

1. Introduction

Les processus biologiques assurant le cycle de vie des organismes, la croissance, le développement, la reproduction et la maintenance nécessitent d'importants besoins en termes d'allocation énergétique (Kooijman 2000). La maintenance rassemble les coûts liés aux processus nécessaires à la vie de l'organisme. Par exemple, les coûts énergétiques associés au métabolisme protéique, afin notamment d'assurer le renouvellement des systèmes enzymatiques sont inclus dans la quantité d'énergie allouée à la maintenance. Les autres coûts dits de production, regroupent la croissance, le développement et la reproduction. Le cadre général regroupant la dynamique de tous ces processus et des flux associés suit le principe de l'homéostasie, qui s'applique à l'ensemble de l'organisme (masse structurelle et réserves) tout au long de sa vie (Kooijman 2000). Selon ce principe, la composition chimique des composants cellulaires est stable, bien que leurs durées de vie soient limitées, ces derniers sont constamment renouvelés grâce à la machinerie cellulaire.

Parmi les grandes fonctions consommatrices d'énergie (développement, croissance, reproduction et maintenance), Briegel (2003) a fortement contribué à la compréhension des processus physiologiques de base, comme la digestion, l'excrétion, l'oogenèse, la synthèse de réserves ou encore les capacités de vol et des stratégies énergétiques associées, chez des espèces de moustiques. Il a par ailleurs été montré chez de nombreuses espèces d'insectes que les réserves nutritionnelles stockées durant la phase larvaire peuvent être directement réallouées à d'autres fonctions au stade adulte (Boggs & Fogel 2005 in Reim *et al.*, 2006). Des processus impliqués dans la tolérance ou la résistance au stress entrent en compte quant à la gestion des ressources énergétiques (Sawabe & Mogi 1999, Marron *et al.*, 2003).

Le développement post-embryonnaire des insectes est caractérisé par des mues successives permettant la croissance et le changement morphologique de l'animal (Nijhout, 1994 ; Riddiford, 1996). Cet état physiologique dépend des molécules biologiques appelées hormones ; essentiellement les ecdysteroides et les hormones juvéniles (Braquart, 1998; Dhadialla *et al.*, 2005). La croissance et la métamorphose de ces insectes sont contrôlées par l' α et β ecdysone, cette dernière est la plus active (Doane, 1973).

Les fonctions de l'ecdysone dans la biologie reproductive des insectes varient grandement d'une espèce à l'autre. Ce sont chez les moustiques anautogènes que son activité gonadotrope a été la plus étudiée et décrite, plus particulièrement chez le moustique de la fièvre jaune, *Aedes aegypti* (Dallaire, 2003). Le volume des moustiques peut influencer

quelques paramètres essentiels tel que le volume du repas sanguin consommé, le degré de son utilisation dans les voies métaboliques et le nombre d'œufs qui arrivent à maturation (Rehimi, 2004; Djebbar, 2009). Lors du développement larvaire l'hémolymphe subit des modifications métaboliques diverses. Ceci est lié aux différents états physiologiques tels que la nymphose, mue imaginale et diapause (Nowosielski & Patton, 1965). Ces derniers ont remarqué des forts changements des concentrations protéines, acides aminés et lipides. Ces modifications métaboliques intenses sont liées aux divers systèmes hormonaux et sont contrôlés par un mécanisme neuroendocrinien (Gade *et al.*, 1997) ou à leur transport de site de stockage (le corps gras) via l'hémolymphe vers les organes utilisateurs, notamment la cuticule (Dapporto *et al.*, 2008) et pour la vitellogénèse (Zhou & Miesfeld, 2009). Le corps gras est l'organe de la conversion et de stockage des lipides, des glucides et des protéines (Chapman, 1998; Arrese & Soulages 2010). Chez les moustiques, la synthèse des lipides et des protéines se fait au niveau de cet organe au quatrième stade larvaire (Timmermann & Briegel, 1999). Le taux des glucides et des lipides chez l'adulte est le résultat des réserves stockées pendant le stade larvaire (Clements, 1996).

Les études moléculaires ont révélé que les effets des agonistes de la 20E sur la reproduction des insectes étaient dus à la perturbation de l'expression génique dans la cascade de la hiérarchie de la vitellogenèse et / ou choriogenèse (Swevers & Iatrou 1999, 2003; Sun *et al.*, 2003). L'effet d'un analogue de l'ecdysone, le méthoxyfénozide a été observé *in vivo* sur le développement et la reproduction, en réduisant la fécondité et la fertilité sur différents modèles biologiques (Saenz-de-Cabezón *et al.*, 2005; Dhadialla *et al.*, 2005; Djebbar, 2009; Rodriguez *et al.*, 2010; Bouzareaa, 2014; Selmane-Meskache, 2014).

Dans ce chapitre nous envisageons d'évaluer l'efficacité du méthoxyfénozide et de déterminer si ce composé a un impact sur la composition biochimique des métabolites, la durée de développement, et le potentiel reproducteur de *Culiseta morsitans* espèce d'importance vétérinaire.

2. RESULTATS

2.1 Effet du méthoxyfénozide sur la composition biochimique

Le méthoxyfénozide a été administré à la CL₅₀ (0,059 mg/L) à des larves nouvellement exuviées du quatrième stade. Les effets de ce composé ont été évalués sur poids corporel à différents âges (0, 2, 4, et 6 jours), puis sur le contenu en protéines, glucides et lipides de ces mêmes individus. La variabilité des résultats entre les témoins et les traités a été évaluée statistiquement à partir du test «t» de student.

