

Le Spinosad est composé de deux Spinosynes (Fig.13), 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 (Souza *et al.*, 2017).

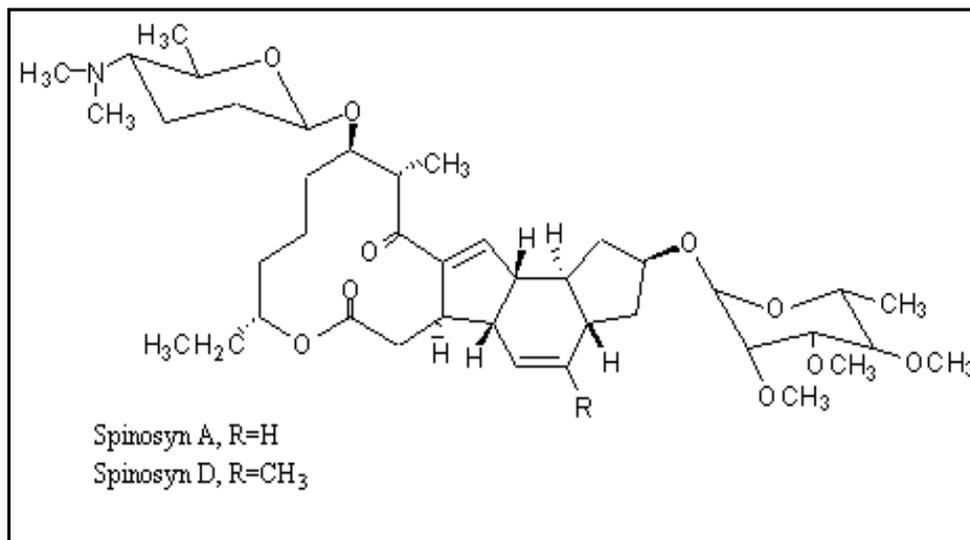


Figure 13 : Structure chimique du Spinosad (Ishaaya& Horowitz, 1998)

3. Traitement des insectes et tests de toxicité

La formulation commerciale du Spinosad a été utilisée, par application topique sur des larves du dernier stade de *D.melanogaster*. Le Spinosad a été dilué dans l'acétone et après un screening préalable, différentes doses de 30, 60, 120, 240, 2400, 6000 ng ont été testées. L'essai pour chaque dose est conduit en utilisant 3 réplifications comportant chacune 30 insectes. Une quantité de 1µl par insecte (Di Prisco *et al.*, 2013) est appliquée sur les larves des séries traitées mais les témoins reçoivent seulement le solvant. Cette série d'expérience a été menée afin de caractériser la toxicité du Spinosad à l'égard de *D.melanogaster* en déterminant les doses correspondant à une inhibition de 50 et 90% de la mue nymphale nommées ensuite DI₅₀ et DI₉₀ respectivement.

Les pourcentages d'inhibition observée pour les séries témoins et traitées, ont été obtenus à partir des mues nymphales incomplètes, des larves mortes ou bloquées dans leur exuvie. Ces valeurs sont ensuite corrigées selon Abott (1925) afin d'éliminer la mortalité naturelle et / ou l'inhibition de la mue nymphale. Les pourcentages d'inhibition corrigées, après transformation angulaire (Fisher et Yates, 1957) subissent une analyse de variance suivie du test HSD de Tukey afin d'établir l'effet du pesticide puis le classement des doses.

Enfin la régression non linéaire, exprimant le pourcentage d'inhibition corrigée en fonction du logarithme de la dose, a permis d'estimer,les doses d'inhibition DI₅₀ et DI₉₀ avec leurs intervalles de confiance (95% FL).

4. 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 Difference) pour le classement des doses.

Résultats

Evaluation de la toxicité du Spinosad chez *D.melanogaster*

L'application topique du Spinosad, à différents doses (30, 60, 120, 240, 2400, 6000 ng), chez les larves du dernier stade de *D.melanogaster*, induit une inhibition de la mue nymphale (Fig.14). Les résultats révèlent, chez les séries témoins, un pourcentage d'inhibition naturelle de l'ordre de $8,30 \pm 1,70$ qui augmente en fonction de la dose chez les séries traitées. En effet, les pourcentages de l'inhibition observée de la mue nymphale varient de $16,66 \pm 5,77$ à la dose la plus faible à $96,66 \pm 0,57$ à la dose la plus élevée.

