



**MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**  
**CENTRE UNIVERSITAIRE CHIKH-LAARBI TBESSI. TEBESSA**  
**INSTITUT DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**  
**DÉPARTEMENT DE BIOLOGIE**

**MEMOIRE**

**Présenté en vue de l'obtention du diplôme de MAGISTER**  
**en PHYSIOLOGIE ANIMALE ET HUMAINE**

**Option : Environnement et santé**

**Thème**

**Activité biologique d'un mimétique de l'hormone de mue (Methoxyfenozone)**  
**contre deux espèces de moustique : *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* :**  
**aspects toxicologique, morphométrique et biochimique**

**Par : Mme. Kaouther MELLAL-HAMAIDIA**

**Devant le jury :**

**Pr. Nadia SOLTANI-MAZOUNI (Université d'Annaba),**  
**Pr. Noureddine SOLTANI (Université d'Annaba),**  
**M.C. Nassima REHIMI (Université d'Annaba),**  
**M.C. Hamid BOUDJELIDA (Université d'Annaba),**  
**C.C. Fouzia TINE (Centre universitaire de Tébessa),**

**Président**  
**Directeur de Mémoire**  
**Examinateur**  
**Examinateur**  
**Membre invité**

**Année universitaire : 2006-2007**

---

---

## Remerciements

*Avant tout, je remercie le bon Dieu qui m'a éclairé le chemin pour réaliser ce modeste travail. Je tiens à adresser mes remerciements à,*

*Madame Nadia SOLTANI-MAZOUNI, Professeur à l'université d'Annaba, pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.*

*Toute ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements vont à Monsieur Noureddine SOLTANI, Professeur au Département de Biologie à l'université d'Annaba, pour m'avoir accueillie et ouvert généreusement les portes de son laboratoire et de m'avoir dirigée tout le long de la réalisation de ce travail.*

*Comme je tiens à exprimer mes sincères remerciements à Mme Nassima REHIMI, Maître de conférences à l'université d'Annaba, et à Monsieur Hamid BOUDJELIDA, Maître de conférences à l'université d'Annaba, pour avoir accepté de jury ce travail.*

*Je tiens à remercier très particulièrement Madame Fouzia TINE-DJEBBAR, Enseignante au Centre universitaire de Tébessa, pour toutes ses remarques et suggestions et pour avoir exprimé son entière disponibilité.*

*Un grand merci à mes parents et mon mari qui m'ont soutenu, aidé et encouragé tout au long de la réalisation de ce travail.*

*Enfin, je remercie mon frère et mes deux sœurs pour l'aide qui m'ont apporté.*

---

---

---

---

## 1. INTRODUCTION :

Les moustiques représentent une préoccupation majeure en terme de développement économique et de santé publique. Pour réduire leur impact sur les activités humaines, les moustiques sont contrôlés par des traitements insecticides.

Les milieux humides dans lesquels se développent les moustiques sont des écosystèmes complexes souvent exposés à des perturbations environnementales importantes causées par l'accumulation des polluants chimiques et agricoles.

Les composés chimiques issus de l'agriculture (pesticides, herbicides et fertilisants) ou de l'activité humaine (polluants divers) ont un impact non négligeable sur l'adaptation des populations des moustiques aux traitements insecticides par l'intermédiaire des mécanismes de résistance croisée (David *et al.*, 2006).

La majorité des insecticides utilisés dans la lutte antivectorielle, pour ralentir la transmission des maladies à l'homme, sont des organophosphorés et des carbamates qui inhibent une enzyme, l'acétylcholine estérase. Or, depuis un certain nombre d'années, des résistances à ces pesticides dues à une modification de la cible apparaissent chez les moustiques. Les résultats obtenus par Berchi (2000) révèlent l'existence d'une résistance de certaines populations de moustiques *Culex pipiens pipiens* au malathion (insecticide organophosphoré).

Le développement de la résistance des moustiques contre les insecticides, et le danger d'accumulation dans l'environnement des pesticides font appel à l'utilisation des nouvelles méthodes pour les contrôler (Wang & Sehna, 2002). La lutte biologique a été réalisée avec le *Bacillus thuringiensis israelensis (Bti)*, qui est un pathogène des larves de moustique avec un pouvoir larvicide très puissant, et qui a prouvé une certaine spécificité pour les diptères (Huguet, 1978).

Des molécules non polluantes agissant de manière sélective, en perturbant des éléments vitaux dans le développement des organismes visés ont été développées. Les régulateurs de croissance d'insectes, développés au cours des vingt dernières années, sont des produits de synthèse simulant l'action de l'hormone juvénile ou de l'ecdysone, les deux hormones dont les rôles principaux sont de contrôler la croissance et le développement chez les insectes (Dhadialla *et al.*, 1998).

---

A la fin des années 60, Williams (1967) promulgua l'idée de développer des agents de contrôle imitant l'action de l'hormone juvénile afin de perturber le développement normal de l'insecte visé. Par la suite, des analogues de l'ecdysone, l'hormone de la mue, ont été développés et commercialisés. Le premier composant commercialisé est le tébufenozide (RH-5992) qui cible les lépidoptères, mais apparaît inactif contre les espèces des coléoptères, les punaises et les sauterelles (Wang & Sehnal, 2002).

Plusieurs dérivés des diacylhydrazines sont commercialisés. Ces composants sont stables et, donc, plus efficaces que les ecdystéroïdes naturels dans la plupart des expériences *in vivo*, et leur utilisation dans la protection des plantes est en phase d'étude (Wang & Sehnal, 2002). L'administration de ces composés chez des insectes immatures provoque une mue précoce, et souvent avec des conséquences létales (Boudjelida *et al.*, 2005), et le traitement des adultes réprime leur reproduction (Dhadialla, 1998 ; Taïbi *et al.*, 2003).

Les analogues de l'hormone juvénile (méthoprène, fénoxycarbe, pyriproxifène et diofenolan) ont pour principaux effets de produire chez les individus traités, un stade surnuméraire, des larves permanentes ou des intermédiaires larve-pupe. Quant aux produits simulant l'ecdysone (RH-5849, tébufenozide et méthoxyfenozide), leur principale activité réside dans leur capacité à induire une mue prématurée (Dallaire, 2003).

Contrairement aux insecticides classiques, ces produits s'avèrent plus sélectifs et sécuritaires, permettant ainsi d'épargner les organismes non visés tels les prédateurs et les parasitoïdes (Dhadialla *et al.*, 1998).

Ces molécules non polluantes, sont testées dans notre laboratoire ; leur efficacité et leur mode d'action sont étudiés sur plusieurs organismes visés et non visés, mais plus particulièrement sur les insectes à intérêt agronomique ou médical (Rouibi, 2000 ; Taïbi *et al.*, 2003 ; Boudjelida *et al.*, 2005).

Farinos *et al.* (1999) en étudiant le mécanisme de pénétration du RH-0345 dans le corps après une application topique sur les adultes de *L. decemlineata* et *Aubeonymus mariaefranciscae*, ont trouvé que cette molécule induit une diminution de la fécondité et la chute de la survie de la progéniture. Toutefois, le mécanisme d'action de ce nouveau groupe des IGRs sur la reproduction des insectes reste mal connu.

Ce travail entre dans cette thématique et vise à évaluer les différents effets d'un nouvel agoniste de l'hormone de mue, le RH-2485, sur plusieurs aspects toxicologiques (croissance et développement, analyse quantitative des protéines, lipides et glucides et reproduction), chez deux espèces de moustiques : *Culex pipiens* (vecteur du virus West-Nile et Sindbis) et

---

*Culiseta longiareolata* (l'espèce la plus abondante dans la région de Tébessa et vectrice du paludisme aviaire : *Plasmodium gallinaceum*).

---

## 2. MATERIEL ET METHODES :

### 2.1. Présentation de l'insecte :

#### 2.1.1. *Culex pipiens* :

La grande plasticité écologique de *Cx. pipiens* et des variations morphologiques et éthologiques sont à l'origine des nombreuses descriptions dont ce taxon a fait l'objet sous des noms très divers. Le taxon est actuellement considéré comme une espèce plastique, présentant deux formes : la forme *Pipiens*, ornithophile, anautogène et rurale, à diapause au stade imaginal et la forme *Molestus*, anthropophile, autogène, sténogame et urbaine, à développement continu (homodynamique).

La longévité des adultes est de l'ordre de 3 semaines à 3 mois dans les conditions de laboratoire (Bendali, 1989). Chez la femelle, les tergites abdominaux portent des stries transversales plus au moins développées, formées par des écailles blanches ou jaunâtres (Fig. 1). Le mâle se caractérise par la morphologie du pygidium : le coxite est dépourvu d'écailles sur la surface externe. Le lobe sous apical est situé distinctement après le centre du coxite et porte une seule plaque et le sommet du dixième sternite porte de nombreuses épines. Les appendices de ce même sternite sont absents ou rudimentaires (Guitsevitch *et al.*, 1974). La deuxième partie du phallosome est simple et étroite en forme de crochet non divisée et sans denticules.

#### 2.2.2. *Culiseta longiareolata* :

*Culiseta longiareolata* est multivoltine à développement continu dans les pays chauds, et peut présenter une diapause hivernale chez les imagos femelles (régions froides) et chez les larves (régions tempérées). Les adultes sont présents toute l'année avec un maximum de densité au printemps et un autre en automne. Les femelles sont sténogames et autogènes. Cette espèce à large répartition est présente dans la région paléarctique, dans les régions orientale et afro-tropicale. En Europe, elle est commune dans les pays du bassin méditerranéen.

Les œufs sont solidarisés au moment de la ponte et forment ainsi une nacelle. Les gîtes larvaires sont de types très variés (bassins, abreuvoirs, puits abandonnés, trous de rocher, mares, canaux...). Mais l'eau y est toujours stagnante et généralement riche en matières organiques. Ces gîtes sont permanentes ou temporaires, ombragés ou ensoleillés, remplis d'eau douce ou saumâtre, propre ou polluée.

Les larves descendent rarement au fond du gîte. La frange apicale de la palette nataoire de la nymphe est ornée de nombreux et longs spicules acérés. Les larves de *Culiseta longiareolata* sont caractérisées par des antennes et des soies courtes, avec un tégument lisse. Le siphon ne porte qu'une seule paire de soies sub-ventrales insérées près de la base (Fig. 2), il est de taille courte.

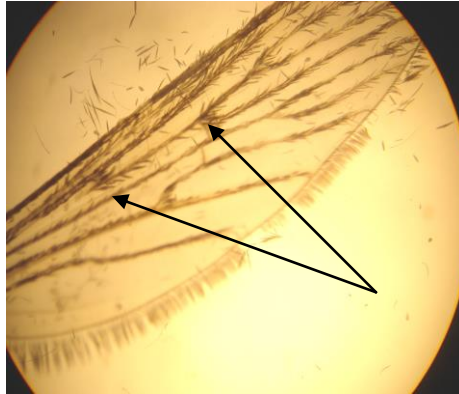
Les femelles piquent surtout les oiseaux, très rarement l'homme ; elles pénètrent occasionnellement dans les maisons. Les ailes de l'adulte sont caractérisées par la présence au moins d'une tache d'écailles sombre (Fig. 3), et la nervure costale est entièrement sombre. Concernant le thorax, le scutum est ornémenté avec trois bandes longitudinales blanches (Fig. 4).



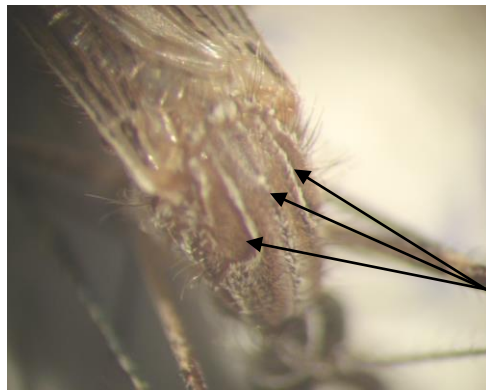
**Figure 1.** Abdomen d'une femelle de *Culex pipiens*  
(Gr : × 30)



**Figure 2.** Siphon d'une larve de *Culiseta longiareolata*  
(Gr : × 100)



**Figure 3.** Aile d'un adulte de *Culiseta longiareolata*  
(Présence des tâches d'écailles sombres)  
(Gr : × 80)



**Figure 4.** Thorax d'un adulte de *Culiseta longiareolata*  
(Trois bandes longitudinales blanches)  
(Gr : × 60)

## 2.3. Conditions d'élevage :

### 2.3.1. A l'état larvaire :

Les œufs et les larves des deux espèces ont été récoltés dans des fosses d'accumulation des eaux usées à Tébessa. Après l'éclosion, les larves ont été élevées dans des récipients contenant 150 ml d'eau, et nourries avec du mélange Biscuit-Levure (75%, 25%) selon Rehimy & Soltani (1999) ; la levure permet un apport protéique pour la vitéllogénèse. Le changement d'eau et l'ajout de la nourriture ont été effectués chaque 2 jours.



### 2.3.2. A l'état adulte :

En atteignant le stade nymphal, les pupes sont placées dans des récipients et déposées dans des cages de forme cubique (40x40x40 cm) avec une armature en bois couverte de tulle, sur le côté existe un manchon de tissu pourvu d'un élastique au bout pour permettre l'introduction de la main, où elles se transformeront en adultes. Les adultes de *Culex pipiens* et de *Culiseta longiareolata* sont nourris de dattes (Daglete-Nour). Dans les cages de *Culex pipiens*, on introduit une souris pour assurer le repas sanguin des femelles qui est indispensable à la ponte. On place des cristallisoirs contenant de l'eau pour que les femelles puissent pondre, les œufs en amas flottent à la surface de l'eau.

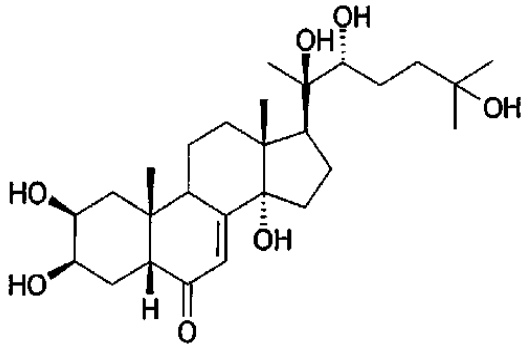
### 2.4. Présentation de l'insecticide et traitement (24%):

Le methoxyfenozone (RH-2485) est un insecticide appartenant à la famille de diacylhydrazine. Il a été introduit par la compagnie Rhom & Haas (Pennsylvanie, USA) et annoncé pour la première fois par Le *et al.* en 1996. C'est un régulateur de croissance des insectes, agoniste de l'hormone de mue, 20-hydroxyecdysone (20E). Sa nature lui permet de mimer l'action de cette hormone en se fixant sur ses sites ce qui provoque une mue précoce, sa formule chimique brute est la suivante :

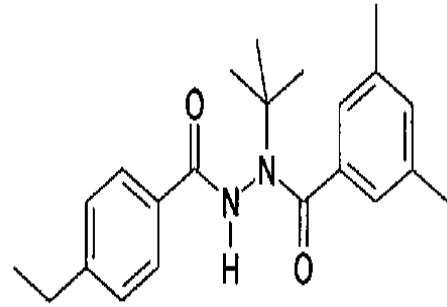
*[(3-methoxy-2-methylbenzoic acid-2-(3,5-dimethylbenzoyl)-2-(1,1-dimethyl-ethyl)hydrazide].*

Les formules de structure de la 20E et de quelques agonistes des ecdystéroïdes sont données dans la figure 5.

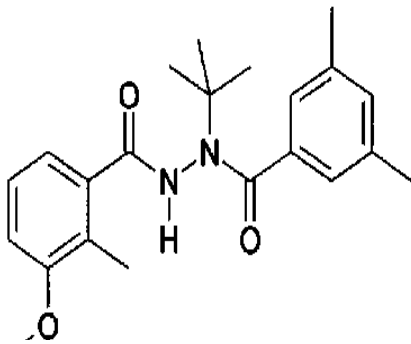
Différentes doses du RH-2485: 2, 4, 8 et 16 µg / l, ont été appliquées dans des récipients contenant 100 ml d'eau, sur des larves du quatrième stade nouvellement écloses de *Culiseta longiareolata* selon les recommandations de l'OMS (Anonyme, 1983). Après 24h de traitement, les larves sont rincées et placées dans de nouveaux récipients contenant de l'eau propre et de la nourriture jusqu'à l'émergence. Pour *Culex pipiens*, on a utilisé deux doses différentes : 6,65 µg / l et 16,58 µg / l correspondant aux DL50 et DL90 (Guehairia et Torki, 2006).



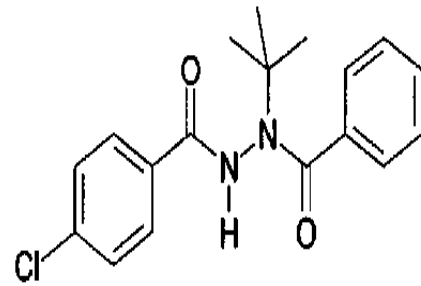
20-hydroxyecdysone



RH-5992, tebufenozide



RH-2485, methoxyfenozide



RH-0345, halofenozide

**Figure 5.** Formules de structure de la 20E et de quelques agonistes des ecdystéroïdes (Dhadialla *et al.*, 1998).

## **2.5. Etude toxicologique :**

Afin de caractériser l'effet histopathologique du RH-2485 à l'égard des larves L4 de *Culiseta longiareolata* nouvellement exuviées jusqu'au stade adulte, il est nécessaire d'estimer des doses létales (DL50, DL90). Les pourcentages de mortalité observés sont corrigés par la formule d'Abott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de connaître la toxicité réelle du pesticide par l'analyse des probits (Finney, 1971) :

$$\text{Taux de mortalité (\%)} = \frac{\text{mortalité des traités} - \text{mortalité des témoins}}{100 - \text{mortalité des témoins}} \times 100$$

**corrigée**

Après transformation angulaire des pourcentages de mortalité, les données ainsi normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification. Les mortalités corrigées obtenues permettent d'établir une courbe de probits en fonction des logarithmes décimaux des doses. Les pourcentages corrigés se convertissent en leurs probits (Fisher & Yates, 1957). Les logarithmes des doses létales (DL50, DL90) sont déterminés à partir d'une droite de régression selon le procédé mathématique de Finney (1971).

## **2.6. Types morphogénétiques :**

Pour la détermination de l'efficacité de l'insecticide sur la mortalité, des observations quotidiennes ont été faites, ce qui a permis d'une part de voir à quel moment a lieu l'exuviation et d'autre part d'apprécier les différents types morphogénétiques observés au cours du développement.

## **2.7. Détermination de la durée du développement :**

Pour déterminer l'effet du mimétique de l'hormone de mue (RH-2485) sur la durée du développement post-embryonnaire des deux espèces, nous avons effectué 4 répétitions comportant chacune 5 individus pour chaque dose.

## **2.8. Prélèvement et morphométrie des ovaires :**

Les femelles des deux espèces des séries témoins et traitées avec la DL50 sont récoltées à différents jours après l'émergence : 0, 2, 4 et 6 jours. Elles sont disséquées sous une loupe binoculaire au niveau des derniers segments abdominaux. On a pris 10 paires d'ovaires dans un 1 ml de TCA à 20 % pour le dosage des métabolites.

Différents paramètres morphométriques des ovaires prélevés ont été considérés : le nombre d'ovocytes par paire d'ovaires, la longueur (L) et largeur (l) de l'ovocyte basal ont été déterminés à l'aide d'un micromètre oculaire monté sur un microscope préalablement étalonné et le volume (V) exprimé en mm<sup>3</sup> est obtenu grâce à la formule de Lambreas *et al.* (1991) :

$$V = 4\pi / 3 (L / 2) (l / 2)^2$$

### **2.9. Morphométrie du corps entier :**

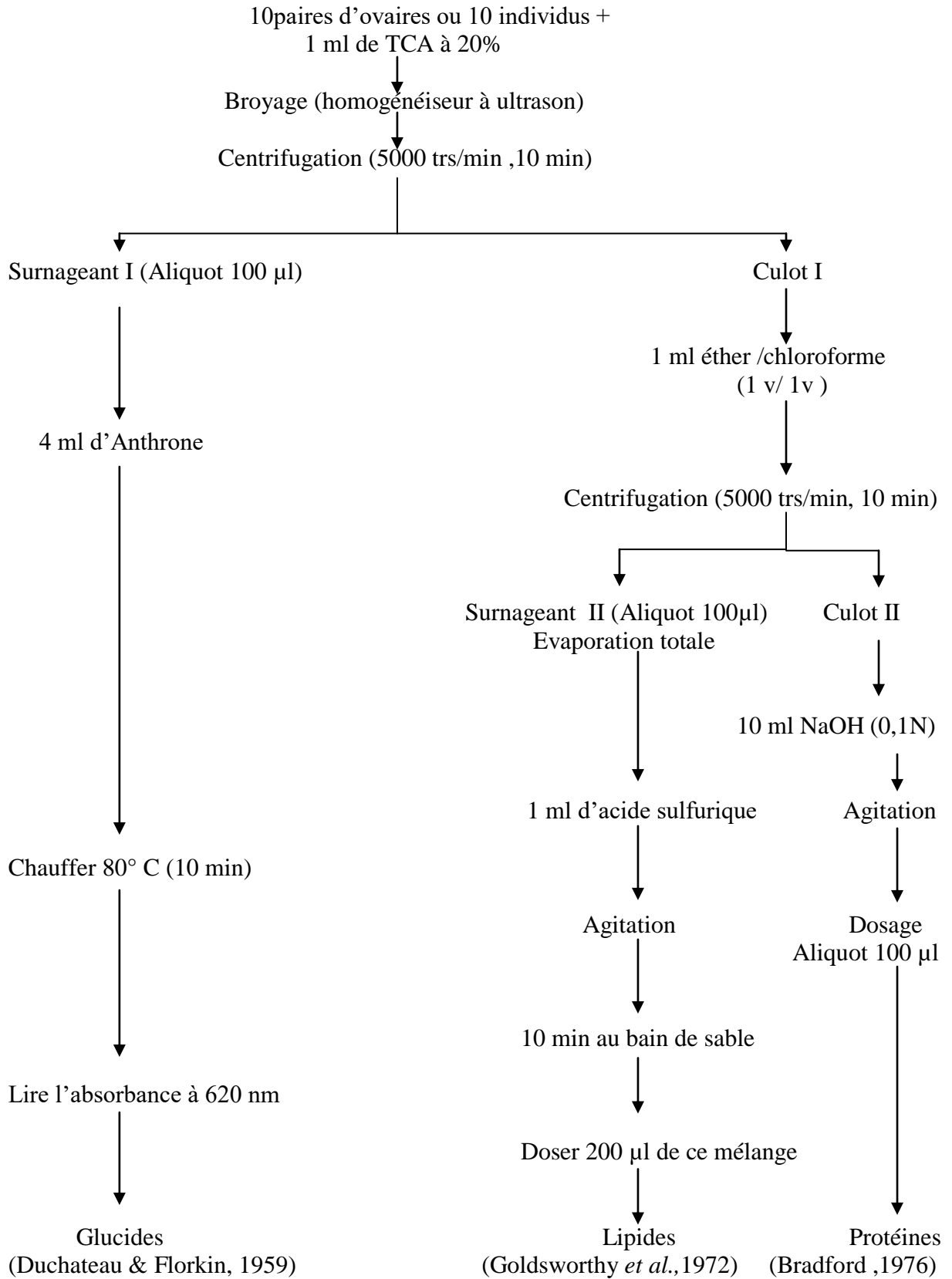
Trois paramètres morphométriques sont pris en considération : la largeur du thorax des individus immatures (larve L4 et pupa), la longueur des ailes des adultes (mâle et femelle) et le volume corporel qui est calculé à partir de la valeur cubique des deux paramètres précédents (Timmermann & Briegel, 1998).