2.1.1 Effet du méthoxyfénozide sur le poids

Les résultats obtenus révèlent une augmentation progressive du poids corporel chez les témoins, qui est significative à 2 jours ($p = 0,010$). Chez les séries traitées par le méthoxyfénozide à la CL₅₀ une augmentation très significative est aussi remarquée à 4 jours ($p = 0,009$). La comparaison statistique des valeurs entre les individus témoins et traités révèle une réduction significative du poids à 2 jours ($p = 0,010$), 4 jours ($p = 0,027$) et à 6 jours ($p = 0,042$) (Tab.22, Fig.23).

Tableau 22: Effet du méthoxyfénozide (RH–2485) (CL₅₀) sur le poids (mg) des larves du dernier stade (L4) de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 3$): Comparaison des moyennes entre les différentes séries.

Traitement Age (Jours)	Témoins	RH - 2485
0	1,46 ± 0,27 A a	1,24 ± 0,10 A a
2	3,09 ± 0,30 B a	1,55 ± 0,09 A b
4	3,53 ± 1,06 B a	2,63 ± 0,37 B b
6	4,97 ± 0,39 B a	3,20 ± 0,71 C b

Les moyennes suivies de lettres différentes ne sont pas significatives au seuil $p > 0,05$.

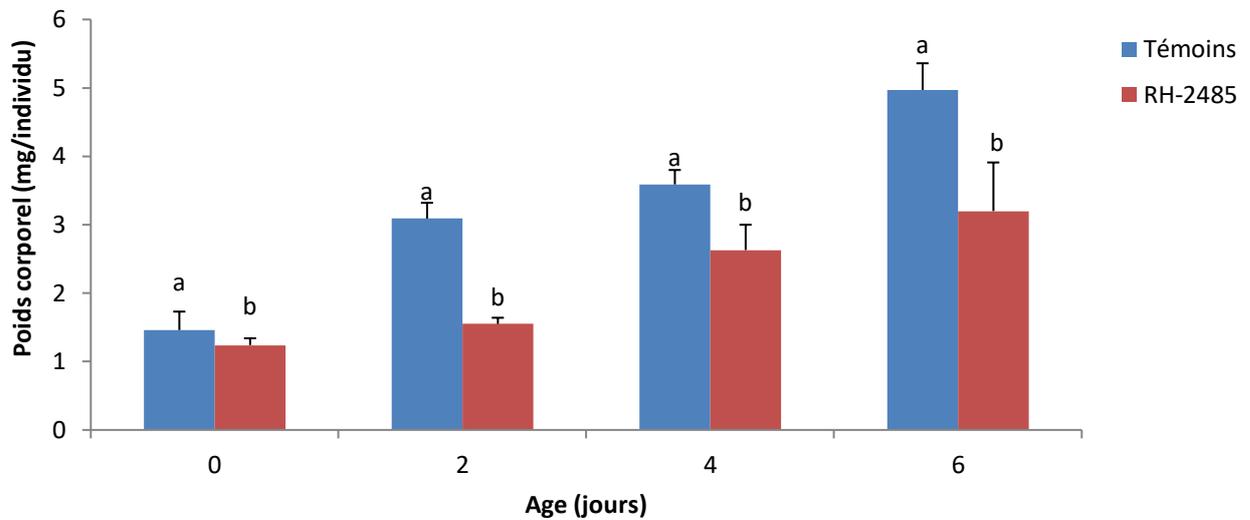


Figure 23. Effet du méthoxyfénozide (RH–2485) sur le poids des larves nouvellement exuviées du quatrième stade à différents âges chez *Cs. morsitans* ($m \pm SD$, $n = 3$).

2.1.2. Effet sur le contenu en protéines

Une courbe de référence établie à partir d'une gamme d'étalonnage standard des protéines nous a permis d'en déterminer les absorbances à partir desquels nous avons dosé les protéines.

D'après la droite de régression $y = 0,0106x + 0,006$, nous avons calculé les quantités de protéines des larves du quatrième stade à différents âges chez *Cs. morsitans* (Tab. 23, Fig. 24). Nous remarquons que le contenu en protéine augmente progressivement chez les témoins et brusquement dès le quatrième jour chez les traités où il atteint respectivement des valeurs maximales à 6j (32,68 et 28,77 μ g/ind) (Tab.24, Fig. 25).

La comparaison des moyennes entre les témoins et traités montre une réduction significative du contenu en protéines à 2 jours ($p = 0,010$), 4 jours ($p = 0,017$) et à 6 jours ($p = 0,028$).

Tableau 23: Dosage des protéines totales : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité d'albumine (μg)	0	20	40	60	80	100
Absorbances (D.O)	0	0,221	0,404	0,705	0,828	1,061