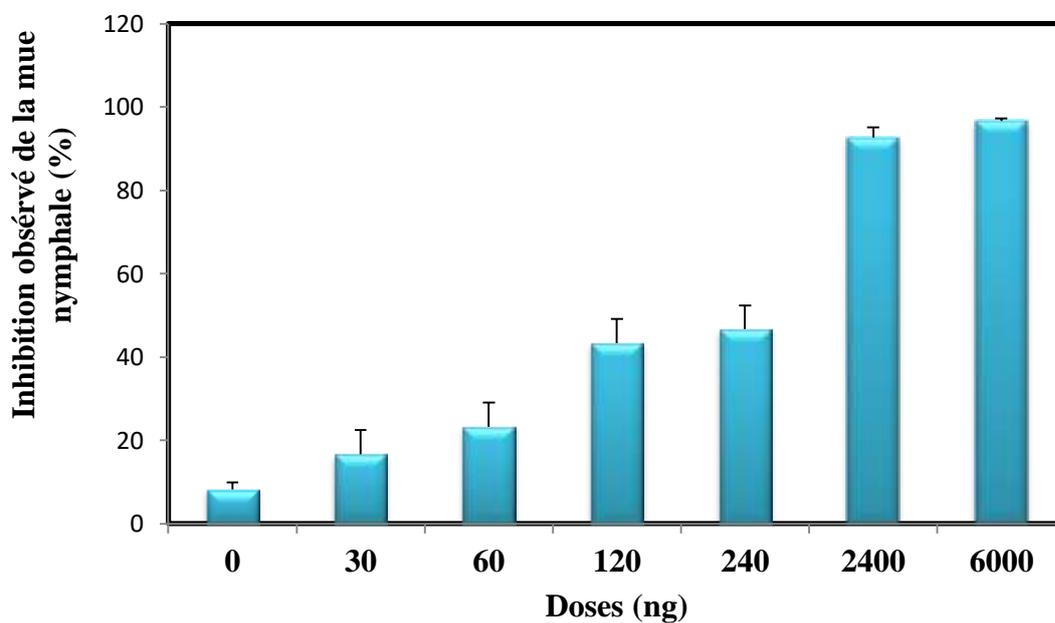


Figure 14. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de *D.melanogaster*, sur l'inhibition de la mue nymphale : Inhibition observée ($m \pm sd$; $n = 3$ répétitions de 30 individus chacune).

Les pourcentages de l'inhibition corrigée de la mue nymphale (Tab.2), permettant de soustraire l'inhibition des témoins, sont de l'ordre de $10,37 \pm 0,64$ à la dose la plus faible (30 ng) puis augmentent graduellement et atteignent une valeur de $95,05 \pm 1,41$ à la dose la plus élevée (6000 ng).

Tableau 2. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de *D.melanogaster* : sur l'inhibition de la mue nymphale : inhibition corrigée (%) ($m \pm sd$; n = 3 répétitions de 30 individus chacune).

Répétitions	30	60	120	240	2400	6000
R1	11,11	14,11	40	50	90	96,66
R2	10	22,22	33,33	33,33	88	94,50
R3	10	10	37,50	44,44	87	94
m ± sd	10,37 ± 0,64	14,44 ± 6,76	36,94 ± 3,37	42,59 ± 8,49	88,33 ± 1,53	95,05 ± 1,41

L'analyse statistique des résultats, présentée dans le **tableau 3**, révèle une relation dose réponse avec une différence hautement significative ($p < 0,001$).

Un classement des doses réalisé, grâce au test HSD de Tukey, permet de classer les doses testées en fonction de leur toxicité (**Fig.15**). Les résultats révèlent l'existence de 3 groupes présentant des effets différents du pesticide sur l'inhibition de la mue nymphale.

Tableau 3. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de *D.melanogaster*, sur le pourcentage d'inhibition de la mue nymphale : Analyse de la variance a un critère de classification (n = 3 répétitions de 30

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	9387,10	5	1877 ,40	76,15	$p < 0,001$ ***
Erreur résiduelle	295,90	12	24,70	-	-
Total	9682,90	17	-	-	-

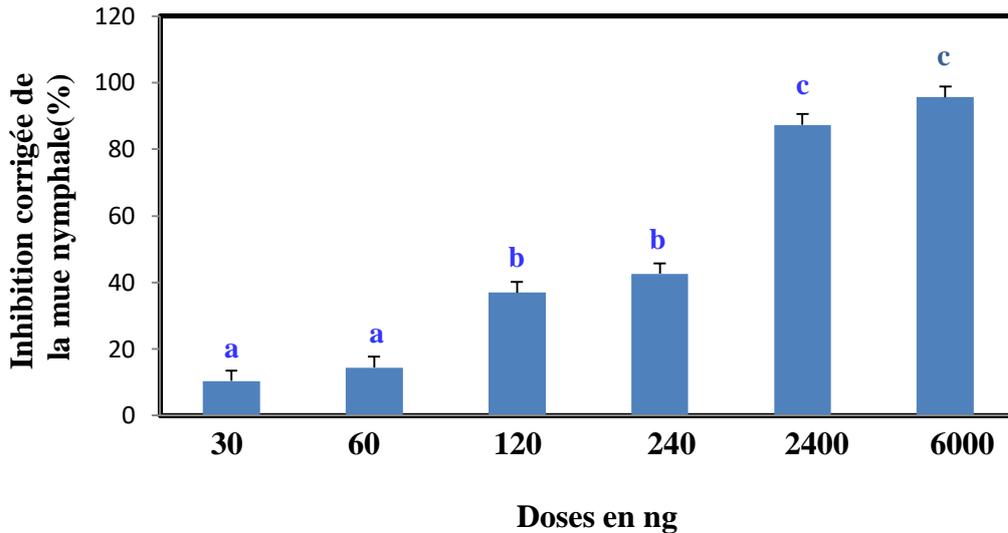


Figure 15. Effets du spinosad, administré *in vivo*, par application topique à différentes doses (ng) au dernier stade larvaire de *D. melanogaster* : Inhibition corrigée de la mue nymphale et classement des doses testées par le test HSD de Tukey. ($p < 0,001$).

La détermination des doses d’inhibition 50 et 90 a ensuite été effectuée grâce à une régression non linéaire. Cette analyse a permis, grâce à la courbe dose-réponse exprimant le pourcentage d’inhibition corrigée en fonction du logarithme de la dose du Spinosad, de préciser un coefficient de détermination élevé ($R^2 = 0,98$) révélant une liaison très forte entre le pourcentage d’inhibition corrigé et la dose. Les DI_{50} et DI_{90} déterminées avec leur intervalle de confiance sont présentés dans le **tableau 4** ; les valeurs sont de l’ordre de 288,50 et 2963 ng pour les DI_{50} et DI_{90} respectivement.