### **2.10. Extraction et dosage des différents métabolites ovariens et corporels :**

L'extraction des différents métabolites (lipides, glucides et protéines) corporels et ovariens a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.* (1966) et les différentes étapes sont résumées dans la figure 6.

#### **. Dosage des protéines totales :**

Le dosage des protéines a été effectué selon la méthode de Bradford (1976). On ajoute à une fraction aliquote de 100 µl, 4 ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC). La solution de BBC se prépare comme suit : On homogénéise 100 mg de BBC dans 50 ml d'éthanol 95°, on ajoute ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 1000 ml avec de l'eau distillée. La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4°C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorant en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm, la gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) titrant 1 mg / ml.



**Figure 6.** Extraction des glucides, protéines et lipides totaux selon Shibko *et al.* (1966).

**Tableau 1:** Dosage des protéines totales dans le corps entier et dans les ovaires : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Volume d'albumine ( $\mu$ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu$ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine ( $\mu$ g)	0	20	40	60	80	100

#### . Dosage des glucides totaux :

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon Duchateau & Florkin (1959). Elle consiste à ajouter 4 ml du réactif d'anthrone à 100  $\mu$ l du surnageant I, et chauffer le mélange à 80°C pendant 10 min, une coloration verte se développe dont son intensité est proportionnelle à la quantité des glucides présente dans l'échantillon. La lecture de l'absorbance est effectuée à une longueur d'onde de 620 nm. Le réactif d'anthrone se prépare comme suit : Ajouter 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée à 150 mg d'anthrone respectivement, pour obtenir une solution limpide de couleur verte qui sera stockée à l'obscurité. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg / ml).

**Tableau 2:** Dosage des glucides totaux dans le corps entier et dans les ovaires: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucose ( $\mu$ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu$ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité de glucose ( $\mu$ g)	0	20	40	60	80	100

#### . Dosage des lipides totaux :

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972) en utilisant le réactif sulfophosphanillinique. Le dosage se fait sur des prises aliquotes de 100  $\mu$ l des extraits lipidiques ou de gammes étalons, après évaporation totale on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, les tubes fermés sont agités et placés pendant 10 minutes dans un bain de sable à 100°C. Après refroidissement, on prend 200  $\mu$ l de ce mélange auquel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphanillinique et laisser 30 minutes à l'obscurité. La densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les

lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. Le réactif est préparé comme suit : Dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée et ajouter 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4°C et à l'obscurité.

La solution mère de lipide se prépare comme suit : Peser 2,5 mg d'huile de table (Tournesol, 99% triglycérides) dans un tube eppendorf, ajouter 1ml d'éther / chloroforme (1V/1V).

**Tableau 3:** Dosage des lipides totaux dans le corps entier et dans les ovaires: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de l'huile de table (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant éther / chloroforme (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif (ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5
Quantité de lipides (µg)	0	50	100	150	200	250

### 2.11. Analyse statistique :

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (version 13,31, USA). Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne  $\pm$  l'écart-type. Les quantités des métabolites (protéine, glucide et lipide) sont déterminées à partir des courbes d'étalonnage dont l'équation de la droite de régression exprime l'absorbance en fonction de la quantité du standard utilisé (albumine, glucose et l'huile de tournesol). Le test (t) de Student et l'analyse de la variance à un et deux critères de classification, ont été utilisés.

## 4. DISCUSSION :

### 4.1. Toxicologie du methoxyfenozone (RH-2485) :

Le methoxyfenozone a montré une grande efficacité insecticide contre un grand nombre de chenilles nuisibles, incluant les familles : Pyralidae, Tortricidae et Noctuidae. Il possède une grande marge de sécurité pour les organismes non-cibles (Carlson *et al.*, 2001).

Dans notre étude, le RH-2485, appliqué avec deux doses DL50 (6,45 µg / l) et DL90 (18,19 µg / l) pendant 24h sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, montre une activité insecticide, avec une relation dose - réponse. De plus le methoxyfenozone provoque des mues précoces létales (larvaire et nymphale), et la mortalité observée chez les larves est relativement importante par rapport à la mortalité dans les autres stades qui suivent (pupe et adulte). Nos résultats sont similaires à ceux trouvés par l'application de l'alsystine sur *Culex pipiens pipiens* (Rehimi & Soltani, 1999). Les analogues de l'hormone juvénile sont létaux aussi pour les larves des moustiques (Spielman & Williams, 1966). Les travaux de Guehairia & Torki (2006) ont permis de déterminer la DL50 et la DL90 du methoxyfenozone à l'égard de *Culex pipiens* avec les valeurs de 6,65 µg / l et 16,58 µg / l respectivement.

Cependant, la DL50 du methoxyfenozone, utilisée dans notre étude est inférieure à celle utilisée pour l'halofenozone (12,58 µg / l) contre les larves 4 de *Culex pipiens* (Boudjelida *et al.*, 2005), ce qui montre que le RH-2485 est plus toxique et plus efficace que le RH-0345. Dans d'autres études, les deux agonistes RH-2485 et RH-0345 ont prouvé d'avoir la même toxicité pour des concentrations de : 25,50 et 100 mg / l respectivement, contre le dernier stade larvaire de *Harmonia axyridis* (Coleoptera : coccinellidae) (Carton *et al.*, 2003). Ainsi, Beckage *et al.* (2004) ; ont classé les trois agonistes de l'hormone de mue appliqués avec différentes concentrations sur trois espèces de moustiques : *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* et *Anopheles gambiae* selon leurs efficacité en : RH-2485 > RH-5992 > RH-5849. Dans l'étude de la toxicité et de l'activité résiduelle du methoxyfenozone et tebufenozone, les résultats obtenus montrent que les œufs de *Cydia pomonella* sont plus sensibles aux deux produits testés que ceux de *Molesta grapholita* (Lépidoptera : Tortricidae) (Borchet *et al.*, 2004), et que le RH-2485 avec une DL50 de 0,049 mg / kg était quatre fois plus efficace que le RH-5992 avec une DL50 de 0,185 mg / kg chez *Diatraea grandiosella* (Trisyono & Chippendale, 1997).



L'affinité du RH-2485 aux récepteurs est très grande par rapport à celle du RH-5992 chez *Plodia interpunctella* (Pyralidae) (Carlson *et al.*, 2001). Ingéré par les larves du sixième stade avec une concentration de 0,001 ppm, le methoxyfenozone a induit une mue précoce et létale chez *Spodoptera littoralis*, ainsi que la mort pendant la métamorphose et l'altération de la fertilité chez les adultes (Adel *et al.*, 2000).

Par ailleurs, les larves de *S. littoralis* cessent de s'alimenter en moins de 3-12 heures après ingestion du RH-2485 et subissent une mue létale (Donald *et al.*, 2000). De plus, il affecte la capacité d'un mâle de répondre à une femelle attractive (période nuptiale), chez *Cydia pomonella* (Lepidoptera : Tortricidae) (Hoelscher *et al.*, 2003).

Les deux agonistes : RH-2485 et RH-0345 utilisés contre le dernier stade larvaire de *Harmonia axyridis* (Coleoptera : Coccinellidae), provoquent une chute de poids des larves, des mues larvaires prématurées et des nymphoses incomplètes des larves affectées (Carton *et al.*, 2003). L'examen morphologique des individus traités montre quelques aberrations morphologiques de différents ordres : des mues partielles limitées à la partie antérieure chez les deux espèces, ainsi quelques malformations signalées chez *C. longiareolata* (pupe avec une seule palette natatoire et des adultes avec des ailes malformées). Le RH-0345 provoque aussi chez *T. molitor* l'apparition des anomalies de différents types (Lakbar, 2000), tout comme le RH-5849 appliqué aux nymphes d'*Ostrinia fasciatus* qui entraîne des mues partielles nympho-adultes (Darvas *et al.*, 1992).

#### **4.2. Effet sur la croissance et le développement :**

Le RH-2485 appliqué avec deux doses (DL50 et DL90) affecte la durée des stades post-embryonnaires (larve 4 et pupa) aussi bien chez *Cx. pipiens* que chez *C. longiareolata*, en la diminuant significativement ( $p < 0,05$ ) avec une relation dose - réponse. Cependant, la même molécule accélère la ponte des œufs chez *Schistocera gregaria* (Orthoptera : Acrididae) sans affecter la fécondité et la durée de vie, et le taux des ecdystéroïdes était à peu près le double dans les œufs pondus (Wang *et al.*, 2003). Par contre, l'application de l'alsystine (Rehimi & Soltani, 1999) et l'andalin (Soltani & Rehimi, 2001) n'affecte pas significativement la durée du stade nymphal de *Culex pipiens*.

Dans notre étude, une diminution du poids des larves L4 de *Culex pipiens* traitées avec les deux doses (DL50 et DL90) a été signalée par rapport aux témoins. Alors que chez les adultes mâle et femelle, le poids augmente après traitement. Par contre, chez *Culiseta longiareolata*, l'évolution pondérale des individus traités révèle une diminution par rapport

aux témoins, et cela au cours des différents stades étudiés, excepté le stade nymphal où le poids augmente avec l'application de la dose la plus forte. Contrairement au RH-0345 qui n'entraîne aucune modification de la croissance pondérale chez *T. molitor* (Lakbar, 2000), tout comme le RH-5849 et le RH-5992 chez *S. exigua* (Smaghe & Degheele, 1999c), *Podissus nigrispinus* et *P. maculiventrus* (Smaghe & Degheele, 1995), ou encore le KK-42 chez *T. molitor* (Amrani *et al.*, 2004).

Le volume corporel a été évalué à partir de la valeur cubique de la largeur du thorax des stades immatures, et la longueur des ailes des adultes mâle et femelle. Ces trois paramètres morphométriques ont le même axe de changement dû au traitement par le methoxyfenozone. En effet, la croissance linéaire des individus traités marque des variations significatives par rapport aux témoins au cours des différents stades étudiés et pour les deux espèces testées. Des résultats similaires ont été mentionnés chez *C. longiareolata* après l'application d'un analogue de l'hormone de mue, RH-0345, pour les mêmes stades (Diaf & Senouci, 2005).

Nijhout (1975) a décrit pour la première fois ces paramètres morphométriques et leurs seuils critiques pour contrôler la libération de la PTTH, l'hormone prothoracicotrope, et pour inactiver les corpora allata. Colless & Chellapah (1960) ont démontré la relation entre la fécondité et le volume du repas sanguin en fonction du volume corporel de *Aedes aegypti*. Ils ont conclu que le volume corporel détermine d'une part, l'oogénèse et d'autre part, le nombre d'œufs produits. Les travaux de Landry *et al.* (1988) ont montré une variation saisonnière significative du volume corporel chez *A. triseriatus*, et une corrélation positive entre le volume corporel et les réserves nutritives a été signalée par Van Handel & Day (1988). Par ailleurs, la malnutrition entraîne chez *A. taeniorhyncus*, une prolongation de la durée du stade larvaire, une réduction de la longueur des ailes et des réserves ainsi que l'autogénéité de cette espèce (Lea, 1964).

Le DFB, inhibiteur de la synthèse de la chitine, affecte aussi les paramètres morphométriques chez les femelles de *Phyllonorycter blancardella* (Marssal *et al.*, 1988), *Cydia pomonella* (Soltani & Soltani-Mazouni, 1992), *oxya japonica* (Lim & Lee, 1982), *T. molitor* (Soltani-Mazouni, 1994 ; Soltani-Mazouni & Soltani, 1995), et inhibe le deuxième pic d'ecdystéroïdes d'origine ovariennes (Soltani *et al.*, 1989). Des résultats similaires ont été obtenus par le FCX, autre inhibiteur de la synthèse de la chitine, testé *in vitro* sur des femelles de *T. molitor* (Taïbi *et al.*, 2003).

### 4.3. Effet sur la composition biochimique des moustiques :

Le dosage des principaux métabolites réalisé dans le corps entier des individus témoins et traités chez les deux espèces, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*, révèle une modification de la composition biochimique en fonction du traitement. De plus, la diminution du poids est parallèle avec celle du contenu en protéines, en glucides et en lipides totaux au cours des stades testés. Ces résultats concordent avec ceux obtenus par Amrani (1998) après l'application du KK-42 sur l'hémolymphe des adultes de *T. molitor*, et par Smagghe & Degheele (1992) sur les larves de *Spodoptera littoralis*. De plus, les faibles concentrations des acides gras de réserve sont associés à l'application du methoprene chez les pupes des moustiques (Downer *et al.*, 1976, Gordon & Burford, 1984).

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces vivantes connues (Mahler *et al.*, 1968). Elles proviendraient, d'une part de la digestion des couches procuticulaires profondes de l'ancienne cuticule et d'autre part, d'une origine exogène, alimentaire par exemple (Munoz & Sevilla, 1982).

Chez les insectes, l'hémolymphe subit des modifications métaboliques diverses, au cours du développement. Selon Marty & Zalta (1967), il est possible d'établir une liaison entre les protéines circulantes et l'expression génique des animaux pour chaque stade de leur développement. Durant les différents stades évolutifs (stade larvaire, nymphal et imaginal), des modifications métaboliques intenses liées au système hormonal et neurosecrétoire sont observées (Buck, 1953 ; Lamy, 1964, Marty, 1968 ; Lamy, 1969), et pendant le cycle de mue, la vitellogénèse et l'embryogenèse (Galois, 1987). De plus, les conditions écologiques du milieu externe peuvent agir sur la composition protéinique de l'hémolymphe des insectes. La 20E maintient l'expression des gènes de la vitellogénine (protéine constituant 80-90% des substances de réserves de l'œuf) dans le corps gras (Martin *et al.*, 2001), qui sera acheminée et incorporée aux oocytes (Koller & Raikhel, 1991). Par ailleurs, la 20 E induit la différenciation folliculaire des ovaires (Beckemeyer & Lea, 1980).

Le RH-0345 appliqué aux femelles adultes de *B. germanica* nouvellement exuviées réduit les taux des protéines hémolympatiques avec un effet dose - réponse (Rouibi, 2002), ainsi que chez *T. molitor* (Soltani *et al.*, 2002). Une baisse en protéinémie est observée chez *L. decemlineata* après application de la 20E, du RH-5849 et du RH-5992 (Smagghe *et al.*, 1999) ou encore chez *S. littoralis* après traitement avec le RH-5849 (Smagghe & Degheele, 1992b). Cependant le RH-5992 entraîne une augmentation du taux des protéines hémolympatiques chez les larves de *Leptinotarsa decemlineata* (Smagghe *et al.*, 1999). Chez

*T. molitor*, l'application du KK-42 *in vivo* réduit les concentrations des protéines (Soltani-Mazouni *et al.*, 2001), par contre le pyriproxifène augmente leur concentrations (Aribi & Lakbar, 2001).

Les glucides en tant qu'élément énergétique jouent un rôle essentiel dans la physiologie des insectes (vol, mue et reproduction) (Wiens & Gilbert, 1967). Le tréhalose est la fraction la plus importante des glucides circulants des insectes (Clegg & Evans, 1961 ; Wiens & Gilbert, 1967). Il joue un rôle métabolique de premier plan dans le cycle de développement (Steel, 1981). L'évolution normale des taux hémolympatiques des glucides totaux au cours de la métamorphose présente deux pics : le premier à la veille de l'apolyse, le second juste avant l'exuviation adulte (Soltani, 1990). D'autre part, l'étude biochimique d'un coléoptère, *L. decemlineata*, montre que la concentration des glucides est plus élevée pendant la période de diapause par rapport à la période d'activité (Salem, 1984 ; Grison & Leberre, 1953). Par ailleurs, le métabolisme protéique et glucidique sont considérablement perturbés par l'action de divers agents (Le Bras *et al.*, 1973 ; Echaubard & Le Bras, 1975 ; Le Bras & Echaubard, 1977). D'autres régulateurs de croissance, comme le DFB, appliqué aux nymphes (Soltani, 1990), ou aux femelles adultes de *T. molitor* (Soltani-Mazouni & Soltani, 1992) ou encore chez un crustacé *P. kerathurus* (Morsli, 1994), affecte les concentrations des glucides hémolympatiques.

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenakers *et al.*, 1985). Transportés aux corps gras, site de leurs synthèse et stockage (Keely, 1985 ; Van Hensdan & Law, 1989) vers les organes utilisateurs, notamment les ovaires (Kilby, 1963 ; Chino *et al.*, 1981) via l'hémolymphe pour être utilisés lors de la vitélogénèse (Downer, 1985 ; Keely, 1985). Chez *Tribolium confusum* (Beaudoin & Lemonde, 1970), le maximum d'acides gras est observé au stade larvaire (activité locomotrice) et au stade adulte (activité locomotrice et maturité sexuelle), durant lesquels le métabolisme est le plus intense. Cependant, chez *Bombyx mori*, le contenu lipidique augmente durant la métamorphose (Kumar *et al.*, 1999). Le RH-0345 augmente les teneurs en lipides ovariens chez *Culex pipiens* (Defaflia & Hamidane, 2006). Par contre, il provoque une réduction des concentrations des lipides hémolympatiques au cours de la maturité sexuelle avec un effet dose / réponse, chez les femelles adultes de *B. germanica* (Rouibi, 2002).

#### 4.4. Effet sur la morphométrie et la composition biochimique des ovaires :

Chez les insectes, la vitellogénèse correspond à l'accumulation des matériaux plastiques et énergétiques. Selon Laverdure (1972) et Goltzene (1979), les protéines du vitellus se forment à partir des protéines exogènes provenant du corps gras ou de protéines endogènes synthétisées par l'ovocyte lui-même, les plaquettes vitellines sont constituées de glycoprotéines ou de mucoprotéines, et d'autres réserves se trouvent sous forme de glycogène. Les lipides représentent aussi une partie importante de ces réserves, une faible partie est synthétisée par l'ovocyte et les cellules folliculaires, et autre partie provient de l'hémolymphe sous forme de lipoprotéines (Raccaud-Schoeller, 1980). La maturation des ovocytes dépend donc des métabolites prélevés de l'hémolymphe, mais essentiellement des protéines, composé majeur du vitellus (Telfer *et al.*, 1981).

Nos résultats montrent que le traitement par le RH-2485 révèle une réduction, non seulement du nombre d'ovocytes, mais aussi de divers paramètres biométriques comme ; la largeur, la longueur et le volume de l'ovocyte basal chez les deux espèces de moustiques étudiées, *Cx. pipiens* et *C. longiareolata*. Ce qui concorde avec les résultats obtenus après traitement, par application topique, des femelles de *Blattella germanica*, le jour de l'exuviation, avec le RH-0345 (Rouibi, 2000). Des résultats similaires ont été obtenus, en appliquant le RH-0345 sur *Culex pipiens* (Defaflia & Hamidane, 2006). De la même manière le RH-5849 perturbe le développement des ovaires chez divers lépidoptères (Aller & Ramsay, 1988 ; Salem *et al.*, 1997), coléoptères (Wing & Ramsay, 1989) ou encore chez les diptères (Smaghe & Deggheele, 1992a ; Smaghe & Deggheele, 1994b). Un autre agoniste des ecdystéroïdes, le RH-5992, inhibe également le développement ovarien de *Spodoptera exigua* et *L. decemlineata* (Smaghe & Deggheele, 1994a) mais ne présente, par contre, aucun effet chez les femelles de *Bombyx mori* (Kumar *et al.*, 1999) ou *Chrysoperla carnea* (Medina *et al.*, 2001). Le nombre total des œufs pondus par les femelles témoins et traitées par le RH-2485 est similaire, ainsi que leurs poids et leurs dimensions (Wang & Sehnal, 2002).

Cependant, le methoxyfenozone affecte durement la reproduction de *L. botrana* en produisant un grand pourcentage de stérilité et une réduction de la fécondité (Saenz-de-Cabeson *et al.*, 2005), par contre, il provoque une augmentation significative de la fécondité chez *Spodoptera littoralis* (Ishaaya *et al.*, 1995).

Le RH-2485 et le RH-5992 affectent la fécondité et la fertilité chez *Argyrotaenia velutinana* (Walker) et *Choristoneura rosaceana* (Harris) (Sun *et al.*, 2000). L'application du

fenoxycarb sur des larves du cinquième stade de *Blattella germanica* n'a pas seulement induit des déformations morphologiques, mais aussi la stérilité des adultes qui semble être transférer des mâles traités vers des femelles non traitées, suggérant ainsi des effets sur le sperme (King *et al.*, 1990). D'autres expériences ont montré l'effet du RH-2485 sur *Lobesia botrana* (Lepidoptera : Tortricidae) (Saenz-de-Cabeson *et al.*, 2005), où il a réduit la fécondité et la fertilité des adultes et le nombre d'œufs pondus et éclos.

Une réduction du taux des métabolites ovariens chez *T. molitor* a lieu après traitement avec le diflubenzuron (Soltani-Mazouni & Soltani, 1992), il augmente également la résorption des ovocytes chez *Oxya japonica*, et diminue le poids sec ainsi que le contenu ovariens en métabolites (Lim & Lee, 1981). Ce qui confirme nos résultats concernant la composition biochimique des ovaires qui révèlent une diminution significative dans les contenus en métabolites (protéines, glucides et lipides) à différents âges dans les séries traitées par rapport aux témoins, chez les deux espèces testées, à l'exception du jour de l'émergence où les contenus sont égaux dans les deux séries. Des résultats similaires sont obtenus à la suite d'un jeûne. En effet, le jeûne inhibe le dépôt du vitellus chez *Shcistocerca gregaria* (Highnam & Mordue, 1966). Cependant, le RH-0345 augmente le contenu des glucides ovariens chez *Culex pipiens* (Defaflia & Hamidane, 2006), et l'affecte chez *B. germanica* avec un effet dose - réponse (Rouibi, 2000). Cette perturbation de la morphométrie et la biochimie des ovaires, dans les différents ordres d'insectes traités par différents groupes de régulateurs de croissance, notamment, les agonistes et les antagonistes de la 20E et de l'HJ, provient du fait que l'activité ovarienne est contrôlée conjointement par ces deux principales hormones (Raikhel & Dhadialla, 1992) ; en effet, les ecdystéroïdes permettent la réinitiation méiotique des ovocytes (Lanot *et al.*, 1987) et l'ovulation (Ruegg *et al.*, 1992), alors que l'HJ contrôle principalement la vitéllogénèse mais également la transcription des gènes nécessaires à ce processus (Hoffman & Sorge, 1996 ; Hoffman *et al.*, 1999).