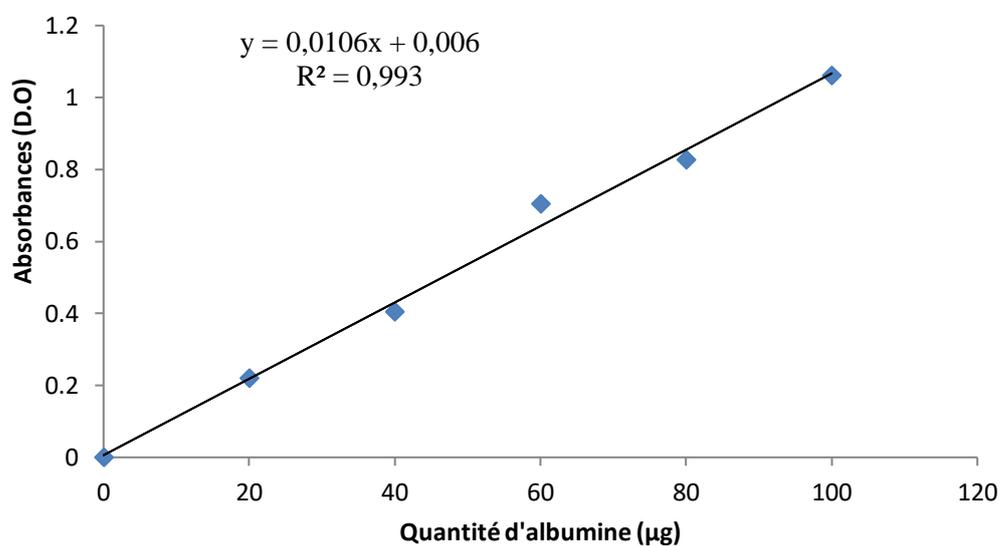


Figure 24. Dosage des protéines totales: courbe de référence exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg).

Tableau 24: Effet du RH-2485 (CL₅₀) sur le contenu en protéines (µg/individu) des larves de *Cs. morsitans* (m ± SD ; n = 3): Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules).

Traitement \ Age (jours)	Témoins	RH - 2485
0	8,86 ± 2,67 A a	8,47 ± 3,38 A a
2	27,91 ± 0,73 B a	17,2 ± 0,56 B b
4	28,30 ± 3,91 B a	20,52 ± 2,10 B b
6	32,68 ± 0,99 B a	28,77 ± 1,51 C b

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil p < 0,05

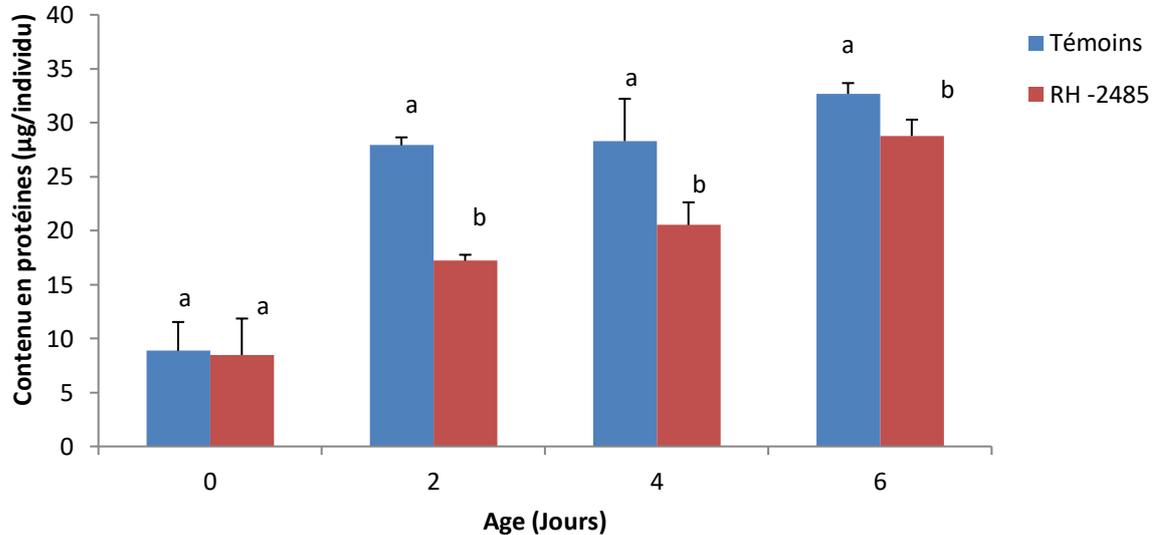


Figure 25. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en protéines (µg/individu) des larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* (m ± SD ; n = 3)

2.1.3 Effet sur le contenu en glucides

La quantification des glucides a été faite à partir d'une courbe de régression exprimant l'absorbance en fonction de la quantité de glucides obtenus par la gamme d'étalonnage

(Tab.25, Fig. 26). Les résultats révèlent une variabilité du contenu en glucides entre les traités et les témoins (Tab. 26, Fig. 27). Un effet significatif est enregistré à 2 jours ($p = 0,027$) et à 6 jours ($p = 0,033$). La comparaison statistique des valeurs, entre les individus témoins n'indique aucune augmentation significative ($p > 0,05$) par ailleurs une augmentation significative du contenu est révélée à 4 jours ($p < 0,05$) entre les séries traitées.

Tableau 25: Dosage des glucides totaux: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité d'albumine (μg)	0	20	40	60	80	100
Absorbances (D.O)	0	0,164	0,396	0,591	0,766	0,960