Tableau 4. Effets du Spinosad, administré *in vivo*, par application topique à différentes doses (ng) chez les larves du dernier stade de *D. melanogaster* : Détermination des doses d’inhibition de la mue nymphale (DI en ng) et leurs intervalles de confiance à 95%.

Spinosad	DI_{50}	DI_{90}	Hill Slope	R^2
	288,50 [204,30 - 407,50]	2963 [1227 - 7156]	0,94 [0,66- 1,21]	0,98

Discussion

Discussion

Le Spinosad testé par application topique à la DI50, sur le dernier stade larvaire de *Drosophila melanogaster*, entraîne une inhibition de la mue nymphale, évaluée à l'émergence par les pupes mortes et malformées mais aussi les mues bloquées et/ou incomplètes. Ces effets du Spinosad, en accord avec la littérature (Maiza *et al.*, 2013 ; Benchaabane *et al.*, 2016) sont attribués à la neurotoxicité du Spinosad et ont aussi été signalés avec d'autres pesticides d'origine biologique (Almeida *et al.*, 2014 ; Boulahbel *et al.*, 2015). La cytotoxicité du Spinosad au niveau du système nerveux (Almeida *et al.*, 2014 ; Somers *et al.*, 2015) pourrait expliquer l'inhibition de la mue *via* une action indirecte sur les systèmes neuroendocrine et endocrine. En effet, les mues et le développement sont régulés majoritairement par la 20-hydroxyecdysone (20E) et l'hormone juvénile (JH) (Gade *et al.* 2005 ; De Loof *et al.*, 2014). Par conséquent, le Spinosad pourrait affecter indirectement la mue ou tout autre processus endocrinologique de par l'interaction des systèmes endocrine, neuroendocrine et neuronale (Toivonen *et al.*, 2009 ; Rauschenbach *et al.*, 2017) intégrés dans un réseau de régulation physiologique complexe (Nässel et Broeck, 2016).

Le Spinosad, induit une inhibition de la mue nymphale chez *D. melanogaster* et la dose d'inhibition ou DI50 est de 288,50 ppm. Le Spinosad chez cette espèce non cible montre une efficacité importante dès 24 heures après traitement et ceci est en accord avec des travaux réalisés chez d'autres espèces (Arain *et al.*, 2017). La DI₅₀ déterminée (288,50 ppm) semble plus forte comparativement à d'autres espèces de Drosophilidae (*D. suzukii*) qui est de 12 ppm (dose induisant une mortalité proche de 40%) (Profazier *et al.*, 2014 ; Andrezza *et al.*, 2017, Lin *et al.*, 2021). Le Spinosad est également très efficace chez d'autres Diptères comme *Aedes albopictus* (0,3 ppm ; Bond *et al.*, 2004) et *Glossina palpalis gambiensis* (2,2 ppm ; De Deken *et al.*, 2004). *Drosophila melanogaster* semble être plus sensible au Spinosad comparativement à d'autres pesticides naturels, comme l'azadirachtine appliquée au stade pupal 1100 ppm ; (Boulahbel *et al.*, 2015) et larvaire 670 ppm ; (Bendjazia *et al.*, 2016). Cependant, une toxicité similaire est retrouvée chez les espèces de Lépidoptères comme *T. absoluta* (Benchaabane *et al.* 2016) *Helicoverpa armigera* (Wang *et al.*, 2009), *Spodoptera exigua* (Wang *et al.*, 2013) ou encore chez le Coléoptère *Rhynchophorus ferrugineus* (Abdelsalam *et al.* ,2016).

DISCUSSION

La variabilité dans les valeurs des concentrations létales peut être expliquée par une activité insecticide du Spinosad qui est différente selon les espèces et qui est liée aux variations dans les sous-unités des nAChRs (Rinkevich & Scott, 2012; Somers *et al.*, 2015). Par ailleurs, la régulation des récepteurs mais aussi les voies de signalisation intracellulaires impliquées dans la régulation des canaux ioniques peuvent aussi jouer un rôle crucial dans la différence de sensibilité des insectes aux pesticides (Lavialle-Defaix *et al.*, 2010). Il est important de noter que les différences de sensibilité aux pesticides entre les espèces d'insectes peuvent aussi être liées à d'autres mécanismes comme le taux de pénétration à travers la cuticule, leur absorption par les insectes, le transport dans les tissus de l'organisme ou encore le métabolisme (Besard *et al.*, 2011).

CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES

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.

Cependant, 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.*, 2015 ; Mahdavi *et al.*, 2015 ; de Araujo, 2017 ; de França *et al.*, 2017). La biodégradation effective mais aussi l'absence ou la faible toxicité envers les espèces non visées font de cette molécule un insecticide privilégié et recommandé. (Ramos *et al.*, 2017 ; Li *et al.*, 2017).

Ainsi, à l'avenir il serait intéressant d'évaluer les impacts du Spinosad sur d'autres paramètres physiologiques et enzymatiques.

Résumé

Résumé

Le Spinosad, pesticide naturel, a été utilisé par application topique, sur les larves de dernier stade de *Drosophila melanogaster*. Dans un premier temps, des tests de toxicité ont été effectués afin de préciser les doses d'inhibition (DI), dont la DI_{50} qui a été retenue pour évaluer les effets du Spinosad sur différents paramètres.