### 3. RESULTATS :

#### 3.1. Toxicologie du methoxyfenozone :

Le RH-2485 est utilisé aux doses 2, 4, 8 et 16  $\mu\text{g} / \text{l}$  sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées. La mortalité observée est mentionnée dans le tableau 4 avec des taux variant de 13,33 % (2  $\mu\text{g} / \text{l}$ ) à plus de 80 % (16  $\mu\text{g} / \text{l}$ ) avec une relation dose - réponse. Après une transformation angulaire des mortalités observées (Tableau 5), l'analyse statistique des données (Tableau 6) révèle un effet dose hautement significatif ( $p < 0,001$ ).

**Tableau 4:** Effet du RH-2485 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, sur le taux observé de mortalité ( $m \pm s$  ;  $n = 3$  répétitions comportant chacune 25 individus).

Doses Répétitions	Témoins	2 $\mu\text{g}$	4 $\mu\text{g}$	8 $\mu\text{g}$	16 $\mu\text{g}$
1	4	12	24	68	88
2	8	12	40	64	88
3	4	16	40	40	92
$m \pm s$	$5,33 \pm 1,89$	$13,33 \pm 1,89$	$34,67 \pm 7,54$	$57,33 \pm 12,36$	$89,33 \pm 1,89$

**Tableau 5:** Effet du RH-2485 ( $\mu\text{g}/\text{l}$ ) appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Transformation angulaire du taux observé de mortalité ( $m \pm s$  ;  $n = 3$  répétitions comportant chacune 25 individus).

Doses Répétitions	Témoins	2 $\mu\text{g}$	4 $\mu\text{g}$	8 $\mu\text{g}$	16 $\mu\text{g}$
1	11,54	20,27	29,33	55,55	69,73
2	16,43	20,27	39,23	53,13	69,73
3	11,54	23,58	39,23	39,23	73,57
$m \pm s$	$13,17 \pm 2,31$	$21,37 \pm 1,56$	$35,93 \pm 4,67$	$49,30 \pm 7,19$	$71,01 \pm 1,81$

**Tableau 6:** Effet du RH-2485 ( $\mu\text{g/l}$ ) appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Analyse de la variance des données transformées.

Sources de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	4	6343,7	1585,9	62,55	0,000***
Résiduelle	10	253,6	25,4		
Totale	14	6597,2			

Le taux de mortalité observée puis corrigée pour contribuer la seule mortalité à l'insecticide. Le tableau 7 montre que cette mortalité corrigée varie de 8,39% à faible dose (2  $\mu\text{g} / \text{l}$ ) à 88,70 % avec la dose la plus élevée (16  $\mu\text{g} / \text{l}$ ).

**Tableau 7:** Effet du RH-2485 ( $\mu\text{g/l}$ ) appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, sur le taux corrigé de mortalité ( $m \pm s$ ;  $n = 3$  répétitions comportant chacune 25 individus).

Répétitions \ Doses	2 $\mu\text{g}$	4 $\mu\text{g}$	8 $\mu\text{g}$	16 $\mu\text{g}$
	1	8,33	20,83	66,66
2	4,34	34,78	60,86	86,95
3	12,5	36,45	36,45	91,66
$m \pm s$	8,39 $\pm$ 4,08	30,68 $\pm$ 8,57	54,66 $\pm$ 16,03	88,70 $\pm$ 2,57

L'équation de la droite de régression (Fig. 7) du probit du pourcentage de mortalité corrigée est en fonction du logarithme décimal des doses du RH-2485 (Tableau 8). Le coefficient de détermination ( $R^2 = 0,98$ ) révèle une liaison positive très forte entre les probits et le logarithme des doses testées.

Les doses DL50 et DL90, déterminées à partir de la droite de régression sont respectivement de 6,45  $\mu\text{g} / \text{l}$  (intervalle de confiance : 5,42 – 7,67) et 18,19 $\mu\text{g} / \text{l}$  (intervalle de confiance : 15,28 – 21,64) avec un slope de 2,29 (Tableau 10 et Fig. 7).



**Tableau 8:** Effet du RH-2485 ( $\mu\text{g/l}$ ) appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, sur le taux (%) corrigé de mortalité : transformation en probits des mortalités corrigées ( $m \pm s$  ;  $n = 3$  répétitions comportant chacune 25 individus).

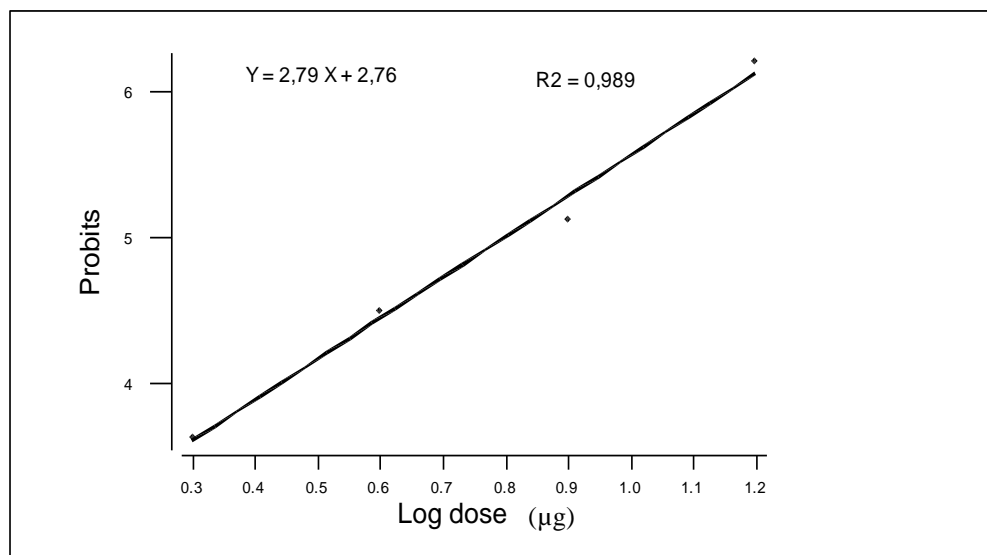
Doses ( $\mu\text{g}$ )	2	4	8	16
Mortalités corrigées (%)	8,39	30,68	54,66	88,70
Probits	3,62	4,50	5,12	6,21

**Tableau 9:** Effet du RH-2485 ( $\mu\text{g/l}$ ) appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, sur le taux corrigé de mortalité : transformation des doses ( $\mu\text{g}$ ) en logarithmes décimaux des doses ( $m \pm s$  ;  $n = 3$  répétitions comportant chacune 25 individus).

Doses ( $\mu\text{g}$ )	2	4	8	16
Log doses (x)	0,30	0,60	0,90	1,20

**Tableau 10:** Efficacité du RH-2485 appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, analyse des probits.

Traitement	Equation de régression	Slope	DL50 ( $\mu\text{g/l}$ )	Intervalle de confiance (IC 95%)
RH-2485	$Y = 2,76 + 2,79 \text{ Log dose}$	2,29	6,45	5,42 – 7,67



**Figure 7.** Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des doses ( $R^2 =$  coefficient de détermination).

### 3.2. Effet du RH-2485 sur la croissance et le développement :

Le RH-2485 appliqué avec les doses (6,45  $\mu\text{g} / \text{l}$  et 18,19  $\mu\text{g} / \text{l}$ ) sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées, de *Culiseta longiareolata* et les doses (6,65  $\mu\text{g} / \text{l}$  et 16,58  $\mu\text{g} / \text{l}$ ) sur *Culex pipiens* affecte leur croissance et leur développement.

#### 3.2.1. Durée du développement :

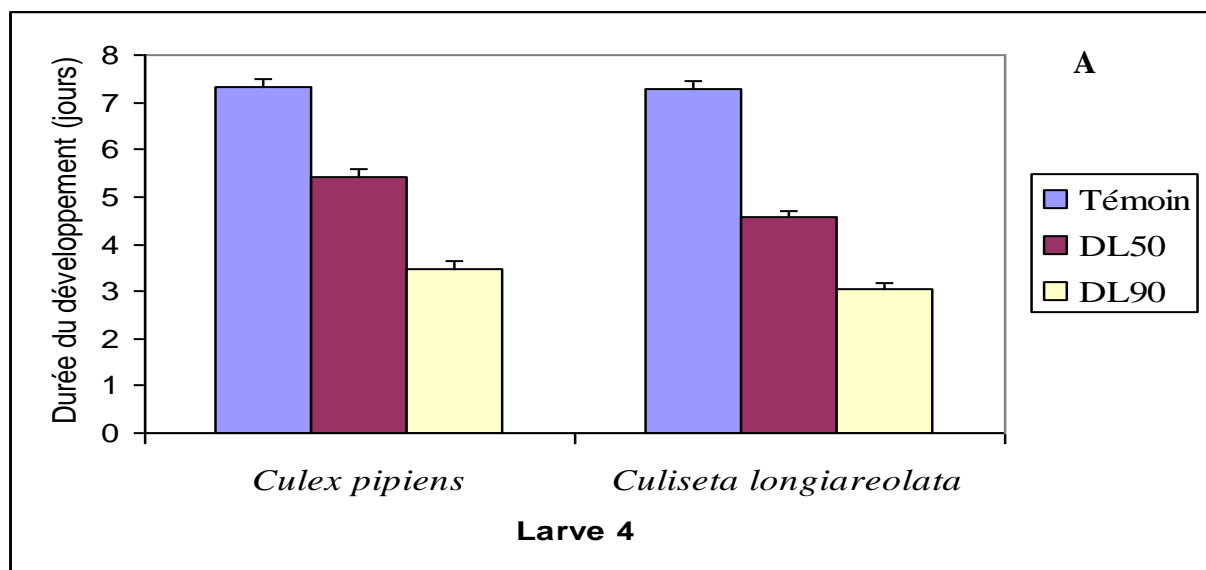
Le traitement appliqué sur les larves du quatrième stade affecte la durée du développement des stades post-embryonnaires (L4 et pupes) en la diminuant significativement ( $p < 0,05$ ) chez les séries traitées par rapport aux témoins avec une relation dose - réponse, et cela aussi bien chez *Cx. pipiens* que chez *C. longiareolata* (Tableau 11 et Fig. 8).

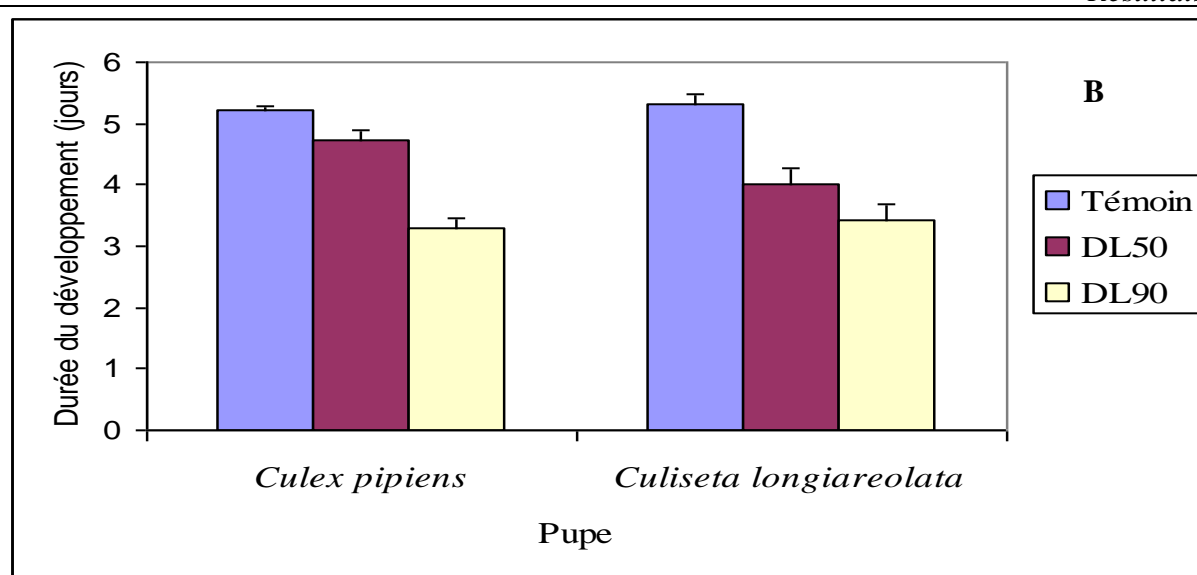
**Tableau 11:** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur la durée de développement des stades post-embryonnaires chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$  ;  $n = 4$ ).

Stades \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>			<i>Culiseta longiareolata</i>		
	Témoin	DL50	DL90	Témoin	DL50	DL90
Larve 4	7,33 $\pm$ 0,15a A	5,43 $\pm$ 0,15b A	3,46 $\pm$ 0,20c A	7,30 $\pm$ 0,17a A	4,56 $\pm$ 0,15b A	3,03 $\pm$ 0,15 c A
Pupe	5,23 $\pm$ 0,05 a B	4,73 $\pm$ 0,15b A	3,30 $\pm$ 0,17c A	5,33 $\pm$ 0,15 a B	4 $\pm$ 0,26 b A	3,43 $\pm$ 0,25 c A

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.





**Figure 8.** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur la durée de développement des stades larvaire 4 (A) et nymphal (B) chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$  ;  $n = 4$ ).

### 3.2.2. Anomalies morphogénétiques :

L'examen des insectes après le traitement montre des aberrations morphologiques variées chez *Culiseta longiareolata*. Nous avons remarqué l'inhibition de la mue qui se manifeste par une incapacité des pupes traitées à s'exuvier correctement comparativement aux pupes témoins et des mues partielles limitées à la partie antérieure sont observées. Cependant, d'autres malformations se manifestent. La D1 ( $6,45 \mu\text{g} / \text{l}$ ), provoque l'apparition d'une puppe avec une seule palette natatoire (Fig. 9A), tandis que la D2 ( $18,19 \mu\text{g} / \text{l}$ ) donne des adultes (mâle et femelle) avec des ailes malformées (longueur) (Fig. 9B).



A (Gr : × 30)



B (Gr : × 25)



C (Gr : × 22)

**Figure 9.** Les divers types morphologiques induit par la RH-2485 chez *C. longiareolata*.

A : Pupa malformée (absence de la palette natatoire droite).

B : Adulte témoin.

C : Ailes malformées (la droite plus courte que la gauche).

### 3.2.3. Croissance pondérale :

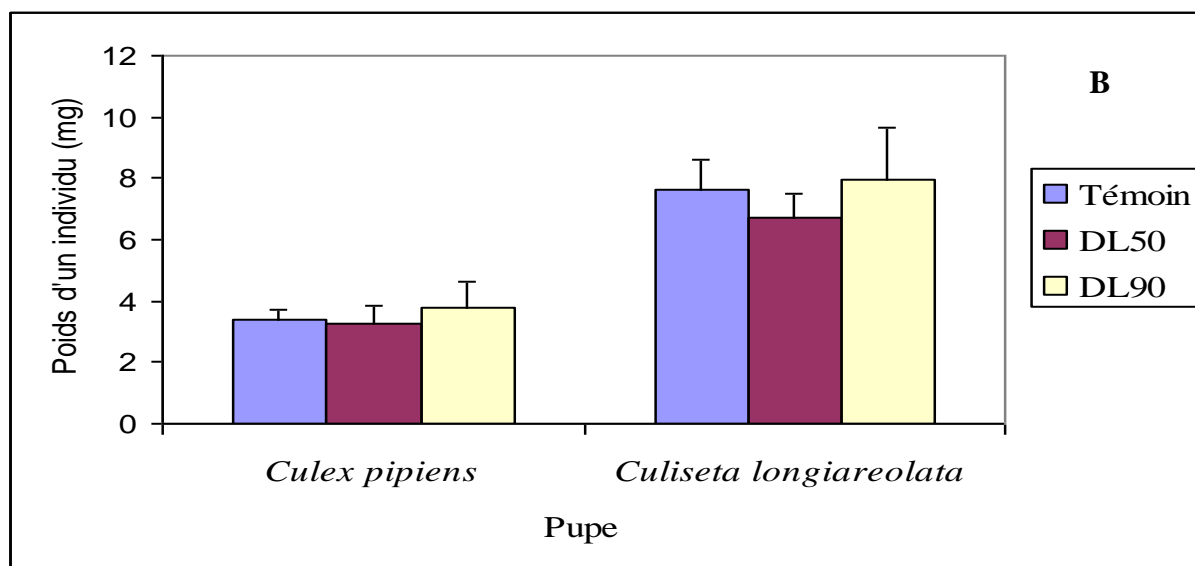
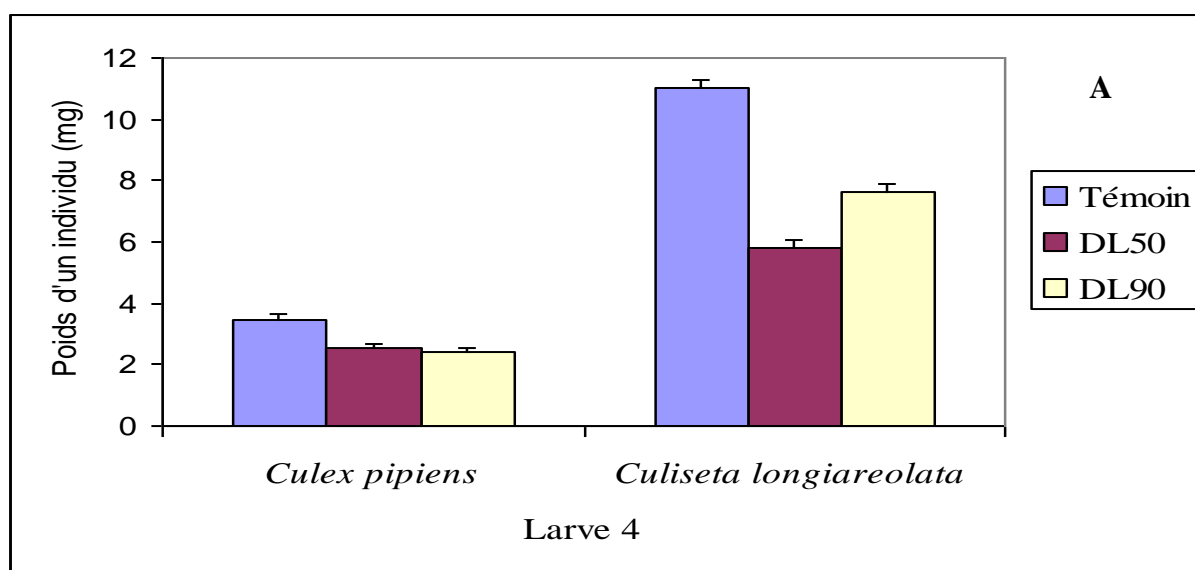
Les résultats de l'évolution du poids corporel des individus au cours du cycle de développement de *Culex pipiens* et de *Culiseta longiareolata* sont mentionnés dans le tableau 12 et la figure 10. Pour les séries témoins des deux espèces, l'évolution pondérale marque une diminution du quatrième stade larvaire jusqu'au stade adulte passant par le stade nymphal. Cependant, chez les séries traitées à la DL50 et la DL90, le poids des individus marque une augmentation au cours des stades immatures et les fortes valeurs sont observées chez les femelles par rapport aux mâles pour les deux séries et chez les deux espèces. La comparaison entre les séries témoins et traitées montre que le RH-2485 affecte le poids corporel des individus des différents stades étudiés ( $p = 0,000$  pour *C. longiareolata* et  $p = 0,048$  pour *Cx. pipiens*).

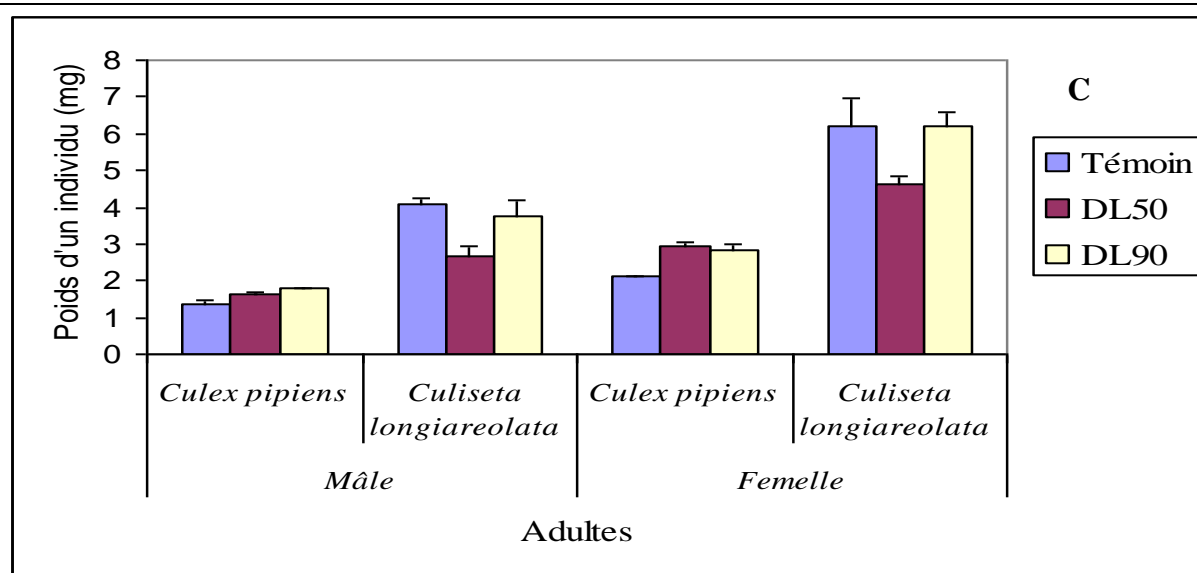
**Tableau 12:** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur le poids (mg) corporel des individus de quelques stades chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* (m ± s ; n = 3).