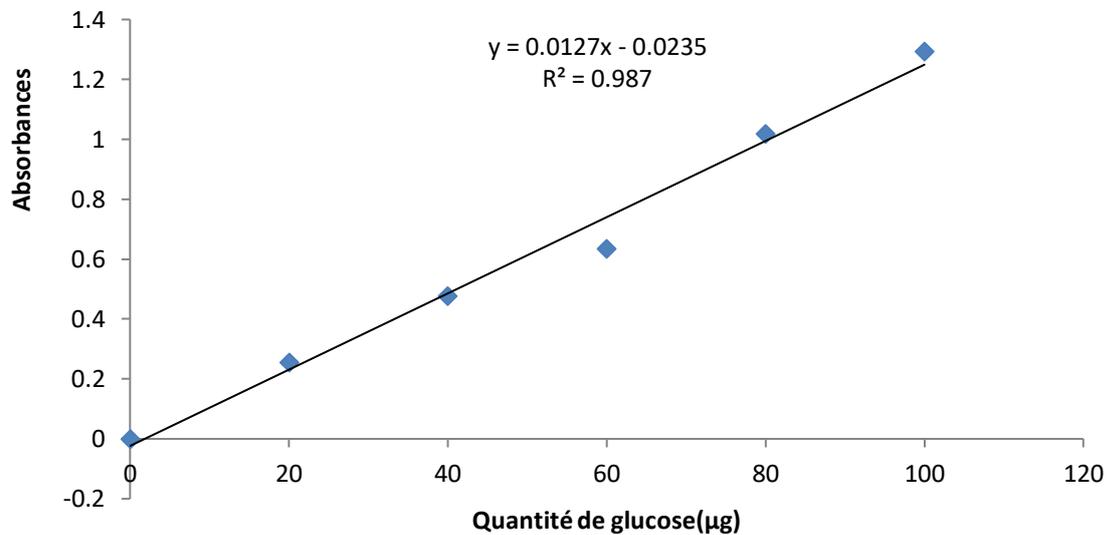


Figure 26. Dosage des glucides totaux : courbe de référence exprimant l'absorbance à 595 nm en fonction de la quantité d'albumine (μg).

Tableau 26. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en glucides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des larves de *Cs. morsitans* ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$): Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (Lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (Lettres minuscules).

Traitement \ Age (jours)	Témoins	RH - 2485
0	20,42 \pm 2,68 A a	18,15 \pm 2,79 A a
2	25,32 \pm 5,56 A a	11,97 \pm 2,40 A b
4	31,45 \pm 1,86 A a	20,88 \pm 2,14 B a
6	33,99 \pm 4,44 A a	24,14 \pm 1,87 B b

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil $p < 0,05$

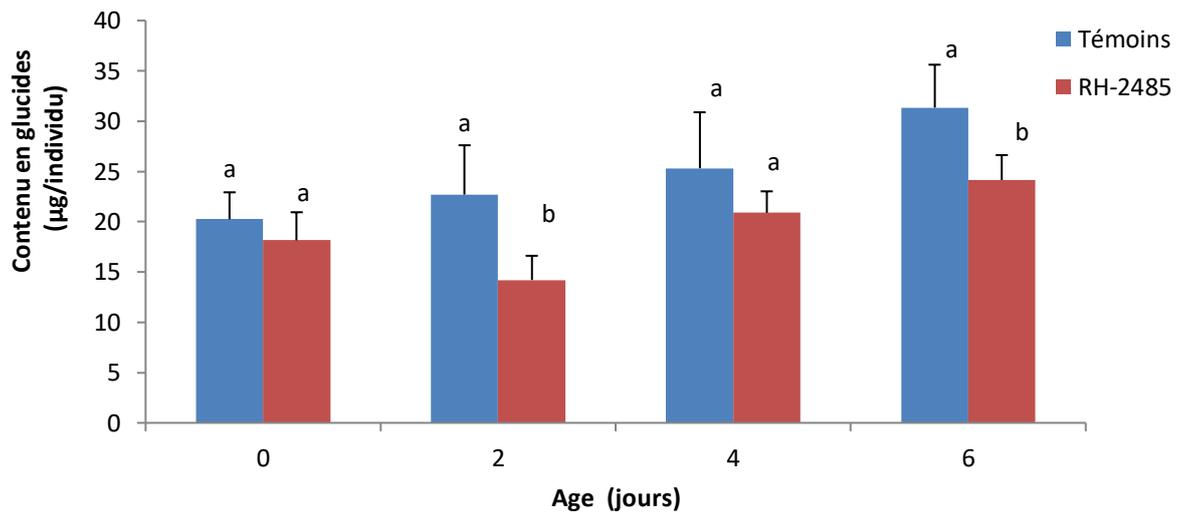


Figure 27. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en glucides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des larves nouvellement exuviées de quatrième stade de *Cs. morsitans* ($m \pm \text{SD}$; $n = 3$)

2.1.4 Effet sur le contenu en lipides

Les absorbances mentionnées dans le tableau 27 ont été réalisées à partir d'une gamme d'étalonnage standard les lipides, lesquels nous ont permis à partir d'une droite de régression de calculer les quantités des lipides des larves de *Cs. morsitans* (Fig. 28).

Les résultats de ce dosage présentés dans le tableau 28 et figure 29 révèlent une variation par rapport aux témoins. Une différence significative est enregistrée à 2 jours ($p = 0,006$) et à 6 jours ($p = 0,019$). Par contre dans les séries témoins, il n'existe pas de différence significative ($p > 0,05$), alors que chez les traités cette différence se situe entre 0 jours et le 2^{ème} jour.

Tableau 27: Dosage des lipides totaux: réalisation de la gamme d'étalonnage.