Le Spinosad, chez *D.melanogaster*, entraîne une inhibition de la mue nymphale avec une relation dose-réponse ; les DI déterminées grâce à une régression non linéaire, sont de 288.50 et 2963ng pour les DI_{50} et DI_{90} respectivement

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

Mots-clefs : *Drosophila*, Spinosad, Toxicité, Stress, Rémanence

Summary

Spinosad, a natural pesticide, was used by topical application on the last stage larvae of *Drosophila melanogaster*. Initially, toxicity tests were carried out in order to specify the inhibition doses (DI), including the DI50 which was used to assess the effects of Spinosad on various parameters.

Spinosad, in *D.melanogaster*, causes inhibition of pupal molting with a dose-response relationship; the IDs determined using a nonlinear regression are 288.50 and 2963ng for the ID50 and ID90 respectively

Thus, the results obtained demonstrate delayed effects of Spinosad and therefore highlight the persistence of this pesticide.

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

المخلص

تم استخدام Spinosad ، وهو مبيد طبيعي، بالتطبيق الموضوعي على يرقات المرحلة الأخيرة من ذبابة الفاكهة السوداء. في البداية، تم إجراء اختبارات السمية من أجل تحديد جرعات التثبيط (DI) ، بما في ذلك DI50 الذي تم استخدامه لتقييم تأثيرات Spinosad على معايير مختلفة.

سبينوساد، في *D.Melanogaster*، يسبب تثبيط تساقط الخادرة بعلاقة بين الجرعة والاستجابة. المعرفات التي تم تحديدها باستخدام الانحدار غير الخطي هي 288.50 و 2963 ng للمعزفين ID50 و ID90 على التوالي

وبالتالي، فإن النتائج التي تم الحصول عليها توضح التأثيرات المتأخرة للسبينوساد وبالتالي تبرز استمرار استخدام هذا المبيد.

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

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbas N., Khan H. & Shad S.A. 2015.** Cross-resistance, stability, and fitness cost of resistance to imidacloprid in *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae). *Parasitol Res.* **114** (1): 247-255.
- Abdelsalam S. A., Alzahrani A. M., Elmenshawy O. M. & Abdel-Moneim A.M. 2016.** Spinosad induces antioxidative response and ultrastructure changes in males of red palm weevil *Rhynchophorus ferrugineus* (Coleoptera: Dryophthoridae). *J. Insect Sci.* **16** (1): 106; 1-10
- Abhilash P.C. & Singh N. 2009.** Pesticide use and application: An Indian scenario. *J Hazard Mater.* **165**(1-3): 1-12.
- Adak T., Mukherjee I. 2016.** Investigating Role of Abiotic Factors on Spinosad Dissipation. *Bull. Environ. Conta. Toxicol.* **96** (1):125-129.
- Andreazza F., Bernardi D., Baronio C., Pasinato J., Nava D.E., & Botton M. 2017.** Toxicities and effects of insecticidal toxic baits to control *Drosophila suzukii* and *Zaprionus indianus* (Diptera: Drosophilidae). *Pest Manag Sci* **73**:146-152 (2017).
- Almeida G.D., Zanuncio J.C., Senthil-Nathan S., Pratissoli D., Polanczyk. R.A., Azevedo D.O. & Serrão J.E. 2014.** Cytotoxicity in the midgut and fat body of *Anticarsia gemmatali* (Lepidoptera: Geometridae) larvae exerted by neem seeds extract. *Int Sci J.* **11**: 79-86.
- Anholt, R. R. H., O'Grady, P., Wolfner, M. F., & Harbison, S. T. (2020).** Evolution of Reproductive Behavior. *Genetics*, **214**(1), 49–73. doi:10.1534/genetics.119.302263
- Arain M.S., Wan P.J., Shakeel M., Farooq M., Hu X.X., Shah S.A.H, Elzaki MEA 1 Li G.Q. 2017.** Toxicity of butene-fipronil, in comparison with seven other insecticides, in *Leptinotarsa decemlineata* and *Drosophila melanogaster*. *Phytoparasitica.* **45**(1): 103–111.
- Asplen M., G. Anfora A. Biondi D., Choi D., Chu K., Daane P., Desneux, N 2015.** Invasion biology of spotted wing *Drosophila* (*Drosophila suzukii*): a global perspective and future priorities. *J. Pest Sci.* **88**: 469-494.
- Benchaabane S., Aribi N., Kilani-Morakchi S. & Chaabane M. 2016.** Delayed toxic effects of spinosad on G1 progeny of an invasive species, *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Afr Entomol.* **24**(2):412-420.