Stades \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>			<i>Culiseta longiareolata</i>		
	Témoin	6,65 µg / l	16,58 µg / l	Témoin	6,45 µg / l	18,19 µg / l
Larve 4	3,45±0,20a A	2,57±0,12b A	2,42±0,14b A	11±0,28a A	5,83±0,24b A	7,61±0,31c A
Pupe	3,39±0,31a B	3,26±0,57a B	3,77±0,87b B	7,66±0,93a B	6,72±0,80b B	7,95±1,70c B
Adulte mâle	1,36±0,13a C	1,64±0,04b C	1,77±0,05b C	4,09±0,13a C	2,68±0,27b C	3,73±0,44c C
Adulte femelle	2,11±0,01a D	2,92±0,12b D	2,82±0,19b D	6,23±0,73a D	4,64±0,21b D	6,18±0,42c D

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.





**Figure 10.** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur le poids (mg) corporel des individus des stades larvaire 4 (A), nymphal (B) et adultes mâle et femelle (C) chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

### 3.2.4. Croissance linéaire :

La morphométrie des larves L4 et pupes, des deux espèces de moustique, a été évaluée à partir de trois paramètres : la largeur du thorax (mm) des larves L4 et pupes, la longueur des ailes (mm) des adultes mâle et femelle et le volume corporel ( $\text{mm}^3$ ) représenté par la valeur cubique de la largeur du thorax et de la longueur des ailes.

#### A. Largeur du thorax des larves L4 et pupes :

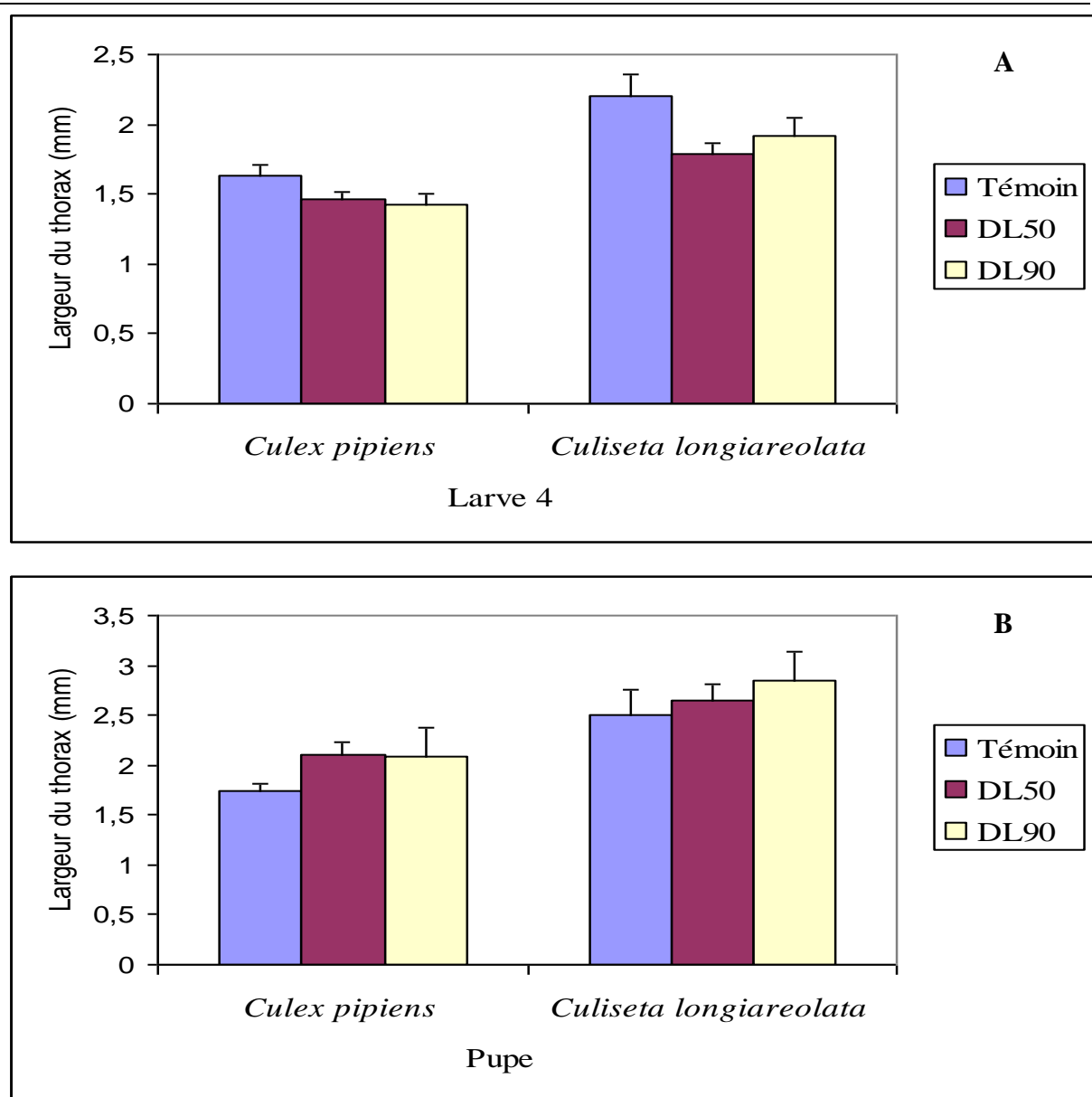
La largeur du thorax marque d'une part une augmentation du stade larvaire L4 au stade nymphal pour les deux séries et chez les deux espèces testées et d'autre part, une diminution au stade larvaire L4 en fonction du traitement. Par contre, au stade nymphal, ce paramètre marque une augmentation chez les séries traitées à la DL50 pour les deux espèces et à la DL90 pour *Culiseta longiareolata* (Tableau 13 et Fig. 11).

**Tableau 13:** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur la largeur (mm) du thorax des larves L4 et pupes chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

Traitement / Stades	<i>Culex pipiens</i>			<i>Culiseta longiareolata</i>		
	Témoin	6,65 $\mu\text{g} / \text{l}$	16,58 $\mu\text{g} / \text{l}$	Témoin	6,45 $\mu\text{g} / \text{l}$	18,19 $\mu\text{g} / \text{l}$
Larve 4	1,63 $\pm$ 0,08a A	1,46 $\pm$ 0,05b A	1,42 $\pm$ 0,08b A	2,20 $\pm$ 0,16a A	1,79 $\pm$ 0,08b A	1,92 $\pm$ 0,13b A
Pupe	1,75 $\pm$ 0,07a A	2,11 $\pm$ 0,12b A	2,09 $\pm$ 0,29b A	2,50 $\pm$ 0,25a A	2,64 $\pm$ 0,17a A	2,84 $\pm$ 0,30b B

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.



**Figure 11.** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur la largeur (mm) du thorax des larves L4 (A) et pupes (B) chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

#### B. Longueur des ailes des mâles et femelles :

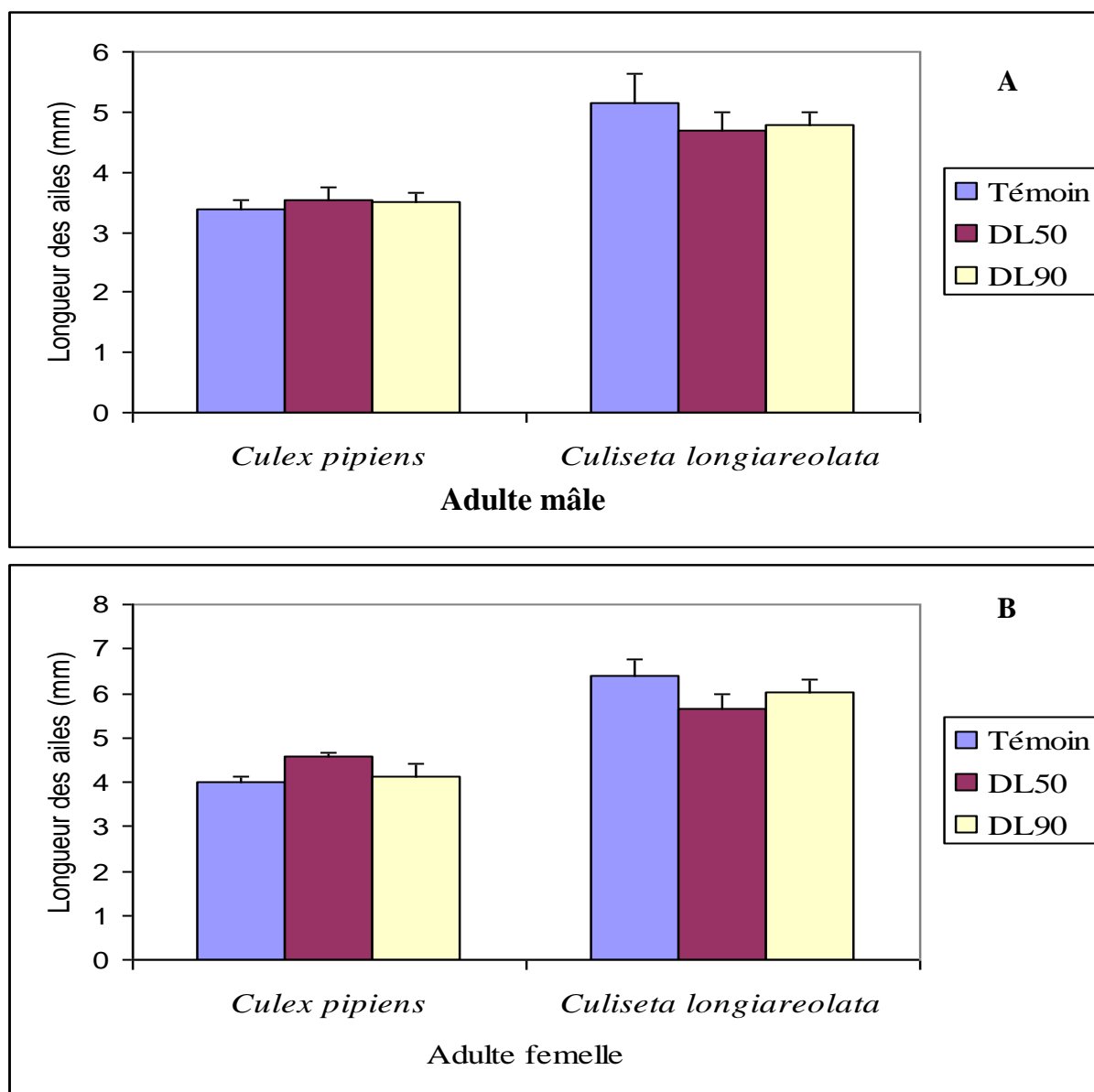
Concernant la longueur des ailes, les femelles présentent une supériorité des valeurs par rapport aux mâles pour les séries témoins et traitées et pour les deux espèces étudiées. La comparaison des moyennes révèle de légères variations mais non significatives ( $p > 0,05$ ) au cours du traitement. Ce paramètre n'est pas affecté par la molécule testée (Tableau 14 et Fig. 12).

**Tableau 14:** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur la longueur (mm) des ailes des adultes mâle et femelle chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$ ;  $n = 3$ ).

Sexe \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>			<i>Culiseta longiareolata</i>		
	Témoin	6,65 $\mu\text{g} / \text{l}$	16,58 $\mu\text{g} / \text{l}$	Témoin	6,45 $\mu\text{g} / \text{l}$	18,19 $\mu\text{g} / \text{l}$
Adulte mâle	3,38 $\pm$ 0,16a A	3,52 $\pm$ 0,23a A	3,51 $\pm$ 0,13a A	5,16 $\pm$ 0,46a A	4,70 $\pm$ 0,29a A	4,79 $\pm$ 0,20a A
Adulte femelle	3,98 $\pm$ 0,14a B	4,56 $\pm$ 0,10a B	4,13 $\pm$ 0,27a B	6,38 $\pm$ 0,40a B	5,65 $\pm$ 0,33a B	6,04 $\pm$ 0,26a B

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.



**Figure 12.** Effet du RH-2485 (DL50, DL90) sur la longueur (mm) des ailes des mâles (A) et des femelles (B) chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$ ;  $n = 3$ ).



### C. Volume corporel des individus (mm<sup>3</sup>) :

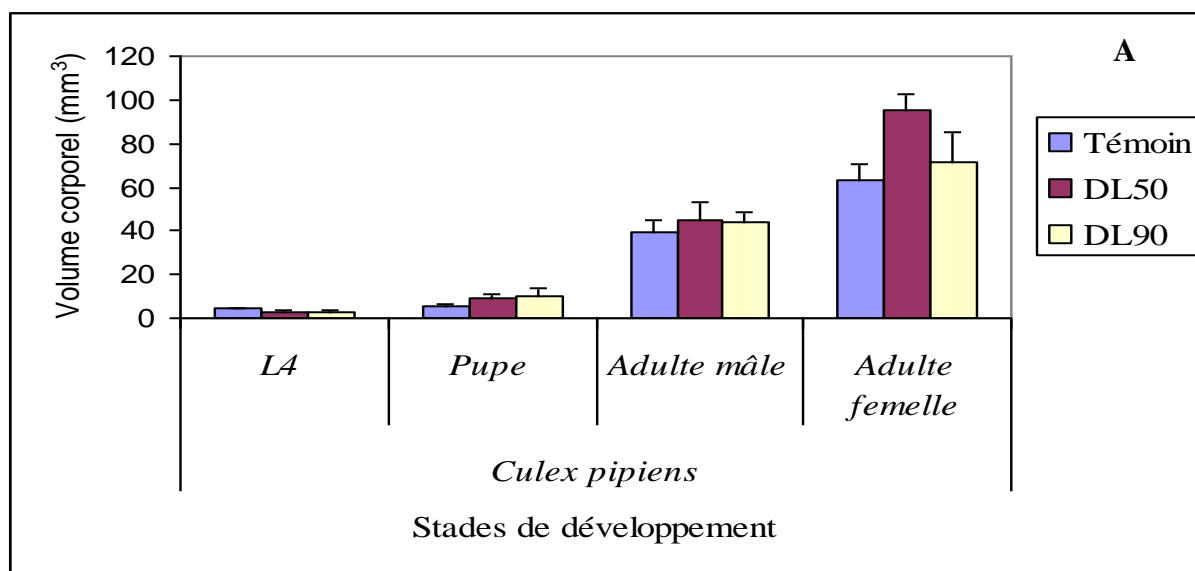
D'après les résultats obtenus, on remarque, d'une part, une augmentation du volume corporel des individus pour la même série au cours du développement post-embryonnaire et, d'autre part, des variations en fonction du traitement par rapport aux témoins pour les différents stades chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* (Tableau 15 et Fig. 13).

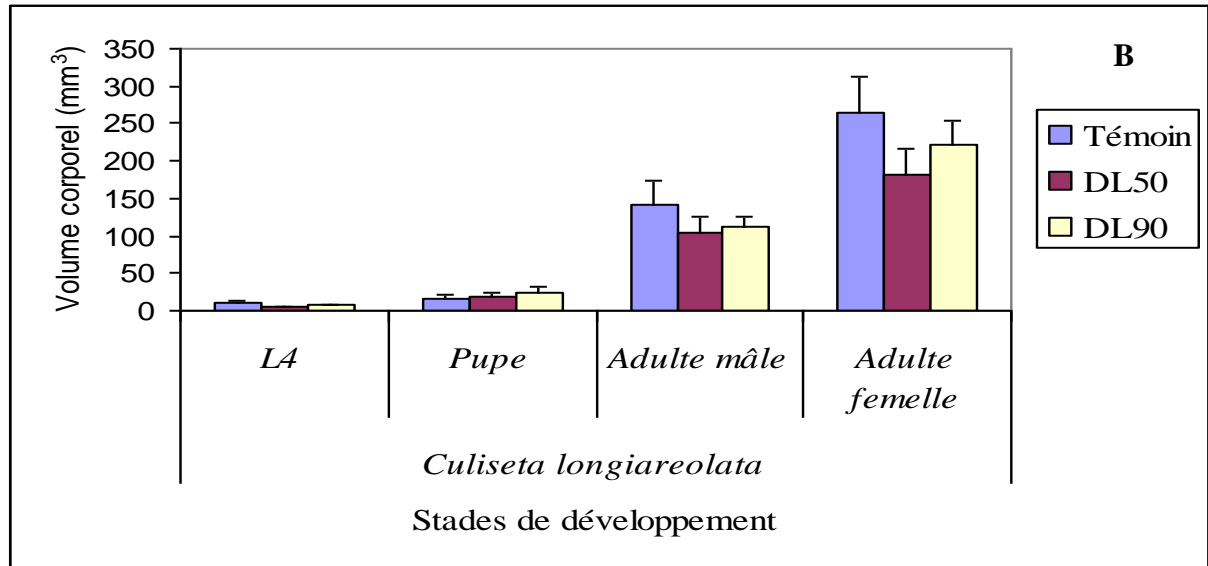
**Tableau 15:** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur le volume corporel (mm<sup>3</sup>) des individus de quelques stades de développement chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* (m ± s ; n = 3).

Stades \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>			<i>Culiseta longiareolata</i>		
	Témoin	6,65 µg / l	16,58 µg / l	Témoin	6,45 µg / l	18,19 µg / l
Larve 4	4,38±0,60a A	3,18±0,37b A	2,92±0,52b A	10,91±2,42a A	5,79±0,82b A	7,20±1,50c A
Pupe	5,45±0,67a B	9,51±1,82b B	9,74±4,32b B	16,19±4,97a B	18,81±4,11b B	23,71±7,35c B
Adulte mâle	39,18±5,54a C	44,43±8,80b C	43,77±5,06b C	141,17±31,36a C	105,37±19,47b C	111,09±13,99c C
Adulte femelle	63,64±6,88a D	95,54±6,63b D	71,64±13,90c D	263,29±49,26a D	182,62±33,03b D	222,06±31,12c D

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.





**Figure 13.** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur le volume corporel ( $\text{mm}^3$ ) des individus de quelques stades chez *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

### 3.3. Effet du RH-2485 sur la composition biochimique des moustiques :

#### 3.3.1. Effet du RH-2485 sur le contenu en protéines :

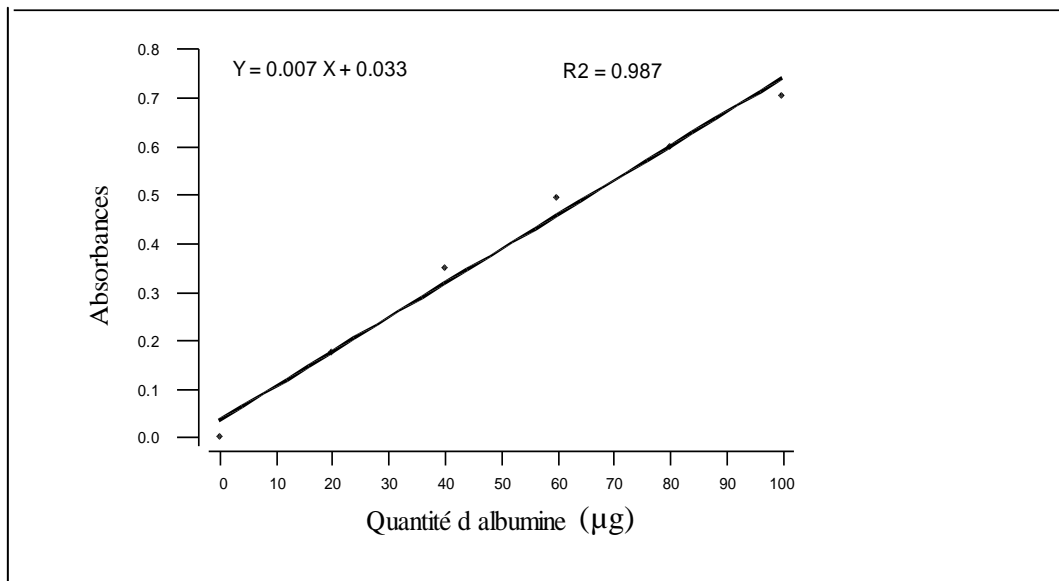
Le contenu en protéines a été déterminé chez les larves L4, les pupes et les adultes mâles et femelles d'après une courbe de référence (Fig. 14) et les résultats des dosages sont donnés dans le tableau 16 et la figure 15. Chez les séries témoins, le contenu en protéines diminue du stade larvaire L4 au stade nymphal. Par contre, pour les séries traitées on remarque une augmentation au cours des stades immatures. La comparaison entre les séries témoins et traitées montre que le RH-2485 affecte le contenu en protéines. La diminution constatée entre témoins et traitées s'observe également entre les séries traitées ( $p = 0,000$ ), le RH-2485 agit donc avec un effet dose. En outre, on observe une supériorité des valeurs chez les femelles par rapport aux mâles pour les deux séries.