Quantité de lipide (μg)	0	20	40	60	80	100
Absorbances (D.O)	0	0,086	0,161	0,255	0,344	0,407

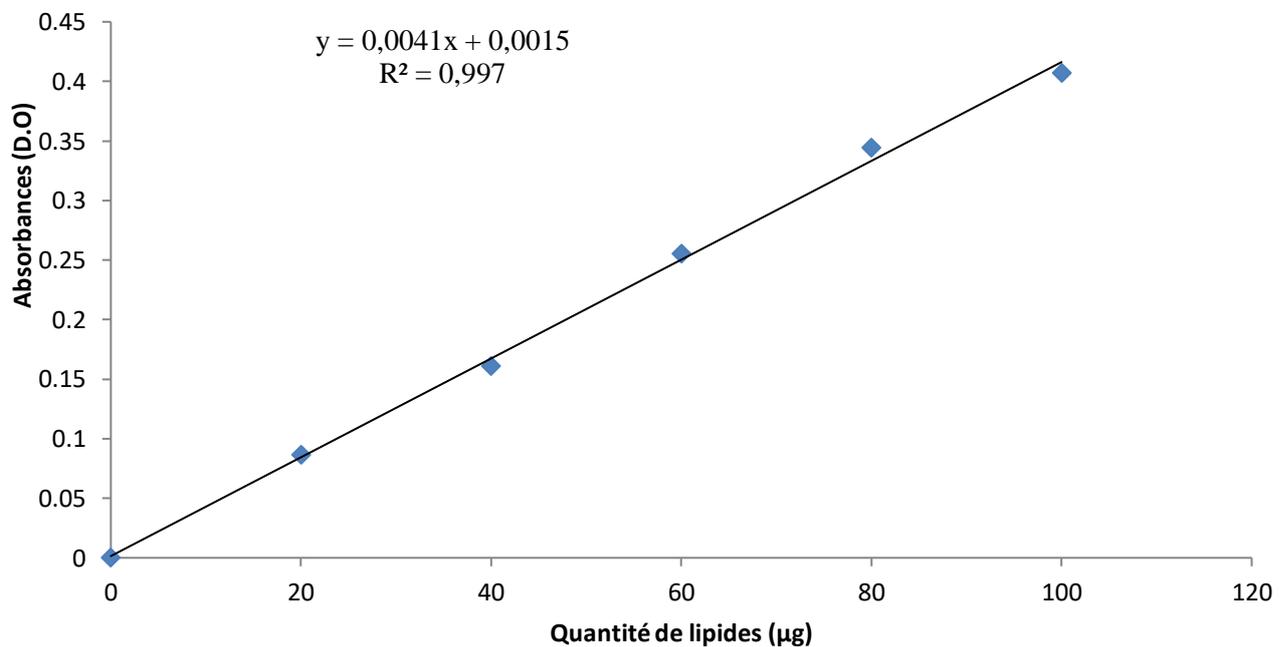


Figure 28. Dosage des lipides totaux: courbe de référence exprimant l'absorbance à 620 nm en fonction de la quantité de lipide (μg).

Tableau 28. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en lipides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des larves de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 3$): Comparaison des moyennes à différents âges pour une même série (lettres majuscules) et pour un même âge entre les différentes séries (lettres minuscules).

Traitement \ Age (jours)	Témoins	RH - 2485
0	11,58 \pm 0,90 A a	10,17 \pm 1,10 A a
2	13,42 \pm 1,83 A a	6,35 \pm 1,27 B b
4	16,16 \pm 4,8 A a	12,60 \pm 1,49 B a
6	24,75 \pm 3,74 A a	15,94 \pm 1,52 B b

Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil $p < 0,05$

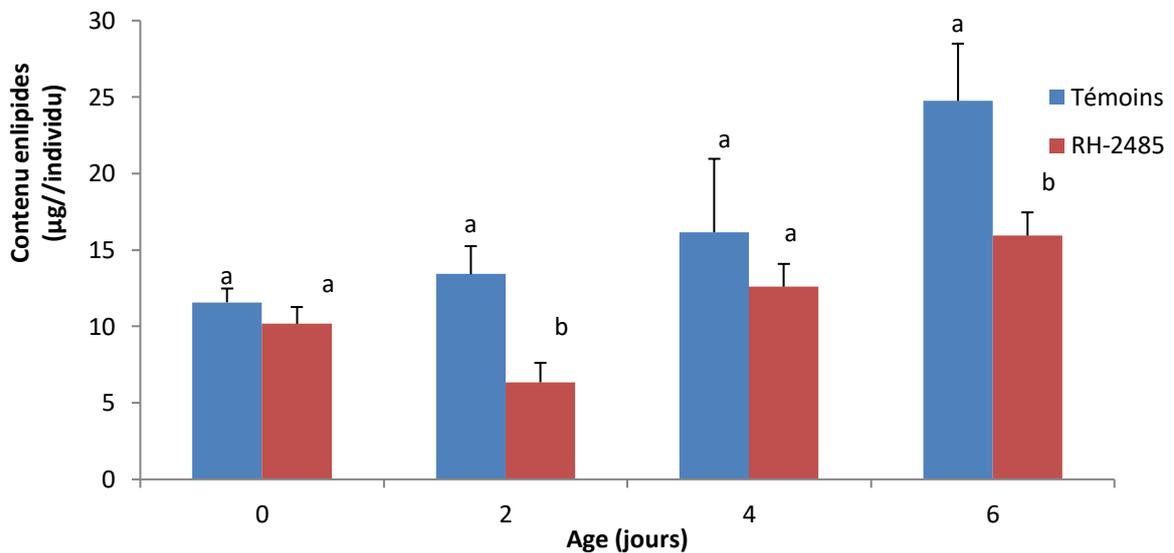


Figure 29. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur le contenu en lipides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) des larves de quatrième stade de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n = 3$).

2.2 Effet du méthoxyfénozide sur la durée de développement

Le suivi de la durée de développement des larves du quatrième stade et des pupes (nymphe) de *C. morsitans* après traitement au RH-2485 montre une accélération du développement. D'ailleurs les résultats consignés dans les tableaux 29 et 30 et figures 30 et 31, mettent en évidence une nette influence du méthoxyfénozide sur la durée de développement des larves du stade 4 et des nymphes.