- Bezzar-Bendjazia 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**: 85-90.
- Bhatta D., Henderson G. & Gautam B.K. 2016.** Toxicity and non repellency of Spinosad and Spinetoram on *formosan subterranean* termites (Isoptera: Rhinotermitidae). *J Econ. Entomol.***109** (3): 1341-1349.
- 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): 3251-3261.
- Berne. 2013.** Produits phytosanitaires dans l'agriculture. *Un module de l'aide à l'exécution pour la protection de l'environnement dans l'agriculture.* L'Office fédéral de l'environnement OFEV et l'Office fédéral de l'agriculture OFAG. 58 p.
- Bioactualité .2020.** Piégeage de la drosophile adulte. <<https://www.bioactualites.ch/cultures/arboriculture-bio/protection-des-plantes/ravageurs-arboricultures/drosophila-suzukii.html#c12952>> consulté le 12 avril 2022.
- Bio best group.** Larve de la drosophile sur la fraise <<https://www.biobestgroup.com/fr/biobest/ravageurs-et-maladies/drosophila-suzukii-5034>> consulté le 20 avril 2022.
- Biondi A., Desneux N., Siscaro G. & Zappalà L. 2012.** Using organic-certified rather than synthetic pesticides may not be safer for biological control agents: selectivity and side effects of 14 pesticides on the predator *Orius laevigatus*. *Chemosphere.* **87**: 803-812.
- Blacquièrre 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): 973-992.
- Bouharmont, J., Masson, P.L. & Van Hove, C. 2007.** Biologie. Révision scientifique de Charles- Marie Evrard. Edition *De Boeck université.* **386**: 1250
- Boulahbel B., Aribi N., Kilani-Morakchi S. & Soltani N. 2015.** Insecticidal activity of azadirachtin on *Drosophila melanogaster* and recovery of normal status by exogenous 20-hydroxyecdysone. *Afr Entomol.* **23**(1): 224-233
- Bruce T.J.A. 2010.** Tackling the threat to food security caused by crop pests in the new millennium. *Food Sec.* **2**: 133-141.

- Cabrera-Marín N.V., Liedo P., Sánchez D. 2016.** The effect of application rate of GF 120 (Spinosad) and Malathion on the mortality of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) foragers. *J Econ Entomol.* **109** (2):515-519.
- Casida J.E. & Durkin K.A. 2013.** Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu Rev Entomol.* **58**: 99-117.
- Cantrell, C.L., Dayan, E.F. & Duke, S.O. 2012.** Natural products as sources for new pesticides. *J Nat Prod.* **75**(6): 1231-1242.
- Cécile D. 2012.** insecticides et santé humaine : Aspects toxicologiques, épidémiologiques et juridiques. Thèse de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de LIMOGES, France. 130P
- Chyb S., Gompel N. 2018.** Atlas of drosophila morphology. *Wild-type and classical mutants.* Elsevier's Science & Technology Rights. Department in Oxford, UK. 224p
- Dimetry N.Z. 2015.** Different plant families as bioresource for pesticides. In: Singh, D.(Ed): *Advances in Plant Biopesticides.* Springer, New York, Dordrecht, London: 1-20.
- 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)**:395–401
- de Araújo T.A., Picanço M.C., Ferreira D.O., Campos J.N.D., de Arcanjo 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 vector insects In: Vonnie D.C. Shields (Ed): *Agricultural and Biological Sciences.* DOI: 10.5772/66461
- De Loof A., De Haes W., Janssen T. & Schoofs L. 2014.** The essence of insect metamorphosis and aging: Electrical rewiring of cells driven by the principles of juvenile hormone-dependent Ca²⁺ homeostasis. *Gen. Comp. Endocrinol.* **199**: 70-85.
- Di Prisco G., Cavaliere V., Annoscio .D., Varricchio P., Caprio E., F. Nazzic, Gargiulo G., & Pennacchio F. 2013.** Neonicotinoid clothianidin adversely affects insect immunity and promotes replication of a viral pathogen in honey bees. *PNAS.* **110** (46):18466-18471

- Dhadialla T.S., Retnakaran A. & Smagghe G. 2005.** Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert L.I., Iatrou K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Insect Molecular Science*, Elsevier, Oxford, UK. **6**: 55-116.
- Dhadialla T.S., Retnakaran A. & Smagghe G. 2010.** Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert L.I. & Gill S.S. (Eds). *Insect Control*. Elsevier, New York. USA. 121-166.
- Dos Santos Dias, L., Macoris, M. de L. da G., Andrighetti, M. T. M., Otrera, V. C. G., Dias, A. dos S., Bauzer, L. G. S. da R., ... Lima, J. B. P. (2017).** *Toxicity of spinosad to temephos-resistant Aedes aegypti populations in Brazil*. PLOS ONE, **12**(3), e0173689.doi:10.1371/journal.pone.0173689
- Dua V.K., Pandey A.C., Raghavendra K., Gupta A., Sharma T. & Dash A.P. 2009.** Larvicidal activity of neem oil (*Azadirachta indica*) formulation against mosquitoes. *Malaria J.* **8**: 124-129.
- El Joubari M., Faraj C., Louah A., Himmi O. 2015.** Sensibilité des moustiques *Anopheles labranchiae*, *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** : 72-79.
- Fisher R.A. & Yates F. 1957.** *Statistical tables for biological agricultural and medical research*. 5eme edition, Oliver & Boyd . London. 64-66
- Flatt, T. (2020).** Life-History Evolution and the Genetics of Fitness Components in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, **214**(1), 3–48.doi:10.1534/genetics.119.300160
10.1534/genetics.119.300160
- Fraenkel G. & Bhaskaran G. 1973 .**Pupariation and Pupation in Cyclorrhaphous Flies (Diptera): Terminology and Interpretation1.*Ann Entomol Soc Am* .**66** (2): 418-422.
- Gäde G. & Hoffmann K.H. 2005.** Neuropeptides regulating development and reproduction in insect. *Physiol Entomol.* **30**: 103-121.
- Goudey-Perrière F. & Perrière C. 1974.** Guide de travaux pratiques de Zoologie et de Biologie Animale. Paris *Centre de documentation universitaire*. Vol **2**. 100p.
- Gomes, H. de O., Cardoso, R. da S., da Costa, J. G. M., Andrade da Silva, V. P., Nobre, C. de A., Pereira Teixeira, R. N., & do Nascimento, R. F. (2021).** Statistical evaluation of analytical curves for quantification of pesticides in bananas. *Food Chemistry*, **345**, 128768 .doi:10.1016/j.foodchem.2020.12876