**Tableau 16:** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur le contenu en protéines ( $\mu\text{g}$  / individu) des individus de quelques stades chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

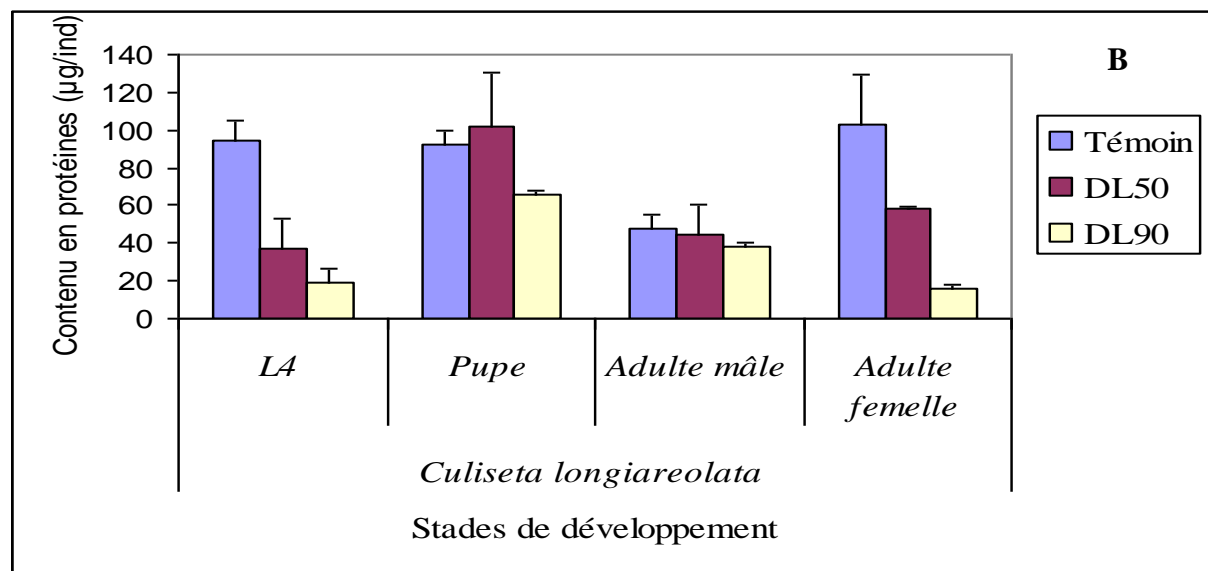
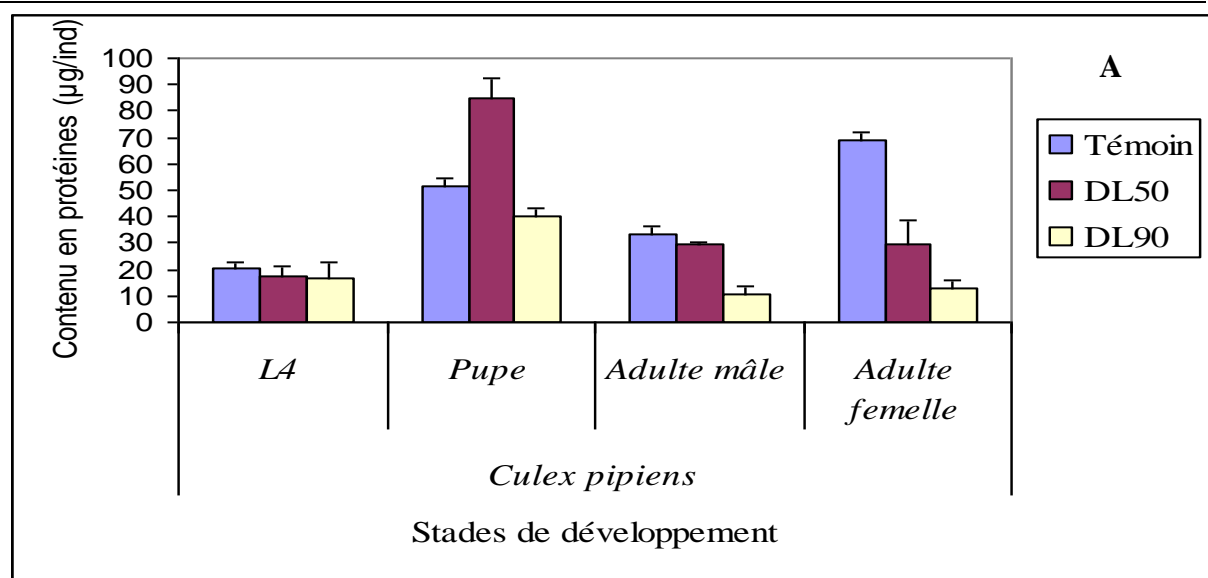
Stades	<i>Culex pipiens</i>			<i>Culiseta longiareolata</i>		
	Témoin	6,65 $\mu\text{g}$ / l	16,58 $\mu\text{g}$ / l	Témoin	6,45 $\mu\text{g}$ / l	18,19 $\mu\text{g}$ / l
Larve 4	20,32 $\pm$ 2,15a A	17,74 $\pm$ 3,52b A	16,33 $\pm$ 6,71b A	94,50 $\pm$ 10,51a A	36,61 $\pm$ 16,13 b A	19,24 $\pm$ 7,19c A
Pupe	51,78 $\pm$ 2,47a B	84,88 $\pm$ 7,72b B	39,81 $\pm$ 3,17c B	92,62 $\pm$ 6,69 a A	101,87 $\pm$ 28,91b B	65,25 $\pm$ 2,15c B
Adulte mâle	33,47 $\pm$ 2,93a C	29,24 $\pm$ 1,07b C	10,70 $\pm$ 2,81c C	48,12 $\pm$ 6,69 a B	44,03 $\pm$ 16,21 b C	37,98 $\pm$ 2,15c C
Adulte femelle	68,92 $\pm$ 2,84a D	29,24 $\pm$ 9,35b C	12,81 $\pm$ 3,22c C	102,48 $\pm$ 27,24a C	58,45 $\pm$ 1,40 b D	16,19 $\pm$ 1,86c D

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.



**Figure 14.** Dosage des protéines totales chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité d'albumine ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ =coefficient de détermination).



**Figure 15.** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur le contenu en protéines (µg / individu) des individus de quelques stades chez *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

### 3.3.2. Effet du RH-2485 sur le contenu en glucides :

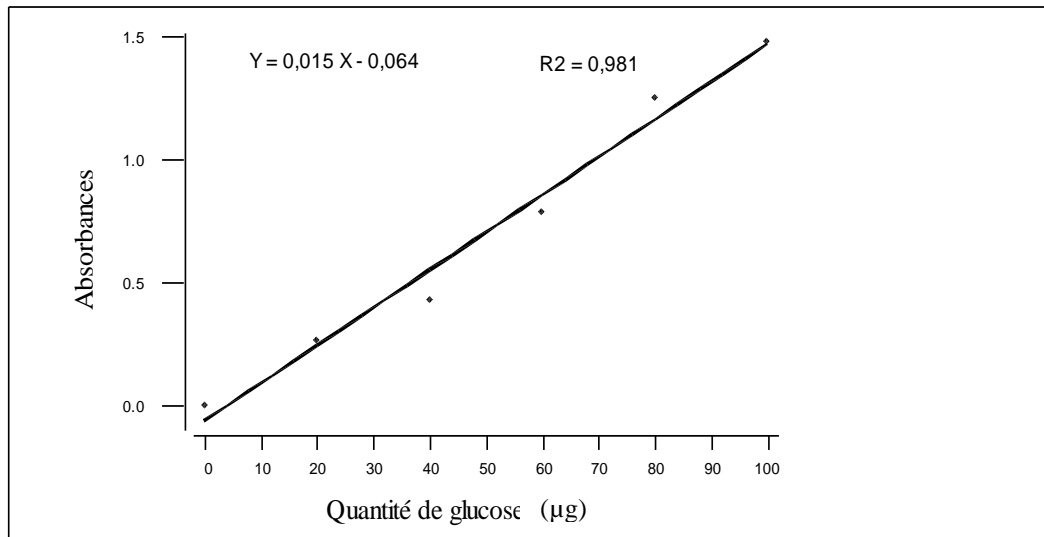
D'après la courbe de référence présentée dans la figure 16, on a pu quantifier le contenu en glucides au cours des stades étudiés (larves 4, pupes et adultes mâles et femelles). Les résultats obtenus sont enregistrés dans le tableau 17 et la figure 17. Chez les séries témoins des deux espèces, le contenu en glucides présente une augmentation au stade nymphal et diminue par la suite au stade adulte ; les plus fortes valeurs sont observées chez les femelles par rapport aux mâles. La comparaison entre les deux séries, pour les deux espèces, montre une diminution significative de ce contenu, c'est-à-dire que le RH-2485 affecte le contenu en glucides. De plus, les résultats montrent que les glucides sont le composé majoritaire quelque soit le stade et l'espèce.

**Tableau 17:** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur le contenu en glucides ( $\mu\text{g}$  / individu) des individus au cours de quelques stades chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

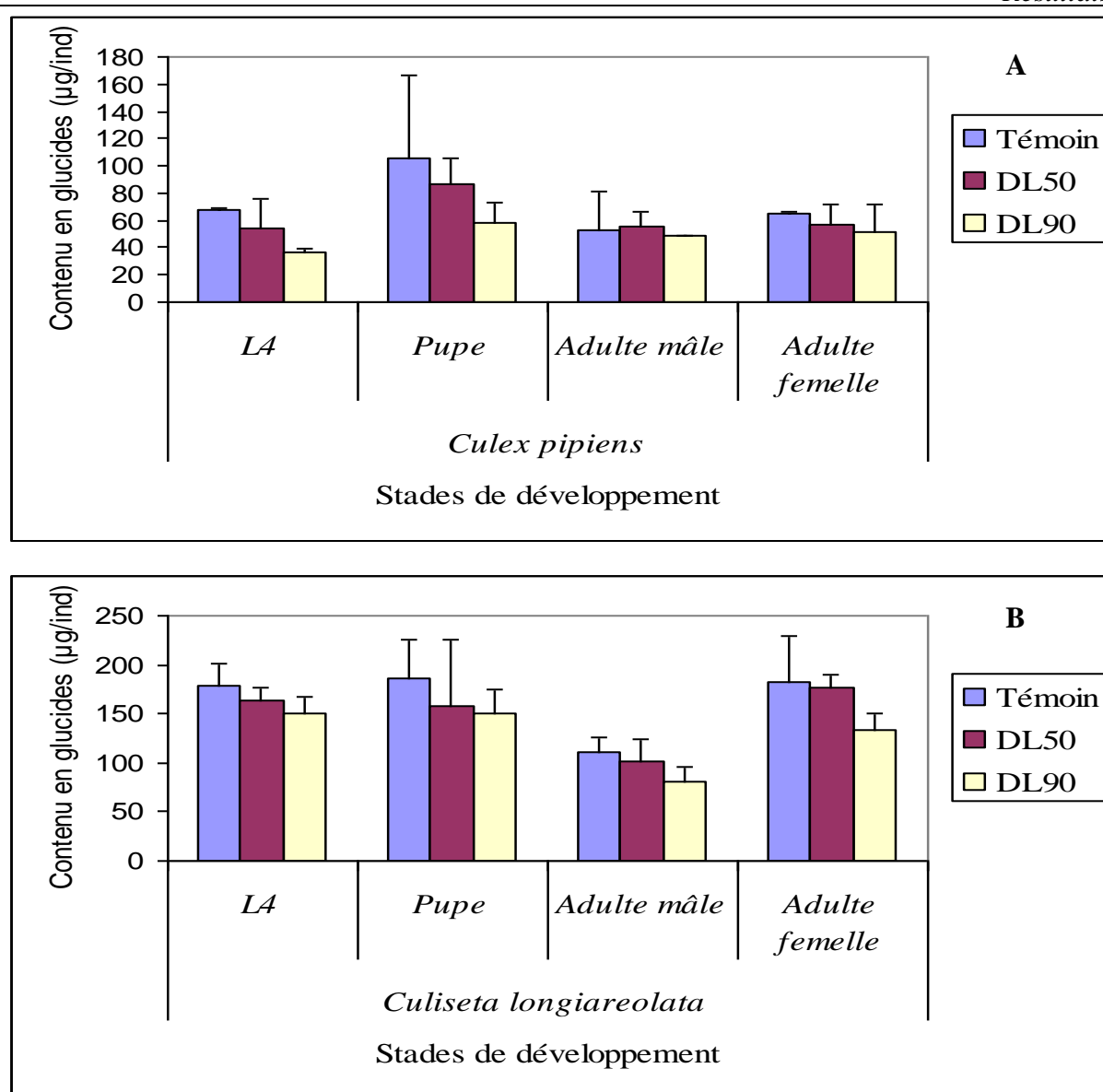
Stades \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>			<i>Culiseta longiareolata</i>		
	Témoin	6,65 $\mu\text{g}$ / l	16,58 $\mu\text{g}$ / l	Témoin	6,45 $\mu\text{g}$ / l	18,19 $\mu\text{g}$ / l
Larve 4	67,61 $\pm$ 1,08a A	54,14 $\pm$ 21,67a A	36,37 $\pm$ 2,29b A	177,98 $\pm$ 23,39a A	163,77 $\pm$ 13,20b A	150,09 $\pm$ 16,29c A
Pupe	105,56 $\pm$ 60,84a B	86,34 $\pm$ 19,03b B	58,11 $\pm$ 14,40b B	186,47 $\pm$ 39,44a B	158,41 $\pm$ 66,71b B	150,83 $\pm$ 23,83b A
Adulte mâle	53,23 $\pm$ 27,74a C	56,10 $\pm$ 10,12a C	48,78 $\pm$ 0,07b C	110,44 $\pm$ 15,42a C	101,29 $\pm$ 22,68a C	81,29 $\pm$ 13,79b B
Adulte femelle	65,10 $\pm$ 1,08a D	57,15 $\pm$ 15,13b C	51,92 $\pm$ 20,15b D	183,03 $\pm$ 46,35a D	176,41 $\pm$ 14,04a D	133,49 $\pm$ 17,04b C

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.



**Figure 16.** Dosage des glucides totaux chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucose ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ =coefficient de détermination).



**Figure 17.** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur le contenu en glucides ( $\mu\text{g}$  / individu) des individus de quelques stades chez *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

### 3.3.3. Effet du RH-2485 sur le contenu en lipides :

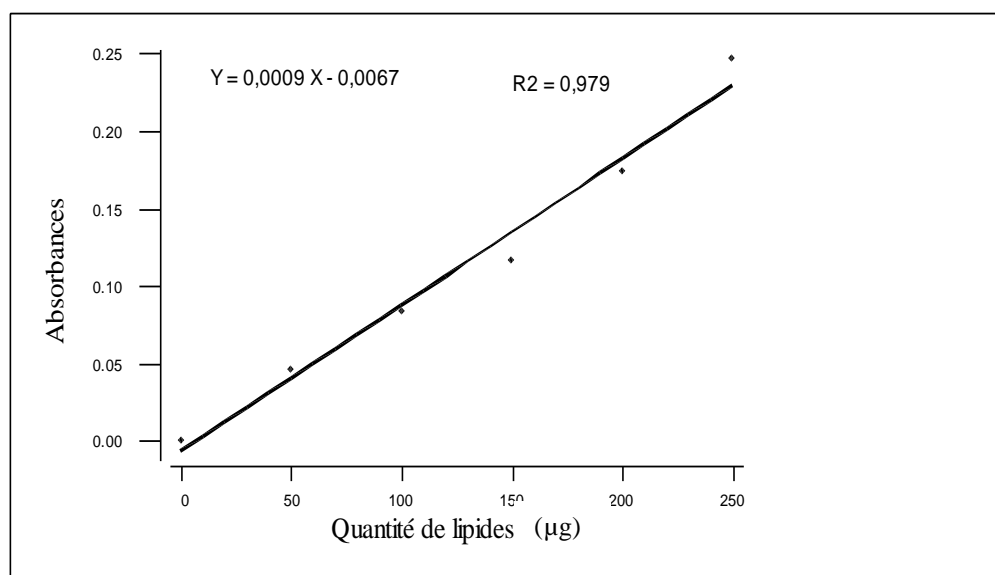
La courbe de référence mentionnée dans la figure 18, nous a permis de calculer les différents teneurs en lipides au cours du développement. Les résultats obtenus sont enregistrés dans le tableau 18 et la figure 19. Le contenu en lipides, montre des variations non significatives au cours des divers stades post-embryonnaires des deux séries. Cependant, l'évolution de ces contenus présente des valeurs approximatives entre les séries témoins et traitées.

**Tableau 18:** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur le contenu en lipides ( $\mu\text{g}$  / individu) des individus de quelques stades chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

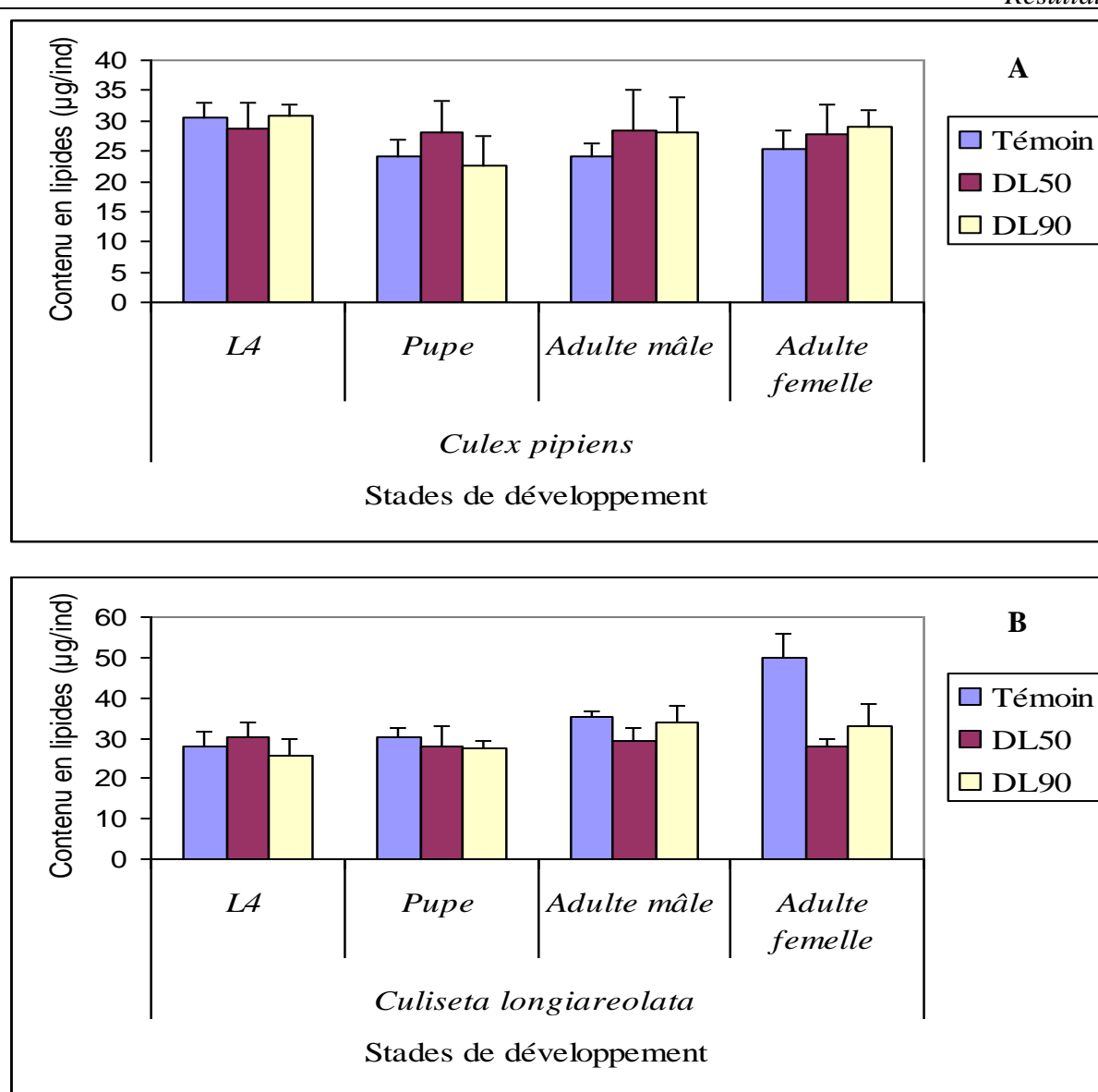
Stades \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>			<i>Culiseta longiareolata</i>		
	Témoin	6,65 $\mu\text{g}$ / l	16,58 $\mu\text{g}$ / l	Témoin	6,45 $\mu\text{g}$ / l	18,19 $\mu\text{g}$ / l
Larve 4	30,49 $\pm$ 2,52a A	28,57 $\pm$ 4,43a A	30,90 $\pm$ 1,76a A	27,90 $\pm$ 3,50a A	30,45 $\pm$ 3,56b A	25,81 $\pm$ 3,96c A
Pupe	24,20 $\pm$ 2,80a B	27,97 $\pm$ 5,25b A	22,64 $\pm$ 4,75c B	30,42 $\pm$ 2,22a B	27,97 $\pm$ 5,01b A	27,63 $\pm$ 1,60b A
Adulte mâle	24,23 $\pm$ 2a B	28,27 $\pm$ 6,86b A	28,20 $\pm$ 5,63b C	35,42 $\pm$ 1,41a B	29,16 $\pm$ 3,57b A	34 $\pm$ 3,90c B
Adulte femelle	25,42 $\pm$ 2,93a B	27,90 $\pm$ 4,85b A	28,97 $\pm$ 2,91b C	50,08 $\pm$ 5,72a C	27,97 $\pm$ 2b A	32,85 $\pm$ 5,42c B

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.



**Figure 18.** Dosage des lipides totaux chez les moustiques : courbe de référence exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de lipides ( $\mu\text{g}$ ) ( $R^2$ =coefficient de détermination).



**Figure 19.** Effet du RH-2485 (DL50 et DL90) sur le contenu en lipides (µg / individu) des individus de quelques stades chez *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

### 3.4. Effet du RH-2485 sur la morphométrie des ovaires :

L'effet de l'agoniste des ecdystéroïdes, appliqué avec les doses : 6,65 µg / l pour *Cx. pipiens* et 6,45 µg / l pour *C. longiareolata*, a été évalué à différents jours (2, 4 et 6 jours) après l'émergence sur le nombre d'ovocytes, la longueur (L), la largeur (l) et le volume (V) de l'ovocyte basal.



### 3.4.1. Nombre d'ovocytes :

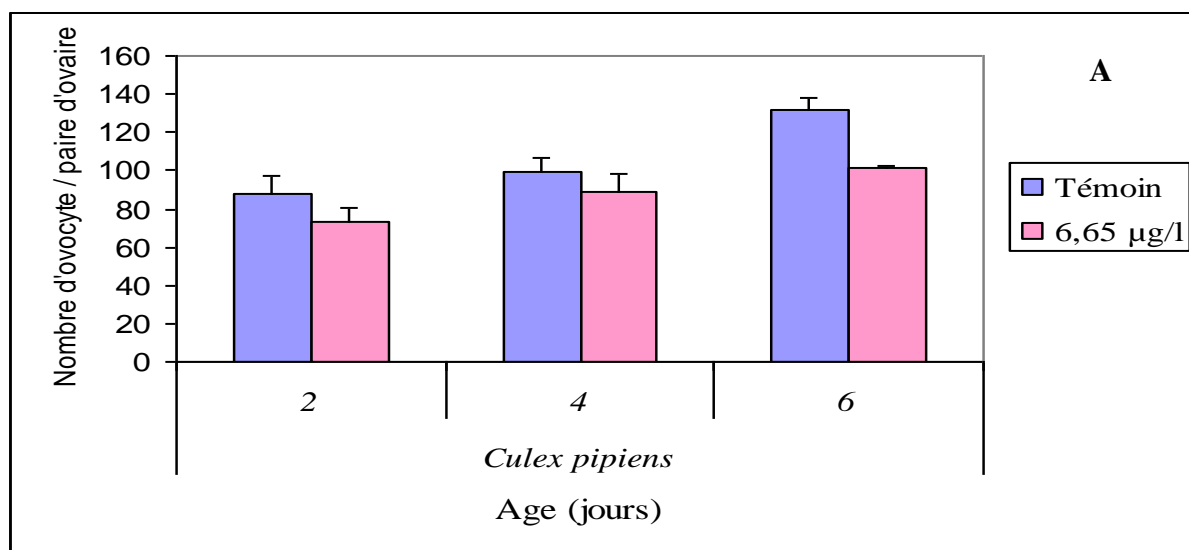
Les résultats mentionnés dans le tableau 19 et la figure 20, montrent une augmentation du nombre d'ovocytes / paire d'ovaires avec les jours, aussi bien chez les témoins que chez les traités. Par contre, en comparant aux témoins, le traitement provoque une réduction du nombre d'ovocytes, et cela pour les deux espèces de moustiques testées à différents âges.