La durée moyenne de développement des L4 des séries traitées est de $4,90 \pm 1,04$ jour alors que les L4 des séries témoins achèvent leur développement au bout de $7,12 \pm 1,73$ jour. Enfin la durée de la mue imaginale est de $1,65 \pm 0,47$ jours pour les séries traitées contre 2,62 jours pour les témoins. La comparaison entre témoins et traités montre une différence très significative de la durée de développement pour les larves du quatrième stade ($p < 0,001$). Une différence significative a aussi été révélée au cours de la mue imaginale entre les séries témoins et traitées ($p < 0,05$).

Tableau 29 : Effet du méthoxyfénozide (RH- 2485) sur la durée moyenne (jours) de développement des larves du quatrième stade (L4) et des nymphes de *Cs. morsitans* (m \pm SD; n = 5).

Traitement / Répétitions	L4		Nymphe	
	Témoins	RH-2485(CL ₅₀)	Témoins	RH-2485(CL ₅₀)
1	7,37 \pm 1,21	4,33 \pm 1,02	2,55 \pm 0,68	1,33 \pm 0,47
2	6,22 \pm 1,66	4,14 \pm 1,05	2,11 \pm 0,56	1,66 \pm 0,47
3	7,26 \pm 1,43	4,62 \pm 1,21	2,25 \pm 0,43	1,85 \pm 0,37
4	7,15 \pm 1,28	4,87 \pm 0,92	2,90 \pm 0,73	1,60 \pm 0,48
5	7,12 \pm 1,73	4,90 \pm 1,04	2,50 \pm 0,67	1,50 \pm 0,50
m \pm SD	7,12 \pm 1,47	4,51 \pm 1,21	2,62 \pm 0,72	1,65 \pm 0,47

Tableau 30: Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur la durée moyenne (jours) de développement des larves du quatrième stade (L₄) et des nymphes de *Cs. morsitans* (m ± SD; n = 5).

Traitement Stades	Témoins	RH-2485 (CL ₅₀)	Test « t »
L ₄	7,12 ± 1,73 a	4,51 ± 1,21 b	p = 0,000*** p < 0,001
Nymphe	2,62 ± 0,72 a	1,65 ± 0,47 b	p = 0,013* p < 0,005

Les moyennes suivies des lettres différentes sont significatives au seuil p < 0,05

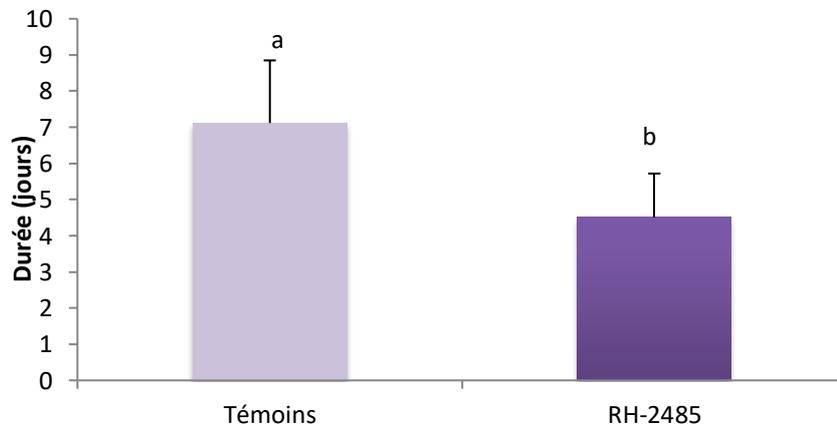


Figure 30. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur la durée moyenne (jours) de la nymphose de *Cs. morsitans* (m ± SD ; n= 5).

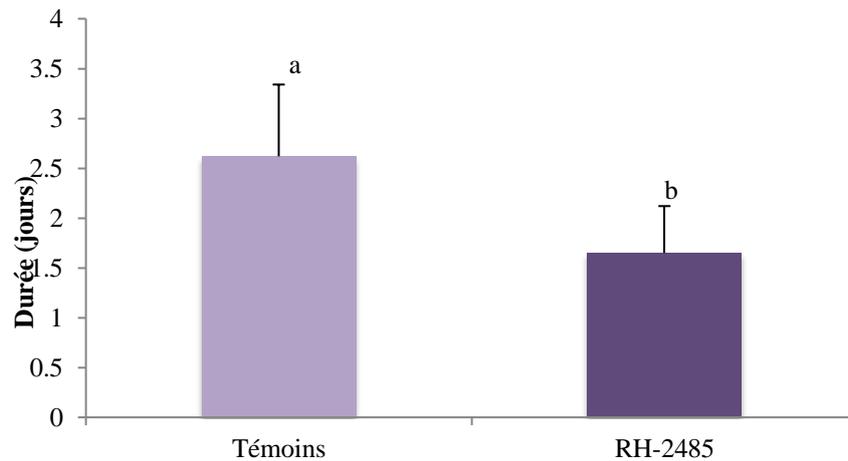


Figure 31. Effet du méthoxyfénozide (RH-2485) sur la durée moyenne de développement (jours) de la mue imaginale de *Cs. morsitans* ($m \pm SD$; $n=5$).