- Govindarajan M. & Rajeswary M. 2015.** Ovicidal and adulticidal potential of leaf and seed extract of *Albizia lebbek* (L.) Benth. (Family: Fabaceae) against *Culex quinquefasciatus*, *Aedes aegypti*, and *Anopheles stephensi* (Diptera: Culicidae). *Parasitol Res.* **114**(5): 1949-1961.
- Griffiths A.J.F., Miller J. H., Suzuki D. T., Sanlaville C., Lewontin R. C. & Gelbart W.M. 2002.** Introduction a l'analyse genetique. 3eme édition De Boeck Université.860p.
- Gupta R.C. & Milatovic D. 2014.** Insecticides. In: Gupta, R.C. (Ed). *Biomarkers in Toxicology*. Academic Press, Elsevier, Amsterdam. 389-407
- Hales, K. G., Korey, C. A., Larracuenta, A. M., & Roberts, D. M. (2015).** Genetics on the Fly: *A Primer on the Drosophila Model System*. *Genetics*, **201**(3), 815–842.doi:10.1534/genetics.115.183392
- Hellou J., Lebeuf M., & Rudi M.2013.** Review on DDT and metabolites in birds and mammals of aquatic ecosystems . *Environ. Rev.* **21**: 53-69
- Højland D.H., Kristensen M .2017.** Analysis of differentially expressed genes related to resistance in spinosad- and neonicotinoid-resistant *Musca domestica* L. (Diptera: Muscidae) Strains. *PLoS ONE* **12**(1): e0170935. doi.org/10.1371/journal.
- Huan Z., Luo J., Xu Z., Xie D. 2015.** Residues, dissipation, and risk assessment of spinosad in cowpea under open field conditions. *Environ Monit Assess.* **11**:706p
- Ishaaya I., Horowitz A.R., 1998.** Insecticides with novel mode of actions: overview. In: Ishaaya I., Degheel D. (Eds). Insecticides with novel mode of action mechanisms and application. *Springer. Berlin Heidelberg New York*, 1-24.
- Jouandet, G. C., and M. Gallio. 2015** Catching more flies with vinegar. *Elife* 4: e10535. <https://doi.org/10.7554/eLife.10535>
- Kavi L.A.K., Kaufman P.E. & Scott J.G. 2014.** Genetics and mechanisms of imidacloprid resistance in house flies. *Pest Biochem Physiol.* **109**: 64–69.
- Jovana D., François K., Philippe J. 2013.** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). **18**(2), 220-232
- Kirst H.A. 2010.** Spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. *J Antibiot.* **63**(3): 101-111.
- Krupp, J. J., C. Kent, J. C. Billeter, R. Azanchi, A. K. So et al.,2008.** Social experience modifies pheromone expression and mating behavior in male *Drosophila melanogaster*. *Curr.Biol.* **18**: 1373–1383. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2008.07.089>

- Kulkarni J., Kapse N. & Kulkarni D.K. 2009.** Plant based pesticides for control of *Helicoverpa armigera* on *cucumis sativus*. *Asian Agric Hist.* **13**(4): 327-332.
- Kuske, S., Kaiser, L., Wichura, A., & Weber, R. W. (2017).** Lutte intégrée contre la drosophile du cerisier dans les fruits à noyau. *Revue suisse de viticulture, arboriculture et horticulture*, **49**(4), 224-228.
- Lavialle-Defaix C., Moignot B., Legros C., & Lapied B. 2010.** How does calcium-dependent intracellular regulation of voltage-dependent sodium current increase the sensitivity to the oxadiazine insecticide indoxacarb metabolite decarbomethoxylated JW062 (DCJW) in insect pacemaker neurons? *J Pharmacol Exp Ther.* **333**(1): 264-72.
- 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): 2151-2158
- Legwaila M.M., Munthali D.C., Obopile M., & Kwerepe B.C. 2013.** Effectiveness of Spinosad against diamondback moth (*Plutella xylostella* L.) eggs and larvae on cabbage under Botswana conditions. *J. Insect. Sci.* **6**: 15- 21.
- 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. 411-423.
- Lin X.W. & Xu W.H. 2016.** Hexokinase is a key regulator of energy metabolism and ROS activity in insect lifespan extension. *Aging (Albany NY)*. **8**(2): 245-258.
- Liu N. & Yue X. 2000.** Insecticide resistance and cross- resistance in the house fly (Diptera: Muscidae). *J. Econ. Entomol.* **93**: 1269-1275.
- Liu X., Chen M., Collins H.L., Onstad D., Roush R., Zhang Q. & Shelton A.M. 2012.** Effect of insecticides and *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) genotype on a predator and parasitoid and implications for the evolution of insecticide resistance. *J Econ Entomol.* **105**(2): 354-62
- 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 Entomo.* **44**(6): 626-633.
- Maiza A., Aribi N., Smaghe G., Kilani-Morakchi S., Bendjedid M. & Soltani N. 2013.** Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroaches *Blattella germanica*. *Bull. Insectology.* **66**(1): 11-20.
- Markow T.A. 2006.** *Drosophila : a guide to species identification and use*. Elsevier Inc. 247p