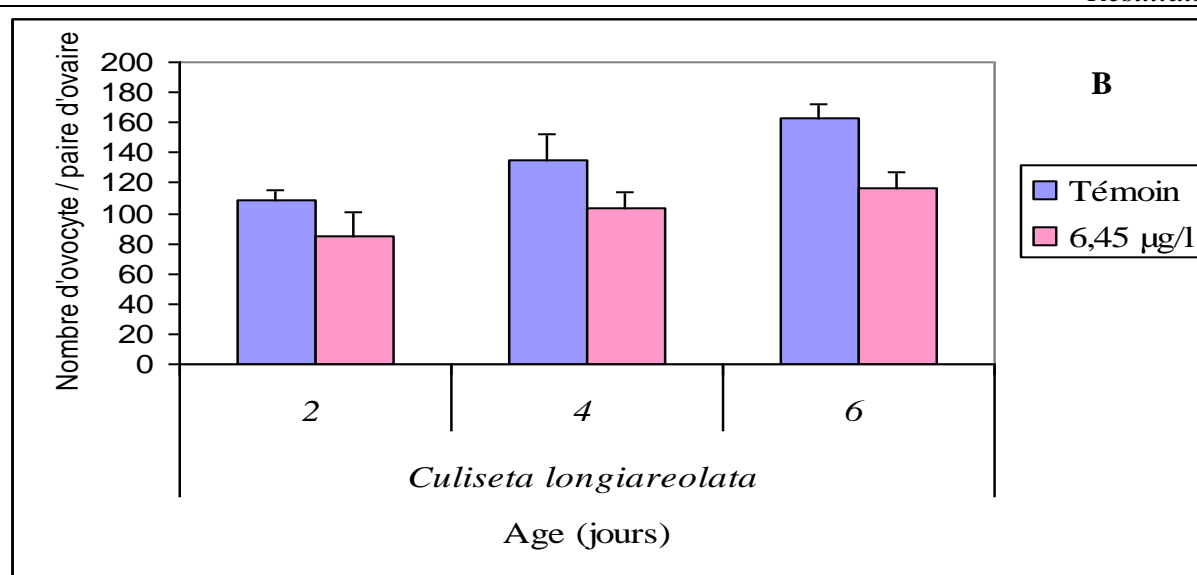
**Tableau 19:** Effet du RH-2485 (DL50) sur le nombre d'ovocytes / paire d'ovaires chez les femelles de *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

Age (jours) \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>		<i>Culiseta longiareolata</i>	
	Témoin	6,65 $\mu\text{g} / \text{l}$	Témoin	6,45 $\mu\text{g} / \text{l}$
2	87,53 $\pm$ 9,35 a A	73,03 $\pm$ 7,08 b A	108,93 $\pm$ 6,03 a A	85,33 $\pm$ 15,68 b B
4	99,30 $\pm$ 7,24 a B	89,20 $\pm$ 8,67 b B	B 135 $\pm$ 17,30a B	103,20 $\pm$ 11,1b B
6	131,80 $\pm$ 6,01 a C	101,03 $\pm$ 1,73b C	C 163,50 $\pm$ 8,41a C	116,32 $\pm$ 11,31b C

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.





**Figure 20.** Effet du RH-2485 (DL50) sur le nombre d'ovocytes / paire d'ovaires chez les femelles de *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

### 3.4.2. Longueur de l'ovocyte basal :

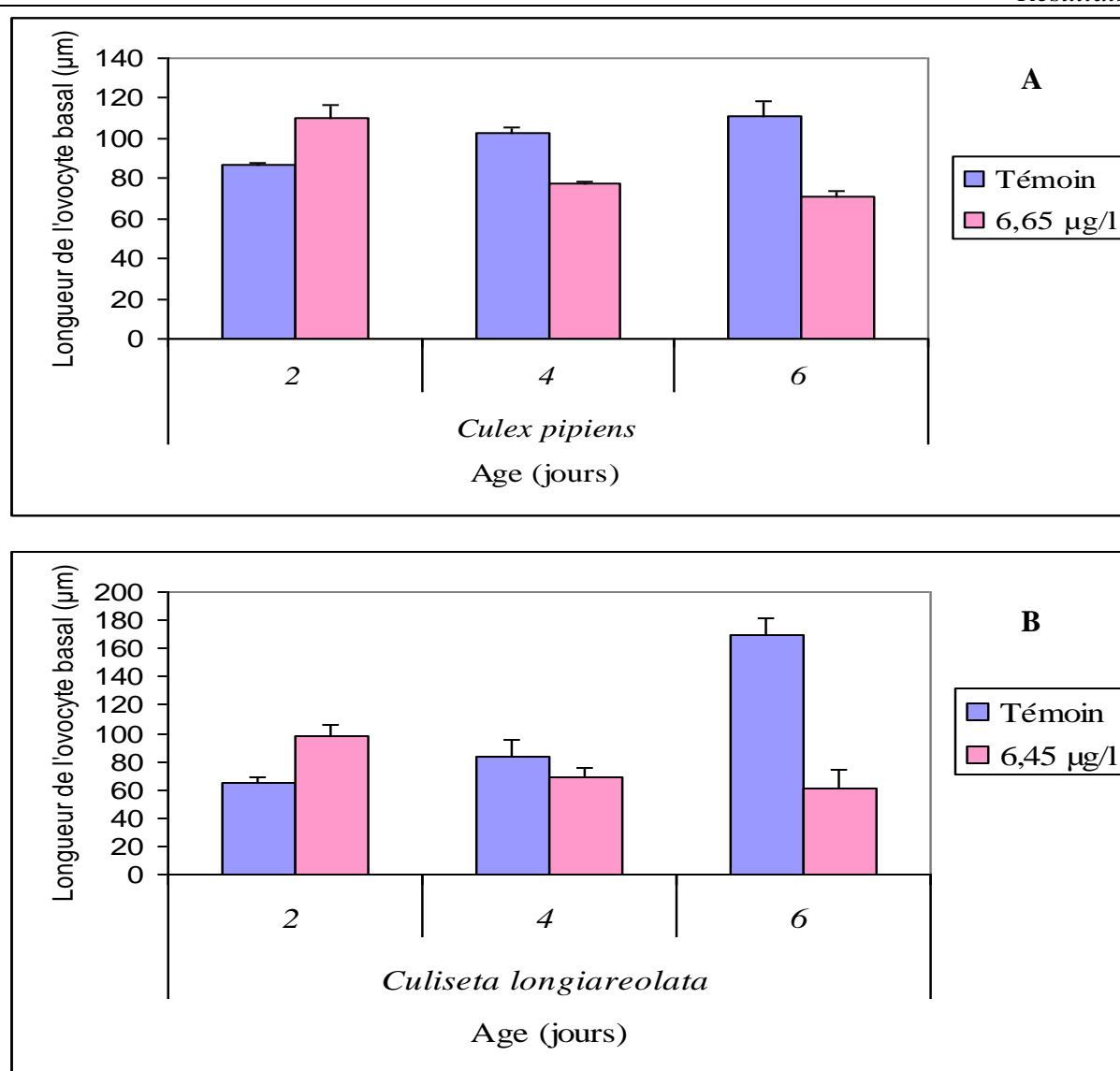
L'examen des résultats révèle une augmentation progressive de la longueur de l'ovocyte basal au cours des jours testés pour la série témoin. Contrairement à la série traitée où on remarque une diminution de ce paramètre selon l'âge chez les deux espèces étudiées. En comparant les deux séries pour le même âge, on constate que la longueur de l'ovocyte basal diminue dans la série traitée par rapport à la série témoin à 4 et 6 jours (Tableau 20 et Fig. 21).

**Tableau 20:** Effet du RH-2485 (DL50) sur la longueur ( $\mu\text{m}$ ) de l'ovocyte basal chez les femelles de *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

Age (jours) \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>		<i>Culiseta longiareolata</i>	
	Témoin	6,65 µg / l	Témoin	6,45 µg / l
2	86,55 ± 1,59 a A	110,07 ± 7,01 b A	65,18 ± 4,28 a A	98,48 ± 8,04 b A
4	102,35 ± 3,10 a B	77,02 ± 1,06 b B	83,07 ± 12,14 a B	69,18 ± 5,70 b B
6	111,40 ± 7,30 a C	70,81 ± 2,59 b B	169,60 ± 12 a C	61,52 ± 12,43 b B

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.



**Figure 21.** Effet du RH-2485 (DL50) sur la longueur (µm) de l'ovocyte basal chez les femelles de *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

### 3.4.3. Largeur de l'ovocyte basal :

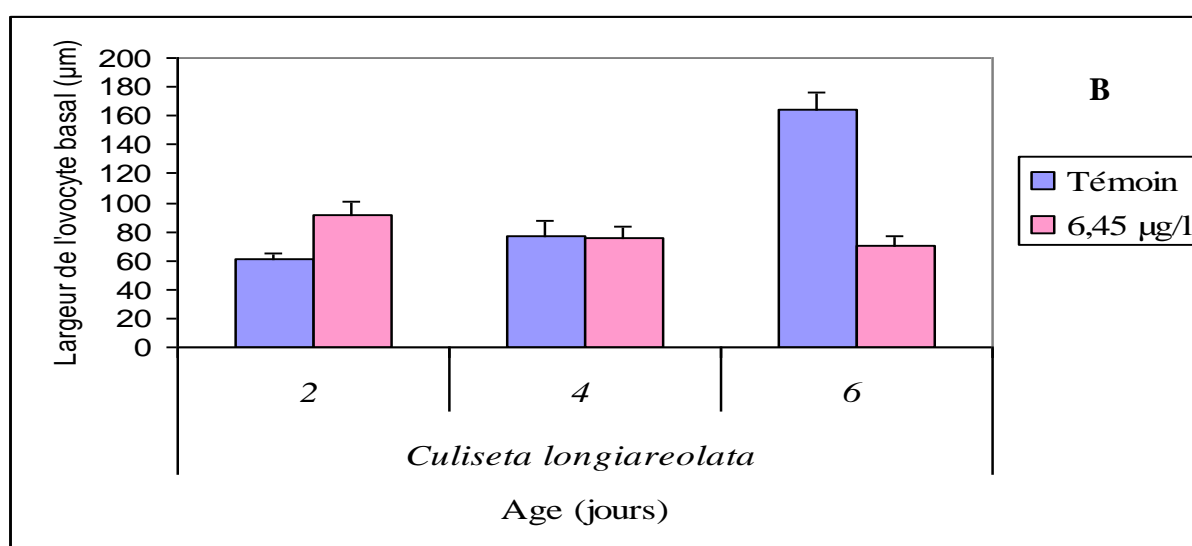
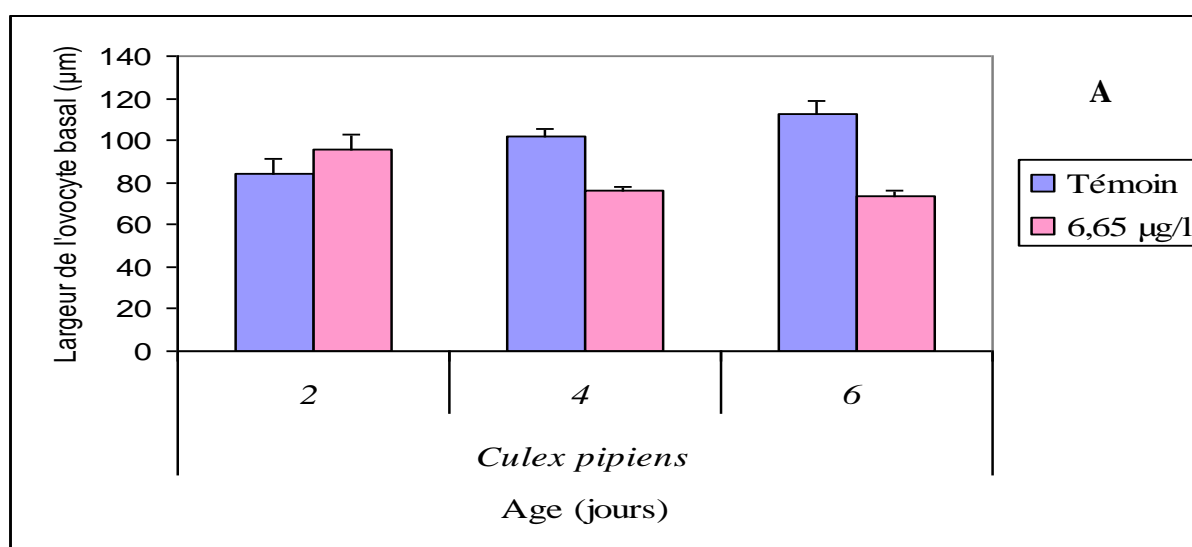
Les résultats, mentionnés dans le tableau 21 et la figure 22, révèlent une augmentation de la largeur de l'ovocyte basal au cours des différents jours étudiés pour la série témoin des deux espèces de moustiques. Par ailleurs, la dose testée (DL50), marque une diminution de la largeur de l'ovocyte basal selon l'âge aussi bien chez *Culex pipiens* que chez *Culiseta longiareolata*. La comparaison des moyennes des séries témoins et traitées du même âge, montre une diminution de ce paramètre pour presque toutes les catégories d'âge, sauf à 2 jours où on note une augmentation au cours du traitement.

**Tableau 21 :** Effet du RH-2485 (DL50) sur la largeur ( $\mu\text{m}$ ) de l'ovocyte basal chez les femelles de *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

Age (jours) \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>		<i>Culesita longiareolata</i>	
	Témoin	6,65 $\mu\text{g} / \text{l}$	Témoin	6,45 $\mu\text{g} / \text{l}$
2	84,37 $\pm$ 6,84 a A	95,53 $\pm$ 7,18 a A	61,16 $\pm$ 3,53 a A	91,95 $\pm$ 9,11 b A
4	101,54 $\pm$ 4,10 a B	76,08 $\pm$ 2,07 b B	76,90 $\pm$ 10,60 a B	75,94 $\pm$ 7,01 a B
6	112,74 $\pm$ 5,84 a B	73,36 $\pm$ 3,17 b B	163,92 $\pm$ 12,63a C	69,76 $\pm$ 7,47 b B

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.



**Figure 22.** Effet du RH-2485 (DL50) sur la largeur ( $\mu\text{m}$ ) de l'ovocyte basal chez les femelles de *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

### 3.4.4. Volume de l'ovocyte basal :

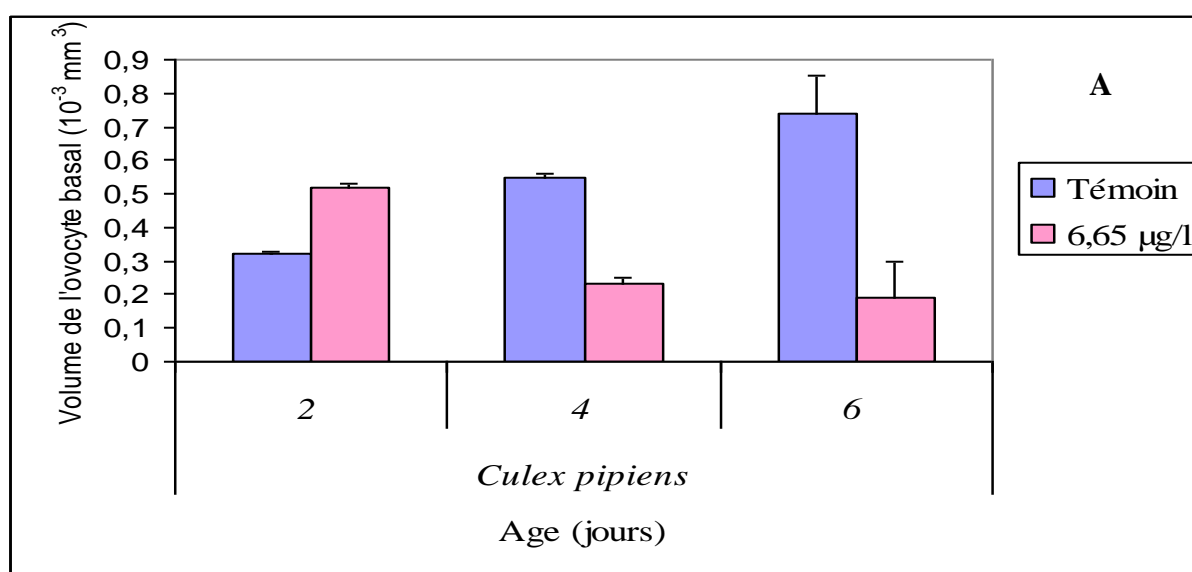
Le tableau 22 et la figure 23 rassemblent les résultats obtenus chez *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*, qui montrent que le volume de l'ovocyte basal augmente progressivement avec l'âge pour les séries témoins, mais diminue pour les séries traitées, chez les deux espèces de moustiques étudiées. En comparant les deux séries pour le même âge chez les deux espèces, on constate que le traitement marque une diminution du volume de l'ovocyte basal à 4 et 6 jours, ce n'est pas le cas à 2 jours où on note une augmentation du volume chez les traités par rapport au témoins.

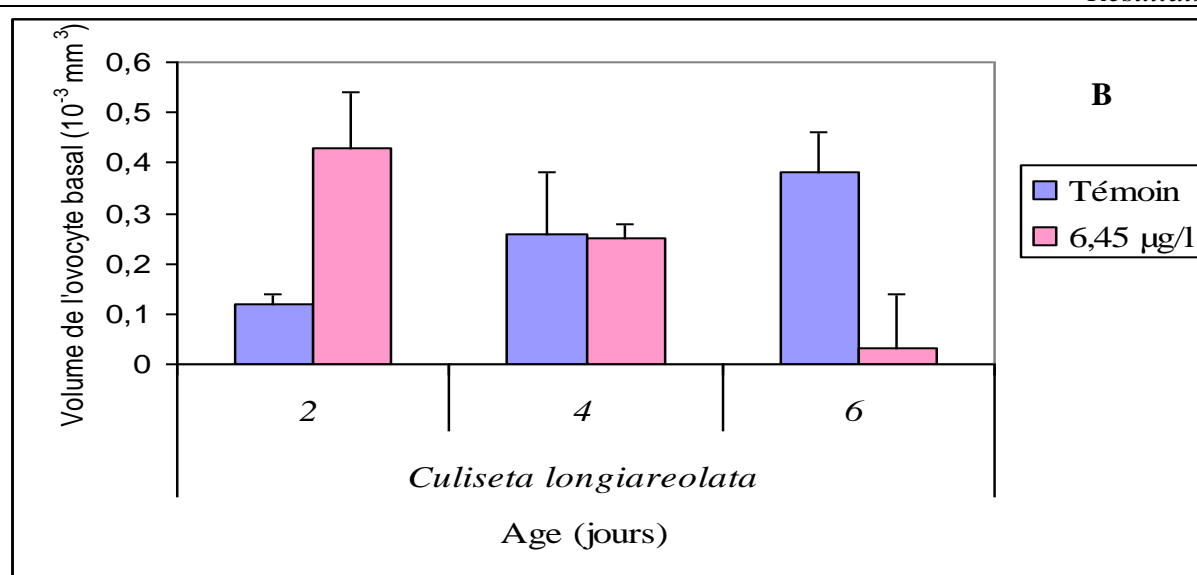
**Tableau 22:** Effet du RH-2485 (DL50) sur le volume ( $10^{-3} \text{ mm}^3$ ) de l'ovocyte basal chez les femelles de *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

Age (jours) \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>		<i>Culiseta longiareolata</i>	
	Témoin	6,65 $\mu\text{g} / \text{l}$	Témoin	6,45 $\mu\text{g} / \text{l}$
2	0,32 $\pm$ 0,005 a A	0,52 $\pm$ 0,01 b A	0,12 $\pm$ 0,02 a A	0,43 $\pm$ 0,11 b A
4	0,55 $\pm$ 0,01 a B	0,23 $\pm$ 0,02 b B	0,26 $\pm$ 0,12 a B	0,25 $\pm$ 0,03 a B
6	0,74 $\pm$ 0,11 a C	0,19 $\pm$ 0,11 b C	0,38 $\pm$ 0,08 a C	0,03 $\pm$ 0,11 b C

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.





**Figure 23.** Effet du RH-2485 (DL50) sur le volume ( $10^{-3} \text{ mm}^3$ ) de l'ovocyte basal chez les femelles de *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

### 3.5. Effet du RH-2485 sur la composition biochimique des ovaires :

#### 3.5.1. Effet du RH-2485 sur le contenu en protéines ovariennes :

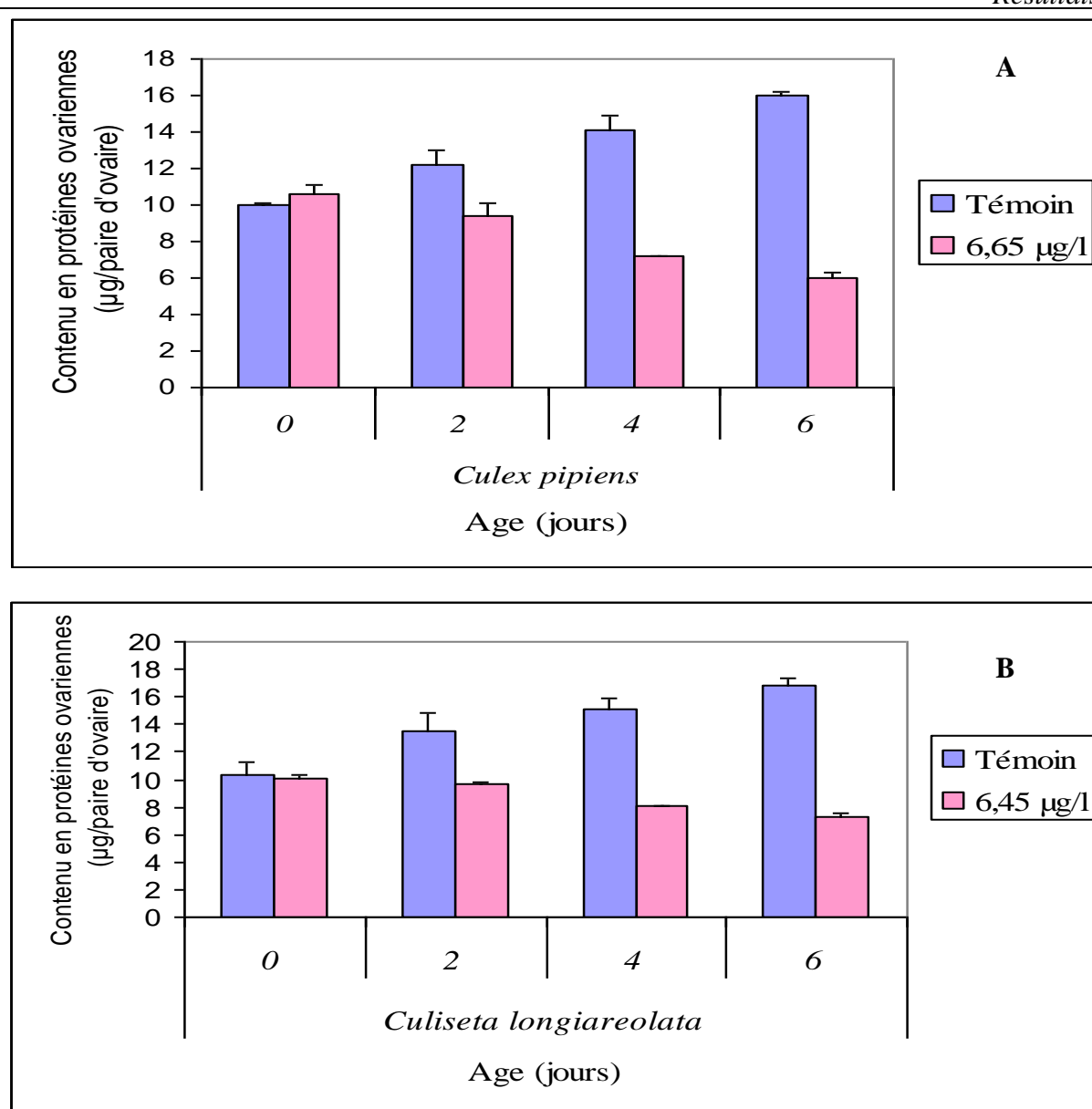
Le contenu en protéines ovariennes chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* augmente avec l'âge pour les séries témoins, contrairement aux séries traitées où le traitement provoque une diminution au cours des jours testés. La comparaison entre les deux séries, montre une diminution significative ( $p < 0,05$ ) de ce contenu pour tous les âges testés sauf à 0 jour (Tableau 23 et Fig. 24).