2.3. Effet du méthoxyfénozide sur le potentiel reproducteur

Le méthoxyfénozide appliqué sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs. morsitans* a été évalué sur la fécondité et la fertilité, dans les conditions expérimentales (Température $25 \pm 2^\circ\text{C}$, humidité relative $70 \pm 5\%$). Les individus ayant survécu au traitement, ont présenté des perturbations des paramètres de reproduction (fécondité, fertilité).

2.3.1. Effet du méthoxyfénozide sur la fécondité et sur la fertilité

Le traitement effectué sur les larves nouvellement exuviées du quatrième stade de *Cs. morsitans* présente un effet différé sur les paramètres de la reproduction des adultes qui survivent. En effet, la molécule testée (méthoxyfénozide), a affecté considérablement, la reproduction de *Cs. morsitans*, en produisant un pourcentage élevé de stérilité. Chez les témoins, une production moyenne de $262 \pm 7,32$ œufs contre $96,67 \pm 5,51$ œufs à une concentration plus élevée 0,048 mg/L. Aucun œuf pondu à la concentration la plus élevée 0,072 mg/L (Tab.31, Fig. 32). Le taux de fertilité chez les témoins est de 100%, contre $37,82 \pm 3,18\%$ à 0,048 mg/L. (Tab 31, Fig. 33).

Tableau 31: Toxicité du méthoxyfénozide sur la fécondité et fertilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n=3$)

Traitement (mg/L)	Témoins	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072

Fécondité	262±7,21 a	218,67 ±6,11 b	179,00±4,00 c	138,33±3,51 d	96,67±5,51 e	-----
Fertilité (%)	100±0,00 a	91,73±3,60 b	67,52±4,04 c	54,20±3,79 d	37,82±3,18 e	-----

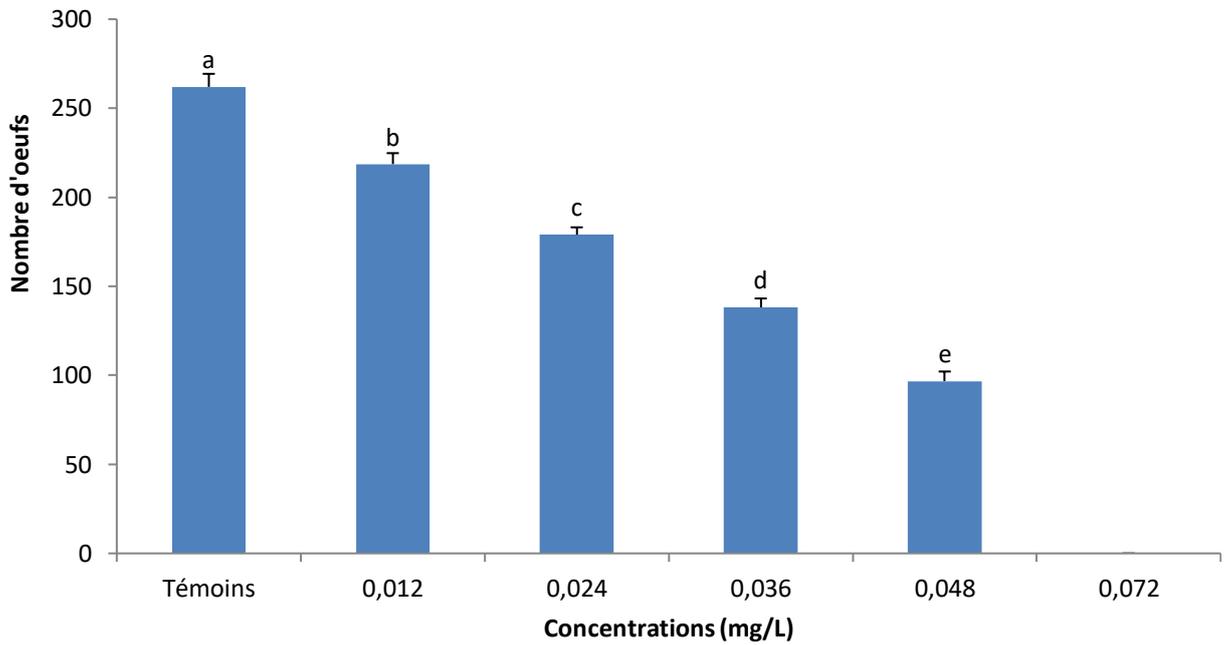


Figure 32. Fécondité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n= 3$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil ($p < 0,05$).