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Matelma .** adulte de la drosophile sur l'orange < https://www.matelma.com/be-fr/articles/que_sont_ces_fameuses_mouches_des_fruits> consulté le 15 avril 2022.
- Matsuura A. & Nakamura M. 2014.** Development of neonicotinoid resistance in the cotton aphid *Aphis gossypii* (Hemiptera: Aphididae) in Japan. *Appl Entomol and Zool.* **49**(4): 535-540.
- Meigen J.W. (1830).** Systematische Beschreibung der bekannten europäischen zweiflügeligen Insekten. *Hamm.* **6**: p.401.
- 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): 34-39.
- Mckay T., Bianco T., Rhodes L. & Barnett S. 2013.** Prevalence of *Dirofilaria immitis* (Nematoda: Filarioidea) in mosquitoes from northeast Arkansas, the United States. *J. Med. Entomol.* **50** (4): 871-878.
- Mohr S.E 2018.** First in fly: *Drosophila Research and Biological Discovery*. Cambridge, Massachusetts: Harvard University Press. 251p.
- Mon viti .2017.** adulte de la drosophile sur le raisin. < www.mon-viti.com/articles/viticulture/la-drosophile-suzukii-ouvre-la-porte-aux-autres-mouches> consulté le 20 avril 2022.
- Mordue L.A.J., Morgan E.D. & Nisbet A.J. 2005.** Azadirachtin, a natural product in insect control. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, Oxford, UK. **6**: 117-135.
- Mordue L.A.J., Morgan E.D. & Nisbet A.J. 2010.** Addendum: Azadirachtin, a natural product in insect control: An update. In: Gilbert, L.I. & Gill, S.S. (Eds). *Insect Control*. Elsevier, Oxford, UK. 204-206.
- Nässel D.R., Broeck J. V. 2015.** Insulin/IGF signaling in *Drosophila* and other insects: factors that regulate production, release and post-release action of the insulin-like peptides *Cell.Mol.life .Sci.* **73** (2): 271-290
- 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**:148
- Noureen N., Hussain M., Samman F & Mobeen G. 2016.** Cotton mealy bug management: a review. *J.Entomo.Zoology Studies* .**4** (4): 657-663.

- 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): 1138-1144
- 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**: 290-293.
- 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): 1001-1007.
- 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. *SriRamachandra J.Med.* **2** (2): 33-38.
- Pan L, Shi M., Chen J., Wei Q & Gao C. 2017.** Resistance monitoring of larvae treated with Bt cotton and pesticides in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) *Oriental Insects.* doi.org/10.1080/00305316.2017.1283254
- Patrice A., 2016.** Développement et utilisation de biopesticides dans le secteur de la pomme de terre. (Document PowerPoint). Document téléaccessible à l'adresse https://www.agrireseau.net/documents/Document_95199.pdf
- Pener M.P. & Dhadialla T.S. 2012.** An overview of insect growth disruptors; applied aspects. *Adv. Insect. Physiol.* **43**:1-162.
- 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 larvivoracious fish. *J. Toxicol. Environ. Health, Part A*, **79** (12): 477-481.
- Probodelt. 2014.** larve de la drosophile sur la fraise. <<https://probodelt.com/fr/rapports/information-sur-les-plaies/drosophila-suzukii> > . consulté le 15 juin 2022.
- Profaizer D., Chiesa S., Zadra E., Tomasi C. & Angeli G. 2014.** Evaluation of chemical pesticides activity against *Drosophila suzukii* on blueberry. *Atti Giornate fitopatologica, Chianciano Terme* (Siena) **1**:275-282
- Quinn L., Lin J., Cranna N., Lee J.E.A., Mitchell N. & Hannan R. 2012.** Steroid

- hormones in *Drosophila*: How ecdysone coordinates developmental signalling with cell growth and division. In: Abduljabbar, H. (Ed). *Steroid Basic Science*. Intech, Rijeka. 141-168.
- Ramos R. S., Sedyama 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 pallescens* . *J. Appl. Entomol.* doi: 10.1111/jen.12382.
- Raoul, C. Barriuso, E. Bedos, C. Benoit P, Charnay M-C, Coquet Y. 2005.** Les pesticides dans le sol conséquences agronomiques et environnementales. Edition France agricole. 205p
- Rauschenbach I. Y. , Karpova E.K. , Burdina E.V., Adonyeva N.V., Bykov R.A., Ilinsky Y.Y., Menshano P.N , Gruntenko N.E. 2017.** Insulin-like peptide DILP6 regulates juvenile hormone and dopamine metabolism in *Drosophila* females. *General.Comp. Endocri.* **243**:1-9
- Reyes M., Rocha K., Alarcon L., Siegwart M. & Sauphanor B. 2012.** Metabolic mechanisms involved in the resistance of field populations of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) to spinosad. *Pestic Biochem Physiol.* **102** (1): 45-50.
- Reddy G.V. & Antwi F.B. 2016.** Toxicity of natural insecticides on the larvae of wheat head armyworm, *Dargida diffusa* (Lepidoptera: Noctuidae). *Environ Toxicol Pharmacol.* **42**:156-62.
- 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): 163-169.
- Salgado V.L. 1997.** The modes of action of spinosad and other insect control products. *Down to Earth.* **52** (1): 35-44.
- Sarfraz M., Dossdall L.M. & Keddie B.A. 2005.-** Spinosad: a promising tool for integrated pest management. *Outlook Pest Manag.* **16** (2): 78-84.
- Sheikh EI-S.A. 2015.** Comparative toxicity and sublethal effects of emamectin benzoate, lufenuron and spinosad on *Spodoptera littoralis* Boisid (Lepidoptera: Noctuidae). *Crop.Prot.* **67**: 228-234.
- 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**: 497–503