**Tableau 23:** Effet du RH-2485 (DL50) sur le contenu en protéines ovariennes ( $\mu\text{g}$  / paire d'ovaires) chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

Age (jours) \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>		<i>Culiseta longiareolata</i>	
	Témoin	6,65 $\mu\text{g}$ / l	Témoin	6,45 $\mu\text{g}$ /l
0	10,03 $\pm$ 0,10 a A	10,62 $\pm$ 0,48 a A	10,27 $\pm$ 0,96 a A	10,01 $\pm$ 0,27 a A
2	12,17 $\pm$ 0,88 a B	9,42 $\pm$ 0,65 b B	13,55 $\pm$ 1,34 a B	9,69 $\pm$ 0,11 b A
4	14,50 $\pm$ 0,75 a C	7,18 $\pm$ 0,03 b C	15,04 $\pm$ 0,92 a C	8,10 $\pm$ 0,005 b B
6	16 $\pm$ 0,20 a D	6,03 $\pm$ 0,23 b C	16,81 $\pm$ 0,60 a C	7,23 $\pm$ 0,34 b B

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.



**Figure 24.** Effet du RH-2485 (DL50) sur le contenu en protéines ovariennes ( $\mu\text{g}$  / paire d'ovaires) chez *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

### 3.5.2. Effet du RH-2485 sur le contenu en glucides ovariens:

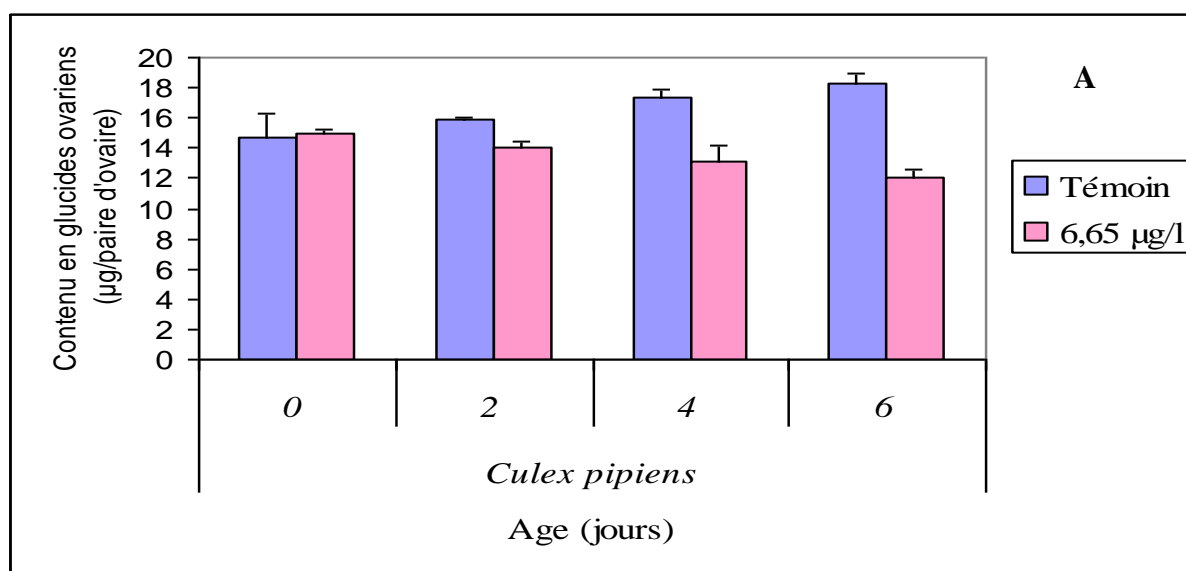
Les résultats obtenus marquent une augmentation du contenu en glucides ovariens avec l'âge. Par ailleurs le traitement par le RH-2485 (DL50), affecte ce contenu en le diminuant au cours des jours testés, aussi bien chez *Cx. pipiens* que chez *C. longiareolata* (Tableau 24 et Fig. 25). La comparaison entre les séries témoins et traitées révèle une réduction significative ( $p < 0,05$ ) de ce métabolite à 2, 4 et 6 jours ; par contre à 0 jour la différence n'est pas significative.

**Tableau 24:** Effet du RH-2485 (DL50) sur le contenu en glucides ovariens ( $\mu\text{g}$  / paire d'ovaires) chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

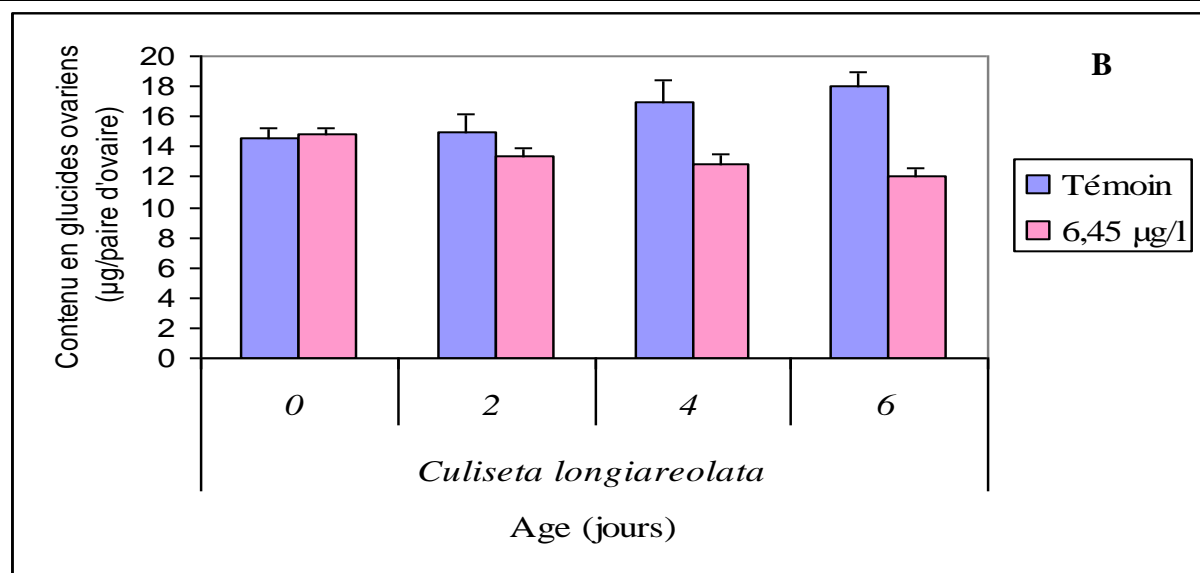
Age (jours) \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>		<i>Culiseta longiareolata</i>	
	Témoin	6,65 $\mu\text{g}$ / l	Témoin	6,45 $\mu\text{g}$ / l
0	14,73 $\pm$ 1,60 a A	14,93 $\pm$ 0,25 a A	14,51 $\pm$ 0,66 a A	14,78 $\pm$ 0,46 a A
2	15,86 $\pm$ 0,12 a B	14 $\pm$ 0,42 b A	15,01 $\pm$ 1,10 a B	13,42 $\pm$ 0,48 b B
4	17,39 $\pm$ 0,55 a C	13,12 $\pm$ 1,10 b A	16,93 $\pm$ 1,43 a B	12,90 $\pm$ 0,59 b B
6	18,31 $\pm$ 0,68 a D	12,09 $\pm$ 0,44 b A	18,01 $\pm$ 0,90 a C	12,03 $\pm$ 0,52 b B

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.







**Figure 25.** Effet du RH-2485 (DL50) sur le contenu en glucides ovariens ( $\mu\text{g}$  / paire d'ovaires) chez *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

### 3.5.3. Effet du RH-2485 sur le contenu en lipides ovariens :

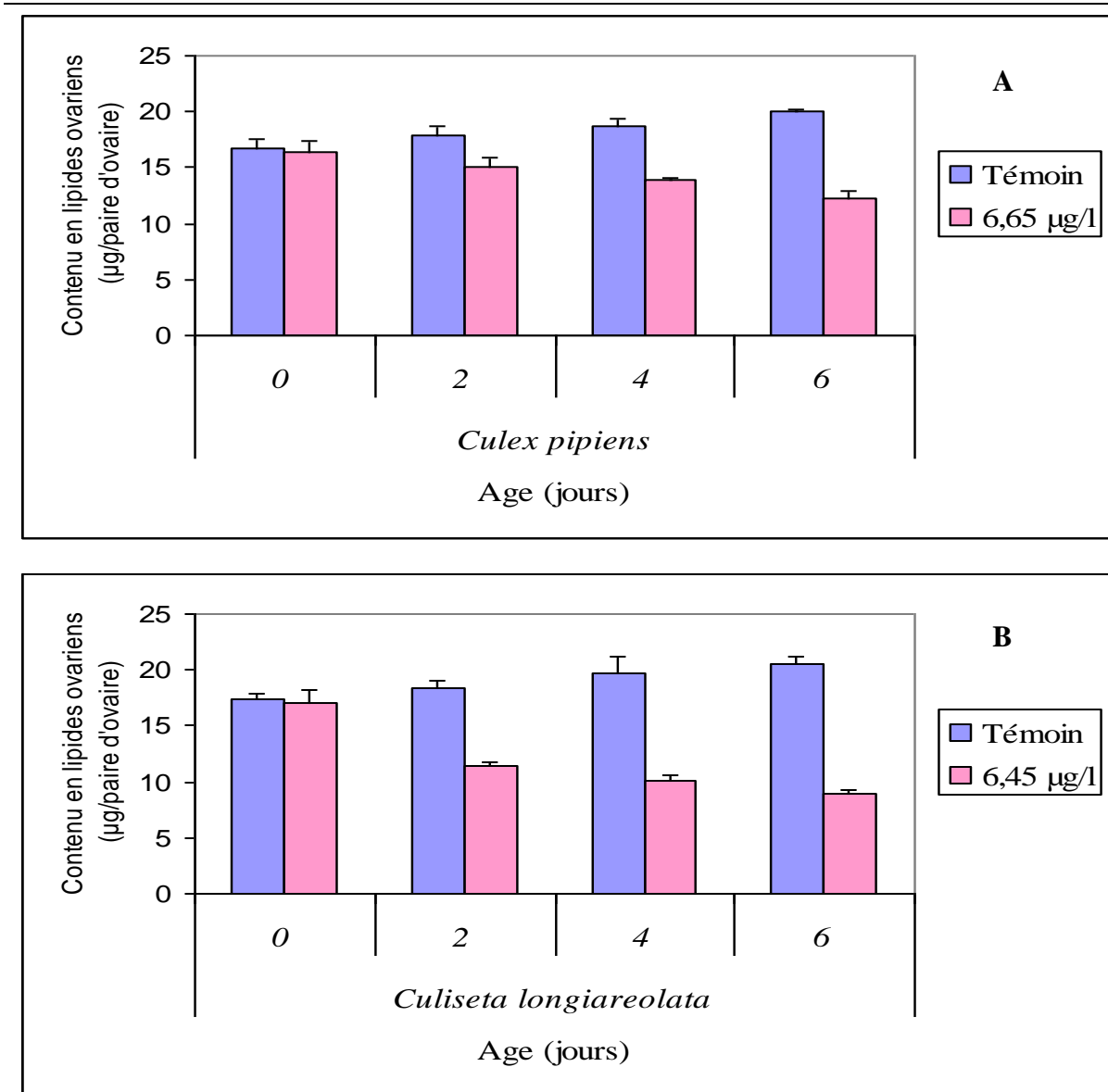
Le contenu en lipides ovariens chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* (Tableau 25 et Fig. 26), augmente dans la série témoin et diminue dans la série traitée au cours des jours testés. En comparant les deux séries, on constate que le RH-2485 diminue le contenu en lipides ovariens durant presque tous les âges étudiés, à l'exception de 0 jour, où la différence n'est pas significative chez *Cx. pipiens* comme chez *C. longiareolata*.

**Tableau 25:** Effet du RH-2485 (DL50) sur le contenu en lipides ovariens ( $\mu\text{g}$  / paire d'ovaires) chez *Cx. pipiens* et *C. longiareolata* à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$  ;  $n = 3$ ).

Age (jours) \ Traitement	<i>Culex pipiens</i>		<i>Culiseta longiareolata</i>	
	Témoin	6,65 $\mu\text{g}$ / l	Témoin	6,45 $\mu\text{g}$ / l
0	16,70 $\pm$ 0,77 a A	16,40 $\pm$ 1,03 a A	17,41 $\pm$ 0,50 a A	17,01 $\pm$ 1,19 a A
2	17,90 $\pm$ 0,80 a A	15,02 $\pm$ 0,81 b B	18,31 $\pm$ 0,73 a A	11,36 $\pm$ 0,45 b B
4	18,78 $\pm$ 0,65 a A	13,94 $\pm$ 0,17 b C	19,73 $\pm$ 1,42 a B	10,16 $\pm$ 0,36 b C
6	20 $\pm$ 0,20 a B	12,25 $\pm$ 0,73 b D	20,56 $\pm$ 0,65 a C	8,93 $\pm$ 0,38 b D

\*Les lettres en majuscule signifient une différence significative dans la même série.

\*Les lettres en minuscule signifient une différence significative dans le même stade.



**Figure 26.** Effet du RH-2485 (DL50) sur le contenu en lipides ovariens (µg / paire d'ovaires) chez *Cx. pipiens* (A) et *C. longiareolata* (B) à différents jours après l'émergence des adultes ( $m \pm s$ ,  $n = 3$ ).

## 5. CONCLUSION ET PERSPECTIVES :

Le RH-2485, nouvel agoniste des ecdystéroïdes, est une molécule spécifique et sélective appartenant à un large groupe de régulateurs de croissance. Il a été testé sur deux espèces de moustiques, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*. Son action a été évaluée sur les aspects toxicologique, morphométrique, biochimique et la reproduction.

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer la DL50 et la DL90 de ce régulateur de croissance à l'égard de *Culiseta longiareolata*. Ils révèlent un effet insecticide avec une relation dose - réponse. Il perturbe la durée du développement et permet l'apparition de divers types morphologiques.

L'étude morphométrique montre que le RH-2485 perturbe la croissance et le développement. Le methoxyfenozone réduit le volume corporel des stades étudiés à l'exception du stade nymphal qui a montré une augmentation en fonction du traitement. La composition biochimique des individus est affectée par la molécule testée où on note des différences significatives entre les témoins et les traités de différents stades chez *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*.

Le traitement par le RH-2485 (DL50) provoque une réduction du nombre d'ovocytes, ainsi que la largeur, la longueur et le volume de l'ovocyte basal ce qui abaisse la fécondité des deux espèces étudiées.

Le dosage des métabolites (protéines, glucides et lipides) ovariens, montre aussi un effet traitement, puisque leur évolution a été perturbée ; on note une réduction des contenus. Le RH-2485 diminue non seulement la synthèse des protéines dans le corps gras, mais aussi sa captation par l'ovaire, ce qui appuie l'hypothèse d'une action de cet analogue de l'hormone de mue sur la fécondité à travers la vitellogénèse.

Il serait judicieux de poursuivre ce travail par une analyse qualitative et quantitative des ecdystéroïdes dans les ovaires des deux espèces de moustiques, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*, en fonction du traitement. De même, il serait souhaitable d'évaluer l'effet de cet agoniste sur le potentiel reproducteur.

---

**7. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES:**

- Adel M. M. et Sehnal F., 2000- Azadiractin potentiates the action of ecdysteroid agonist RH-2485 in *Spodoptera littoralis*. *J. Insect. Physiol.* **46**: 267-274.
- Aller H. E. et Ramsay J. R., 1988- RH-5849: a novel insect growth regulator with a new mode of action. *Proceedings Brighton crop protection conference pest and diseases.* **5**: 511-518.
- Amrani L., 1998- Effets de deux régulateurs de la biosynthèse des hormones ecdystéroïdes (KK-42 et RH-0345) sur le développement nymphal et la reproduction d'un modèle de laboratoire, *Tenebrio molitor*. Magistère en physiologie animale, option : Applications agronomiques et médicales. Univ. Annaba. Algérie.
- Amrani L., Zerguine K., Farine J. P., Smagghe G. et Soltani-Mazouni N., 2004- Imidazole derivative KK-42 reduces ecdysteroid titers and interferes with reproductive processes in adult females of *Tenebrio molitor*. *Pest. Biochem. Physiol.* **80** : 163-172.
- Anonyme, 1983- Informal consultation on insect growth regulators. WHO / VBC / 83.
- Aribi N. et Lakbar C., 2001- Effets du Pyriproxifène sur certains aspects physiologiques du développement de *Tenebrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae). *Revue Synthèse.* **9** : 78-94.
- Beaudoin et Lemonde, 1970- Evolution des glycérides et des acides gras durant la croissance et la métamorphose de *Tribolium confusum*. *J. Insect. Physiol.* **16** : 71-78.
- Beenakers A. M. T. H., Vander Host D. G. et Van Marrewijk W. J. A., 1985- Insect lipids and lipoproteins and their role in physiological process. *Prog. Lipid. Res.* **24**: 19-67.
- Beckmeyer E. F. et Lea A. O., 1980- Induction of follicle separation in the mosquito by physiological amounts of ecdysterone. *Science.* **209**: 819-821.

- Beckage N. E., Marion K. M., Walton W. E., Wirth M. C. et Tan F. F., 2004- Comparative Larvicidal Toxicities of Three Ecdysone Agonists on the Mosquitoes *Aedes aegypti*, *Culex quinquefasciatus* and *Anopheles gambiae*. *Arch. Insect. Biochem and Physiol.* **57** : 111-122.
- Bendali S. F., 1989- Etude de *Culex pipiens pipiens* Anautogene. Systématique, Biologie, Lutte (*Bacillus thuringiensis israeliensis* serotype H14 ; *Bacillus sphaericus* 1953) et deux espèces d'hydracariens. Magistère. Univ. Annaba. Algérie.
- Berchi S., 2000- Résistance de certaines populations de *Culex pipiens pipiens* (L.) au malathion à Constantine (Algérie) (Diptera : Culicidae). *Bull. Soc. Entomol. Fr.* **105** : 125-129.
- Borchet D. M., Walgenbach J. F., Kennedy G. G. et Long J. W., 2004- Toxicité et activité résiduelle du Methoxyfenozone et du Tebufenozone sur *Cydia pomonella* (L.) et *Molesta grapholita* (B.) (Lepidoptera : Tortricidae). *J. Entomol. Econom.* **97** (11) : 1342-1352.
- Boudjelida H., Bouaziz A., Soin T., Smaghe G. et Soltani N., 2005- Effects of ecdysone agoniste halofenozone against *Culex pipiens*. *Pest. Biochem and Physiol.* **83**: 115-123.
- Bradford M. M., 1976- A rapid and sensitive method for the quantitation microgram quantities of protein utilizing the principal of protein binding. *Analyt. Biochem.* **72** : 248-254.
- Buck J. B., 1953- Physical properties and chemical composition of Insect blood. *Insect. Physiol.* (ED, by Roeder K.D.). John Wiley. New York. 147-190.
- Carlson G. R., Dhadialla T. S., Hunter R., Jansson R. R., Jany C. S., Lidert Z. et Slawecki R. A., 2001- The chemical and biological properties of methoxyfenozone, a new insecticidal ecdysteroid agonist. *Pest. Manag. Sci.* **57** : 115-119.
- Carton B., Smaghe G. et Tirry L., 2003- Toxicity of two ecdysone agonists, halofenozone and methoxyfenozone, against the multicoloured Asian lady beetle *Harmonica axyridis* (Col : Coccinellidae). *J. Applied. Entomol.* **127** : 240 p.

- Chino H., Katase H., Downer R. C. et Hard Takahashi K., 1981- Diacylglycerol-carrying lipoprotein of hemolymph of the American cockroach : Purification, Characterization and Function. *J. Lipid. Res.* **22** : 7-15.
- Clegg J. S. et Evans D. R., 1961- The physiology of blood trehalose and its function during flight in the blowfly. *J. Exp. Biol.* **38** : 771-792.
- Colless D. H. et Chellapah W. T., 1960- Effects of body weight and size of blood-meal upon egg production in *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera : Culicidae). *Ann. Trop. Med. Parasitol. Dec.* **54** : 475-482.
- Dallaire R., 2003- Effets sous létaux du Tebufenozide, un régulateur de croissance d'insectes, sur la communication chimique et le succès reproducteur chez *Choristoneura fumiferana*, *C. rosaceana* (Lepidoptera : Tortricidae). Mémoire pour l'obtention du grade de maîtrise. Faculté des Sciences et Génie. *Univ. Laval. Quebec.*
- Darvas B., Polgar L., El Din M. H. T., Eroos K. et Wing K. D., 1992- Developmental disturbance in different orders caused by an ecdysteroid agonist, RH-5849. *J. Econ. Entomol.* **85**: 2107-2112.
- David J. P., Ravanel P., Reynaud S, Raveton M., Patouraux J., Boyer S. et Serandour J., 2006- Etude de l'adaptation des moustiques aux xénobiotiques naturels et anthropiques : approche multidisciplinaire intégrant écotoxicologie, génomique des populations et transcriptomique.
- Defaflia H. et Hamidane H., 2006- Effets du RH-0345 sur la composition biochimique et la morphométrie des ovaires de *Culex pipiens*. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme des études supérieures en Zoo systématique. C. U. Tébessa. Algérie.
- Dhadialla T. S., Carlson G. R. et Le D. P., 1998- New insecticides with Ecdysteroidal and Juvenile hormone activity. *Annu. Rev. Entomol.* **43** : 545-569.