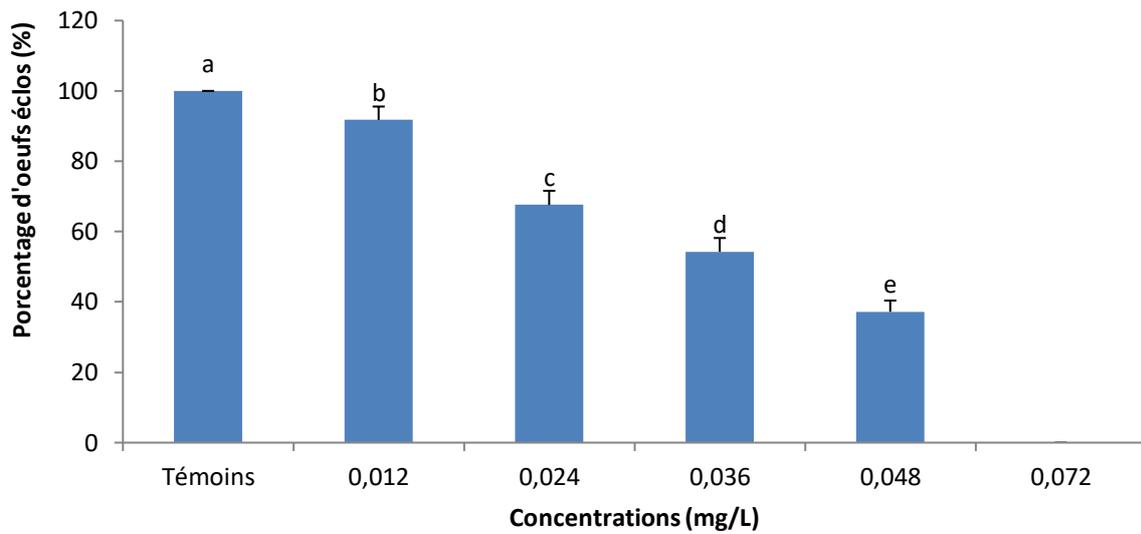


Figure 33. Fertilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n= 3$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil ($p < 0,05$).

L'ANOVA (Tab. 32 et 33) des données obtenues montre un effet traitement très hautement significatif $p < 0,001$. Le test de Tukey permet le classement des différentes concentrations en 5 groupes. Les résultats montrent, une réduction significative $p < 0,001$ du nombre d'œufs pondus comparés aux témoins. De même, la fertilité est significativement $p < 0,001$ réduite. Notons également une fertilité nulle à la concentration la plus élevée (0,072mg/).

Tableau 32: Fécondité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide: analyse de la variance: ($m \pm SD$; $n= 3$).

Source	DL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	4	50684,90	12671,20	428,08	< 0,001
Erreur	10	296,00	29,60		
Total	14	50980,90			

Tableau 33: Fertilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide: analyse de la variance: ($m \pm SD$; $n= 3$).

Source	DL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	4	8107,90	2027,0	188,58	<0,001
Erreur	10	107,50	10,70		
Total	14	8215,40			

2.3.2 Effet du méthoxyfénozide sur la stérilité

L'effet différé du méthoxyfénozide a affecté considérablement la fertilité de *Cs. morsitans*, se traduisant par une stérilité évoluant progressivement avec l'augmentation des concentrations. Le taux de stérilité est de $24,05 \pm 1,38$ % à la concentration la plus faible 0,012 mg/L, $87,0 \pm 2,46$ % pour la concentration 0,048 mg/L et 100% à la concentration la plus élevée (0,072 mg/L) (Tableau 33, Figure33). En effet l'analyse de la variance (Tableau 34) révèle un effet très hautement significatif $p < 0,001$. Le test de Tukey nous permet de distinguer cinq groupes comportant respectivement les concentrations 0,012, 0,024, 0,036, 0,048 et 0,072 mg/ L.

Tableau 34. Toxicité du méthoxyfénozide sur la Stérilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n= 3$).

Traitement (mg/L)	0,012	0,024	0,036	0,048	0,072
Stérilité (%)	$24,05 \pm 1,38$ a	$54,13 \pm 2,37$ b	$72,10 \pm 3,02$ c	$87,06 \pm 2,46$ d	$100 \pm 0,00$ e

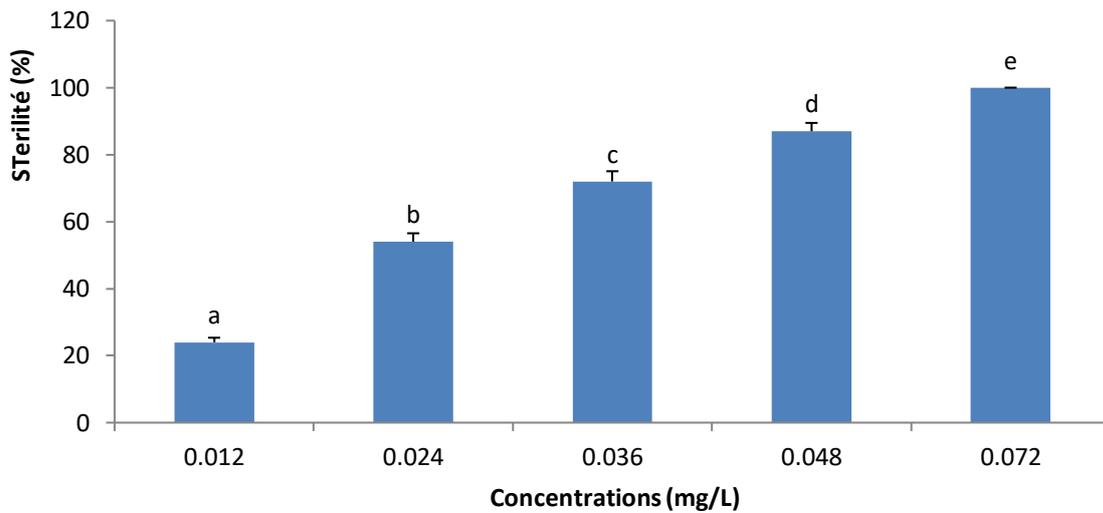


Figure 34. Stérilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves nouvellement exuviées du quatrième stade avec le méthoxyfénozide ($m \pm SD$; $n= 3$). Les moyennes suivies de lettres différentes sont significatives au seuil ($p < 0,05$).

Tableau 35: Stérilité de *Cs. morsitans* après traitement des larves du quatrième stade avec le méthoxyfénozide: analyse de la variance: ($m \pm SD$; $n= 3$).

Source	DL	SC	CM	Fobs	P
Traitement	4	15062,49	3765,62	840,76	<0,001
Erreur	10	44,79	4,48		
Total	14	15107,28			