- Shivanandappa T. & Rajashekar Y. 2014.** Mode of Action of Plant-Derived Natural Insecticides. In: Singh, D. (Ed). *Advances in Plant Biopesticides*. Springer, New York. 223-345.
- Silva T.B.M., Silva W.M., Campos M.R., Silva J.E., Ribeiro L.M.S., Siqueira, H.A.A. 2016.** Susceptibility levels of *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) to minor classes of insecticides in Brazil. *Crop Prot.* **79**: 80-86.
- Sporleder M. & Lacey L.A. 2013.** Biopesticides. In: Giordanengo P., Vincent C., Alyokhin, A. (Eds). *Insect pests of potato: Global perspectives on biology and management*. Elsevier, Oxford, UK. 463-497.
- Soderlund DM. 1997.** Pharmacokinetic behavior of enantiomeric pyrethroid esters in cockroach. *Periplaneta americana* L. *Pest Biochem Physiol.* **12**: 38-48.
- Somers J., Nguyen J., Lumb C., Batterham P. & Perry T. 2015.** In vivo functional analysis of the *Drosophila melanogaster* nicotinic acetylcholine receptor Dα6 using the insecticide spinosad. *Insect Biochem Molecul Biol.* **64**: 116-127.
- Somers J., Luong H.N.B., Mitchell J., Batterham P. & Perry T. 2017.** Pleiotropic effects of loss of the *Dα1* subunit in *Drosophila melanogaster*: Implications for Insecticide Resist *Genet.***205**(1):263-271.
- Souza, F., Maranhão, L. T., & Cardoso, L. A. (2017).** Efficacy evaluation of spinosad bioinsecticide capsules suspension for the control of *Helicoverpa armigera*. *African Journal of Biotechnology*, **16**(18), 1092-1097.
- Staats, S., Lüersen, K., Wagner, A. E., & Rimbach, G. (2018).** *Drosophila melanogaster* as a Versatile Model Organism in Food and Nutrition Research. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **66**(15), 3737–3753. doi:10.1021/acs.jafc.7b05900
- 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): 837-844.
- Tavernier R. & Lizeaux C. 2002.** Sciences vie de la Terre Terminale S- Spec. *Maisonneuve & Larose*. Paris, France. 255 p.
- Talbi H. Doghbal M. (2016).** Les effets du spinosad (Biopesticide) sur la *Drosophila Melanogaster* (meigen ,1830) ; Thèse de Diplôme de Master Université des Frères Mentouri Constantine. 51P
- 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): p.229.

Toivonen J.M. & Partridge L. 2009. Endocrine regulation of aging and reproduction in *Drosophila*. *Mol Cell Endocrinol.* **299** (1): 39-50.

US-EPA. 2011. Pesticide industry sales and usage reports. Washington, D.C.: U.S. Environmental Protection Agency;. Available from: <http://www.epa.gov/opp00001/pestsales/>.

Vanniere H. 2012. Les pesticides principales caractéristiques ; (document PowerPoint).

Document téléaccessible à l'adresse https://agritrop.cirad.fr/569903/1/document_569903.pdf

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): 277-284.

Wang H., Lai D., Yuan M. & Xu H. 2014. Growth inhibition and differences in protein profiles in azadirachtin-treated *Drosophila melanogaster* larvae. *Electrophoresis.* **35**(8): 1122-1129.

White N.J., Pukrittayakamee S., Hien T.T., Faiz M.A., Mokuolu O.A, & Dondorp, A.M. 2014. paludisme. *Lancet.* **383**(9918): 723-735.

Wixon, J., & O'Kane, C. (2000). *Drosophila melanogaster*. *Yeast*, *1*(2), 146-153.

Zdarek J., Fraenkel G .1972.The mechanism of puparium formation in flies. *J. Exp. Zool Part A* **179** (3): 315-323

Zimmer C.T., Garrood W.T., Puinean A.M, Zimmer M. E., Williamson M. S., Davies T.G., Bass C. 2016.A CRISPR/Cas9 mediated point mutation in the alpha 6 subunit of the nicotinic acetylcholine receptor confers resistance to spinosad in *Drosophila melanogaster*. *Insect Biochem Mol Bio.* **73**: 62-69

Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : MALEK chaima
BELLAR ilhem

L'effet du spinosad (Biopesticide) sur *Drosophila Melanogaster* (meigen ,1830)

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en *Biologie et Contrôle des Populations d'Insectes*

. Résumé

Le Spinosad, pesticide naturel, a été utilisé par application topique, sur les larves de dernier stade de *Drosophila melanogaster*. Dans un premier temps, des tests de toxicité ont été effectués afin de préciser les doses d'inhibition (DI), dont la DI_{50} qui a été retenue pour évaluer les effets du Spinosad sur différents paramètres.

Le Spinosad, chez *D.melanogaster*, entraîne une inhibition de la mue nymphale avec une relation dose-réponse; les DI déterminées grâce à une régression non linéaire, sont de 288.50 et 2963ng pour les DI_{50} et DI_{90} respectivement

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

Mots-clefs : *Drosophila*, Spinosad, Toxicité, Stress, Rémanence.

Laboratoires de recherche :

Laboratoire de biosystématiques et écologie des Arthropodes (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Encadreur : Mme CHAABANE meriem (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 1 : Mme BAKIRI asma (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).

Examineur 2 : Mme FRAHTIA khalida (MCB - Université Frères Mentouri, Constantine 1).