- Diaf A. et Senouci Z., 2005- Evaluation d'un mimétique des ecdystéroïdes (RH-0345) sur *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae) : Aspects morphométrique et biochimique. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'état en Biologie Animale. Option : Physiologie générale et comparée. C. U. Tébessa. Algérie.
- Downer R. G. H., 1985- Lipid metabolism. In *Compr. Insect. Physiol. Biochem. and Pharm.* (G. A. Kerkert et L. I. Gilbert, eds). Pergamon Press. Oxford. **10**: 77-113.
- Downer R. G. H., Spring J. R. et Smith S. M., 1976- Effect of an insect growth regulator on lipid and carbohydrate reserves of mosquitoes pupae (Diptera : Culicidae). *Can. Ent.* **108** : 627-630.
- Duchateau G. et Florkin M., 1959- Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem.* **67** : 306-314.
- Echaubard M. et Le Bras S., 1975- Action d'agents stérilisants sur le taux des protéines de l'hémolymphe de *Musca domestica*. *C. R. Acad. Sc. Paris.* **280** : 89-92.
- Farinos G. P., Smaghe G., Tirry L. et Castanera P., 1999- Action and Pharmacokinetics of a novel growth regulator, Halofenozide, in Adult Beetle of *Aubeonymus mariaefranciscae* and *Leptinotarsa decemlineata*. *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* **41** : 201-213.
- Finney D. J., 1971- *Probit Analysis*, Cambridge Univ. Press, UK. 333p.
- Galois R., 1987- Les lipides neutres chez les crustacés Décapodes : métabolisme et besoins. *Océanis*. Fasc. **2(13)** : 197-215.
- Goldsworthy A. C., Mordue W. et Guthkelch J., 1972- Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* **18** : 306-314.
- Goltzene F., 1979- Etude ultrastructurale du développement normal des ovocytes et des cellules folliculaires chez l'Orthoptère *Locusta migratoria* (L.) *Arch. Anal. Hist. Embr. Norm. and Exp.* **62** : 55-72.

- Gordon R. et Burford I. R., 1984- Effects of methoprene, a juvenile hormone analogue, on the larval and pupal stages of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *J. Insect. Physiol.* **30** : 279-286.
- Grison P. et Leberre J. R., 1953- Quelques conséquences physiologiques de l'inanition chez l'imago de *Leptinotarsa decemlineata* say. (Col : Chrysomelidae). *Rev. Path. Vég. Ent. Agric. Fr.* **32** : 73-86.
- Guehairia H. et Torki R., 2006- Evaluation d'un mimétique des écdystéroïdes RH-2485 sur une espèce de moustiques : aspects écologique, morphométrique et biochimique. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'état en Biologie Animale. Option : Physiologie générale et comparée. C. U. Tébessa. Algérie.
- Guitsevitch A. V., Monchadski A. et Sktakel'Berg A. A., 1974- Fauna of Diptera. *U. S. Departement of Commerce National Technical Information. Va.* pp : 22-51.
- Highnam K. C. et Mordue W., 1966- The endocrine system and oocyte growth in *Schistocera gregaria* in relation to starvation and frontal ganglionectomy. *J. Insect. Physiol.* **12** : 977-994.
- Hoelscher J. A. et Barrett B. A., 2003- Effets des surfaces traitées avec Methoxyfénozide sur l'attraction et la réponse des adultes de *Cydia pomonella* (Lepidoptera : Tortricidae). *J. Entomol. Econ.* **96 (3)** : 623-628.
- Hoffman K. H. et Sorge D., 1996- Vitellogenin levels in allatectomized female crickets *Gryllus bimaculatus* de Geer (Ensifera : Gryllidae). *Arch.Insect. Biochem. Physiol.* **32** : 549-558..
- Hoffman K. H., Meyering-Vos M. et Lorenz W. M., 1999- Allatostatins and allatotropins : Is the relation of corpora allata activity their primary function?. *Eur. J. Entomol.* **96** : 255-266.
- Ishaaya I., Yablonski S. et Horowitz A. R., 1995- Comparative toxicology of two edysteroid agonists, RH-2485 and RH-5992, on susceptible and pyrethroid-resistance strains of the Egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. *Phytoparasitica.* **32** : 139-145.



- Johnson D. R., Lorenz G. M., Hopkins J. D. et Page L. M., 2000- Evaluation of non steroidal ecdysone agonists (Confirm and Intrepid) for control of Heliothine species in cotton. *AAES. Special Report* : 249-254.
- Keely L. L., 1985- Physiology and biochemistry of Fat body in G. A. Kerkut et L. I. Gilbert (eds): *Compr. Insect. Biochem. Physiol. and pharmacol.* Pergamon Press, Oxford. **3** : 211-248.
- Kilby B. A., 1963- The biochemistry of the insect. *Fact. Adv. Insect. Phys.* **1** : 112-174.
- King J. E. et Bennett G. W., 1990- Comparative sterilizing and ovicidal activity of Fenoxycarb and Hydroprene in adults and oothecae of German cockroach (Dictyoptera : Blattellidae). *J. Med. Entomol.* **27**: 642-645.
- Kumar V. S., Santhy M. et Krishnan M., 1999- RH-5992, An ecdysone agonist on model system of the silkworm *Bombyx mori*. *Indian Journal of Experimental Biology.* **38** : 137-144.
- Lakbar C., 2000- Effets de deux régulateurs de croissance, le RH-0345 et le Pyriproxifene sur le developpement de *Tenebrio molitor* (Coleoptera : Tenebrionidae). Magistère en Développement et Reproduction. Univ. Annaba. Algérie.
- Lambreas C. I., Galante F. et Mena I., 1991- Ovarian condition as indicator of the phonology of *Bubas bubas* (Col. : Scaeabeidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.* **84** (2) : 190-194.
- Lamy M., 1964- Electrophorèse des protéines de l'hémolymphe de la piéride du chou (*Pieris brassicae*) au cours de son cycle biologique et de sa diapause nymphale, *P. V. Soc. Sc. Phys. et Nat. Bordeaux.* 241-245.
- Lamy M., 1969- Etude électrophorétique des protéines de l'hémolymphe chez les lépidoptères. Thèse DC. *Nat. Fac. Sc. Bordeaux.* 151 p.
- Landry S. V., De Foliart G. R. et Hogg D. B., 1988- Adult body size and survivorship in a field population of *Aedes triseriatus*. *J. Am. Mosq. Contr. Ass.* **4** : 121-128.

- Lanot R., Thiebold J., Lagueux M., Goltzene F. et Hoffmann J. A., 1987- Involvement of ecdysone in the control of meiotic reinitiation in oocytes of *Locusta migratoria* (Insect : Orthoptera). *Dev. Biol.* **12** : 174-181.
- Laverdure A. M., 1972- L'évolution de l'ovaire chez les femelles adultes de *Tenebrio molitor* : La vitellogénèse. *J. Insect. Physiol.* **18** : 1369-1385.
- Le Bras S., Echaubard M. et Ramade F., 1973- Variations de la protéinémie chez *Musca domestica* au cours d'un cycle gonotrophique dans les conditions normales et après l'action d'agents toxiques. *Bull. Soc. Zool. Fr.* **98** : 385-403.
- Le Bras S. et Echaubard M., 1977- Variations quantitatives des protéines dans les tissus de la mouche domestique (*Musca domestica*) au cours de la vie imaginaire. *Bull. Soc. Zool. France.* **102** (1) : 95-106.
- Lea A. O., 1964- Studies on the dietary and endocrine regulation of autogenous reproduction in *Aedes taeniorhynchus* (Weid). *J. Med. Ent.* **1** : 40-44.
- Lim S. J. et Lee S. S., 1981- The effect of starvation on hemolymph metabolites, fat body and ovarian development in *Oxya japonica* (Acrididae : Orthoptera). *J. Insect. Physiol.* **27** : 93-96.
- Lim S. J. et Lee S. S., 1982- Toxicity of diflubenzuron to grasshopper *Oxya japonica* : Effects on reproduction. *Entomol. Exp. Appl.* **31** (2) : 145-158.
- Mahler H. et Cordes E., 1968- Biological chemistry, Harper and Row.
- Marssal D. B., Pree D. J. et Mc Garvey B. D., 1988- Effects of benzoylphenyl urea insect growth regulators on eggs and larvae of the spotted tentiform leaf miner *Phyllonorycter blancardella*. **120** : 49-62.
- Marty R., 1968- Recherches écologiques et biochimiques sur les orthoptères des pyrénées. Thèse Doc. ESSC. Nat. Fac. Sc. Toulouse. N° **326**.

- Marty R. et Zalta J. P., 1967- Variations intraspécifiques qualitative et quantitative des protéines de l'hémolymphe de *Cophopodisma pyrenae* (Orthoptera : Catantopidae) en fonction des aires biographiques. *C. R. A. Acad. Sci. Paris*. **264** : 643-646.
- Medina P., Budia F., Tirry L., Smagghe G. et Vinuela E., 2001- Compatibility of Spinosad, Tebufenozide and Azadirachtin with Eggs and Pupae of the Predator *Chrysoperla carnea* (*Stephenus*) Under Laboratory Conditions. *Biocontrol Science and Technology*. **11** : 597-610.
- Munoz P. et Sevilla P., 1982- Contribution à l'étude de l'hémolymphe de *Penaeus kerathurus* et *P. japonicus* (Crustacés : Décapodes). Thèse Doctorat 3<sup>ème</sup> cycle en Océanologie. *Univ. Aix Marseille II. Fr.* 142 p.
- Morsli M. S., 1994- Effet d'un dérivé de la benzoylphenylurée, le Dimilin, sur la physiologie de *Penaeus kerathurus* (Crustacea : Decapoda) : Etude structurale et biologique. Magistère en Ecotoxicologie, Univ. Annaba. Algérie.
- Nijhout H. F., 1975- A threshold size for metamorphosis in the tobacco hornworm *Manduca sexta* (L.). *Biol. Bull.* **149** : 214-225.
- Patterson J. W., 1971- Critical sensitivity of the ovary of *Aedes aegypti* adults to sterilization by juvenile hormone mimics. *Nat. New Biol.* **233** : 176-177.
- Patterson J. W., 1974- A comparison of the morphogenetic and sterilizing activities of juvenile hormone mimics on *Aedes aegypti*. *J. Insect Physiol.* **233** : 2095-2106.
- Raccaud-Schoeller, 1980- Les insectes. Physiologie, Développement. *Edition Masson, Paris*. 296 p.
- Rehimi N. et Soltani N., 1999- Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Culex pipiens pipiens* L. (Diptera: Culicidae): effects on development and cuticle secretion. *J. Appl. Entomol.* **123** : 437-441.
- Rouibi A., 2002- Evaluation d'un mimétique des ecdystéroïdes (RH-0345) sur *Blattella germanica* (Dictyoptera : Blattellidae) : Aspects morphométrique et biochimique. Magistère en physiologie animale, Option : Ecotoxicologie, Univ. Annaba, Algérie.

- Ruegg R. P., Orchard I. et Davey K. G., 1992- 20-hydroxyecdysone as a modulator of electrical activity in neurosecretory cells of *Rhodnius prolixus*. *J. Insect. Physiol.* **28** : 243-248.
- Saenz-de-Cabeson F. J., Marco V., Zalom F. G. et Perez-Moreno I., 2005- Effects of methoxyfenozide on *Lobesia botrana* Den and Schiff (Lepidoptera : Tortricidae), egg, larval and adult stages. *Pest. Manag. Sci.* **61** : 1133-1137.
- Salem H. A. M. M., 1984- Changes in the ultrastructure of the fat body and qualitative analysis of the lipid composition in the adult Colorado beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. Say : Phd. Thesis. Fac. Landbouwwetenschappen, R. V. Gent, Belgium.
- Salem H., Smagghe G. et Degheele D., 1997- Effects of tebufenozide on Oocyte growth in *Plodia interpunctella*. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* **62 (1)** : 9-13
- Shibko S., Koivistoinen P., Tratyneck C., New Hall et Feidman L., 1966- A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.* **19** : 415-528.
- Smagghe G. et Degheele D., 1992 a- Effects of the non steroidal ecdysteroid agonist, RH-5849 on reproduction of *Spodoptera littoralis* (B.) (Lepidoptera : Noctuidae). *Parasitica.* **48** : 23-29.
- Smagghe G. et Degheele D., 1992 b- Effect of the first nonsteroidal ecdysteroid agonist on larvae of *Spodoptera littoralis* (Boids) (Lepidoptera : Noctuidae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.* **21** : 119-128.
- Smagghe G. et Degheele D., 1994 a- Action of novel non steroidal ecdysteroid mimic, tebufenozide (RH-5992), on insects of different orders. *Pest. Sci.* **42** : 85-92.
- Smagghe G. et Degheele D., 1994 b- The significance of pharmacokinetics and metabolism to the biological activity of RH-5992 (tebufenozide) in *Spodoptera exempta*, *Spodoptera exigua* and *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest. Biochem. Physiol.* **49** : 224-234.

- Smagghe G. et Deggheele D., 1994 c- Action of nonsteroidal ecdysteroid mimic RH-5849 on larval development and adult reproduction of insects of different orders. *Invert. Reprod. Dev.* **25**: 227-236.
- Smagghe G. et Deggheele D., 1995- Biological activity and receptor-binding of ecdysteroid and the ecdysteroid agonists RH-5849 and RH-5992 in imaginalwing discs of *S.exigua* (Lepidoptera : Noctuidae). *Eur. J. Entomol.* **92** : 330-340.
- Smagghe G., Vinuela E., Van Limbergen H., Budia F. et Tirry L., 1999- Nonsteroidal moulting hormone agonists : Effects on protein synthesis and cuticule formation in Colorado beetle larvae. *Entomol. Exp. Appl.* **93**: 1-8.
- Soltani N., 1990- Action du Diflubenzuron et de la 20-hydroxyecdysone sur les glucides et les protéines hémolymphatiques chez les nymphes de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera : Tenebrionidae). *Annal. Soc. Ent. Fr* (N.S.). **26** : 575-584.
- Soltani N., Aribi N., Berghiche H., Lakbar S. et Smagghe G.,2002- Activity of RH-0345 on Ecdysteroid Production and Cuticule Secretion in *Tenebrio molitor*. pupae *in vivo* and *in vitro*. *Pest. Biochem. and Physiol.* **72** : 83-90.
- Soltani N., Delachambre J. et Delbecque J. P., 1989- Stage-specific effects of Diflubenzuron on ecdysteroid titers during the development of *Tenebrio molitor* : evidence for a change in hormonal source. *Gen. Comp. Endocr.* **76** : 350-356.
- Soltani N. et Rehim N., 2001- Laboratory evaluation of Andalin, a new insecticide interfering with cuticule deposition, against *Culex pipiens*. *Journal Algérien de Médecine*, **11** : 28-33.
- Soltani N. et Soltani-Mazouni N., 1992- Diblubenzuron and oogenesis in colding moth, *Cydia pomonella* (L.) *Pest. Sci.* **34** : 257-261.
- Soltani-Mazouni N. et Soltani N., 1992- Effets du Diflubenzuron sur les métabolites hémolymphatiques et ovariens chez *Tenebrio molitor* au cours de la maturation sexuelle. *Mem. Soc. R. Belg. Ent.* **35** :743-747.

- Soltani-Mazouni N., 1994- Effets d'un régulateur de croissance, le Diflubenzuron, sur la reproduction de *Tenebrio molitor*(L.) : Aspects biologique, biométrique, structurale et biochimique. Thèse Doc. Univ. Annaba. Algérie.
- Soltani-Mazouni N. et Soltani N., 1995- Effets du Diflubenzuron en traitement *in vivo* et *in vitro* sur la morphométrie de l'ovaire de *Tenebrio molitor*. *Med. Fac. Landbow. Univ. Gent.* **60 (35)** : 961-967.
- Soltani-Mazouni N., Taïbi F. et Zerguine K., 2001- Evaluation de deux régulateurs de croissance sur le potentiel reproducteur d'un ravageur des denrées stockées. *Revue Synthèse.* **9** : 95-103.
- Spielman A. et Williams C. M., 1966- Lethal effects of synthetic juvenile hormone on larvae of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Science.* **154** : 1043-1044.
- Steel J. E., 1981- The role of carboxyhydrate metabolism in physiological function. In R. G. H. Downer (ed.): Energy metabolism in insects. Plenum press, New York. pp: 103-133.
- Sun X., Barrett B. A. et Biddinger D. J., 2000- Fecundity and fertility reductions in adults cleafrollers exposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonists, Tebufenozide and Methoxyfenozide. *Entomol. Exp. Appl.* **94** : 75-83.
- Taïbi F., 2000- Activité de quelques effecteurs de la biosynthèse de l'hormone de mue sur la production d'éclystéroïdes ovariens, la ponte et la viabilité des œufs chez *Tenebrio molitor*. Magistère en Physiologie animale, Option : Application agronomiques et médicales, Univ. Annaba. Algérie.
- Taïbi F., Smaghe G., Amrani L. et Soltani-Mazouni N., 2003- Effect of ecdysone agonist RH-0345 on reproduction of mealworm, *Tenebrio molitor*. *Comp. Biochem. Physiol.* **135C** : 257-267.
- Trisyono A. et Chippendale M., 1997- Effect of the non steroidal ecdysone agonists, methoxyfenozide and tebufenozide, on the European cornborer (Lepidoptera : Pyralidae). *J. Econ. Entomol.* **90** : 1486-1492.

- Telfer W. H., Rubenstein E. et Pan M. L., 1981- How the ovary makes yolk in hyalophora, In : F. Sehnal, A. Zalza, J. J. Menn et B. Cymboroski (Eds): Regulation of insect development and behaviour. *Technical Univ. Press, Wroclaw*. pp: 627-634.
- Timmermann S. E. et Briegel H., 1998- Molting and metamorphosis in mosquito larvae: A morphometric analysis. *Mitt. Schweiz. Ent. Ges.* **71**: 373-387.
- Van Handel E. et Day J. F., 1988- Assay of lipids, glycogen and sugars in individual mosquitoes: correlations with wing length in Field collected *Aedes vexans*. *J. Am. Mosq. Contr. Ass.* **4** : 549-550.
- Van Hensden H. C. et Law J. H., 1989- An insect transport particule promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *J. Biol. Chem.* **264** : 17287-17292.
- Wiens A. W. et Gilbert T., 1967- Regulation of carbohydrate mobilization and utilization in *Leucophaea maderae*. *J. Insect. Physiol.* **13** : 779-794.
- Williams C. M., 1967- The juvenile hormone: Its role in the endocrine control of molting, pupation and adult development in the *Ceeroxia* silkworm. *Biol. Bull. Woods. Hol.* **121** : 572-585.
- Wang F. et Sehnal F., 2002- Ecdysteroid agonist RH-2485 injected into *Schistocerca gregaria* (Orthoptera : Acrididae) females accelerates oviposition and enhances ecdysteroid content in eggs. *Appl. Entomol. Zool.* **37** : 409-414.
- Wing K. D. et Ramsay J. R., 1989- Other hormonal agents: Ecdysone agonists. *In Prog. Prospect. Insect. Control. BCPC. Monogr.* **43** : 107-117.

---

**6. RESUME :**

Ce travail vise à évaluer les différents effets d'un agoniste de l'hormone de mue, le RH-2485, sur plusieurs aspects physiologiques (croissance et développement, analyse quantitative des métabolites et reproduction) chez deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*. Le RH-2485 a été appliqué avec les doses (6,45 µg / l et 18,19 µg / l) sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées, de *Culiseta longiareolata* et les doses (6,65 µg / l et 16,58 µg / l) sur *Culex pipiens* selon les recommandation de l'OMS. L'étude morphométrique réalisée sur la largeur du thorax pour les stades immatures (Larve 4 et puppe) et la longueur des ailes chez les adultes (mâle et femelle), a permis de préciser le volume corporel des individus témoins et traités des deux espèces de moustiques. Le RH-2485, DL50, évalué sur différents aspects morphométriques des ovaires des femelles de différents âges (2, 4 et 6 jours), entraîne une réduction significative du nombre d'ovocytes, de la taille et du volume de l'ovocyte basal, et ceci chez les deux espèces de moustiques étudiées. L'étude biochimique, réalisée dans le corps entier des différents stades (Larve 4, puppe, mâle et femelle), et dans les ovaires à différents âges (0, 2, 4 et 6 jours) révèle que les protéines, les glucides et les lipides diminuent significativement chez les séries traitées au RH-2485 comparativement aux séries témoins pour les deux espèces testées. De plus, on remarque d'une part que *Culiseta longiareolata* est la plus riche en réserves nutritives (protéines, glucides et lipides) comparativement à *Culex pipiens* et cela pour tous les stades étudiés, et d'autre part *Culex pipiens* est l'espèce la plus affectée par le RH-2485.



---

**ABSTRACT:**

This work aims to evaluate a new ecdystéroïd agonist, RH-2485, with different physiological aspects (growth and development, quantitative analysis of metabolites and reproduction) on two species of mosquitoes, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. RH-2485 was applied at doses : (6,45 µg / l et 18,19 µg / l) against the fourth instar larvae of *Culiseta longiareolata* and (6,65 µg / l et 16,58 µg / l) against *Cx. pipiens* according to recommendation of WHO. The morphometric study realized on the thorax width in the premature stages (fourth instar larvae and pupae), the wing length in the adults (male and female), has allowed the body volume of treated and control series of the two species. Results on the effects of the RH-2485 (DL50) on different morphometrics parameters of ovaries of different ages (2, 4 and 6 days following adult emergence) show a significant reduction on ovocyte number, size and volume of basal ovocyte in both of *Cx. pipiens* and *C. longiareolata*. The biochemical study has been realized on both of entire body of some developmental stages (fourth instar larvae, pupae, male and female adults) and ovaries of different ages (0, 2, 4 and 6 days). The obtained results showed that proteins, carbohydrates and lipids decrease significantly in treated series comparatively with the control series in the tow species of mosquitoes used. Moreover, we distinguish on the one hand, that *C. longiareolata* is richer in metabolites than *Cx. pipiens* on the other hand, *Cx. pipiens* is the most affected specie by the RH-2485.