

***Action du Diflubenzuron sur la croissance,
la reproduction et l'évolution des
ecdystéroïdes hémolymphatiques,
ovariens et embryonnaires chez le Criquet
pèlerin, Schistocerca gregaria (Forskål,
1775)***

Présentée par Mme:

Hallil-Tail Ghania

Directrice de thèse : Mme. Doumandji-Mitiche B. Professeur (INA d'El Harrach)

Co-Directeur de thèse : Mr. Porcheron P. Professeur (Univ. Paris VI France)

Devant le jury composé de : Président : Mr. Doumandji S. Professeur (INA d'El Harrach)

Examinatrices : Mme. Soltani-Mazouni N. Professeur (Univ. Annaba) Mme Guendouz-Benrima A.

Maître de conférence (Univ. Blida) Mme Mouhouche F. Maître de conférence (INA d'El Harrach)

Table des matières

REMERCIEMENTS . .	5
RESUME . .	7
Introduction générale . .	8
CHAPITRE I. Généralités . .	11
I- Le Criquet pèlerin <i>Schistocerca gregaria</i> (Forskål, 1775) . .	11
A- Systématique et cycle de vie de <i>S. gregaria</i> . .	11
B- Théorie des phases ou polymorphisme phasaire . .	14
C- Eco-répartition . .	17
II- Le tégument : Structure et Composition chimique . .	19
A- Structure . .	19
B- Composition chimique . .	20
C- Changement du tégument au cours du processus de mue . .	21
III- L'appareil reproducteur femelle . .	23
IV- Les ecdystéroïdes . .	26
A- Définition . .	27
B- Schéma général de la voie de synthèse de l'ecdysone . .	27
C- Rôles . .	30
V- La lutte antiacridienne . .	33
A- Les régulateurs de la croissance des insectes . .	35
Chapitre II : Matériel et Méthodes . .	39
I- MATERIEL . .	39
A- Matériel biologique : Origine et conditions d'élevage de l'insecte . .	39
B- le diflubenzuron . .	39
II- METHODES . .	39
A- Traitement par le Diflubenzuron . .	39
B- Prélèvement des échantillons . .	42
C- Dosage des protéines totales et de la chitine de la cuticule sternale abdominale des larves. . .	43
D- Dosage enzymo-immunologique (EIA) des ecdystéroïdes dans l'hémolymphe, dans les ovaires et dans les œufs . .	43
E- lyse statistique : . .	48
Chapitre III : Effets globaux du diflubenzuron sur le développement des larves du criquet pèlerin <i>Schistocerca gregaria</i> . . .	49
I- étiologie de mortalité des larves de 4 ^e et 5 ^e stade de <i>S. gregaria</i> . .	49
II- Evaluation des TL50 . .	51
III- Evolution pondérale . .	53
IV- Durée du stade larvaire . .	55
V- Atteintes morphogénétiques . .	55
VI- Effets sur la cuticule des larves . .	57
A- Effets sur le poids sec de la cuticule . .	57
B- Effet du DFB sur le taux de protéines cuticulaires . .	58

C- Effet sur le taux de chitine . . .	59
Chapitre IV : Effets globaux du Diflubenzuron sur la reproduction et le développement génésique des femelles du criquet pèlerin, Schistocerca gregaria . .	61
I- Effets globaux sur la reproduction des femelles . . .	61
A- Délai d'émission de la première ponte . . .	61
B- L'intervalle du temps séparant deux pontes successives . . .	62
C- Nombre d'œufs par oothèque (fécondité) et taux d'éclosion (fertilité). . .	62
D- Poids des œufs . . .	63
II- Effets globaux sur le poids de l'ovaire et la croissance ovocytaire . . .	64
A- Poids des ovaires . . .	64
B- Taille de l'ovocyte de base . . .	65
C- Résorption ovocytaire . . .	66
Chapitre V : effets du diflubenzuron sur l'évolution des taux écdystéroïdes du criquet pèlerin, Schistocerca gregaria . .	68
I- Effets du DFB sur les taux hormonaux larvaires . . .	68
II- Effet du DFB sur les taux hormonaux des femelles adultes . . .	69
A- Ecdystéroïdes hémolymphatiques . . .	69
B- Ecdystéroïdes ovariens . . .	71
C- Ecdystéroïdes embryonnaires . . .	72
Chapitre VI : Discussion . . .	75
I- Effets du DFB sur le développement larvaire . . .	75
A- Activité insecticide . . .	75
B- Effet sur la morphogenèse cuticulaire . . .	76
II- Effet du DFB sur la reproduction . . .	79
A- Effets du DFB sur le potentiel reproducteur des femelles . . .	79
B- Effets sur le développement génésique des femelles . . .	80
III- Effets du DFB sur le contrôle endocrine de la croissance et de la reproduction . . .	81
A- Effet du DFB sur le contrôle endocrine de la croissance larvaire . . .	81
B- Effet du DFB sur le contrôle endocrine de la reproduction des adultes . . .	82
C- effets du DFB sur le contrôle endocrine du développement embryonnaire . . .	84
conclusion générale . . .	87
Références bibliographiques . . .	90
Annexes . . .	107

REMERCIEMENTS

A l'issue de ce travail de recherche, je tiens tout particulièrement à remercier Mme Bahia Doumandji-Mitiche, Professeur à l'Institut National Agronomique d'El Harrach à Alger, pour ses enseignements, ses précieux conseils, son soutien, pour sa patiente aide, notamment pour les problèmes administratifs, ainsi que sa disponibilité à tout moment.

Mes sincères remerciements vont également à Monsieur Patrick Porcheron, Professeur à l'Université Pierre et Marie-Curie de Paris 6, pour avoir accepté de co-diriger avec beaucoup d'attention et de soin cette thèse. Je lui suis très reconnaissante pour sa disponibilité, sa bienveillance et son soutien permanent, et d'avoir prêté un intérêt constant au sujet de la thèse. Je lui dois beaucoup pour le contenu du travail présenté, pour ses critiques constructives et son aide aux différentes entraves rencontrées, pour sa gentillesse et ses qualités humaines.

Qu'il me soit permis d'exprimer ma profonde gratitude à Monsieur Salaheddine Doumandji, Professeur à l'Institut National Agronomique d'El Harrach à Alger, pour m'avoir conseillée et orientée avec beaucoup de pertinence, chaque fois que cela était nécessaire. Je lui rends hommage pour avoir accepté de présider mon jury.

Je remercie vivement Madame Nadia Soltani –Mazouni, Professeur à l'Université d'Annaba, Madame Atika Guendouz-Benrima, Maître de conférence à l'Université Saad Dahleb de BLIDA, Madame Fazia Mouhouche Maître de conférence à l'Institut National Agronomique d'El Harrach à Alger, qui ont consenti d'avoir accepté de faire partie du jury.

Que Monsieur René Lafont, professeur à l'Université Pierre et Marie-Curie de Paris 6 (France) trouve ici l'expression de ma profonde gratitude pour m'avoir accueillie dans son laboratoire de recherche : CNRS-FRE2852 Protéines : biochimie structurale et fonctionnelle, Groupe biogenèse des stéroïdes et m'avoir offert les moyens et beaucoup de facilités techniques dans mes expériences. Il m'a permis de valoriser mon travail au sein d'une équipe perspicace : Madame Catherine Blais, Maria Annick que je remercie profondément.

J'exprime également ma profonde gratitude à Monsieur Frédéric Marion-poll, Professeur à l'INA PG pour m'avoir accueillie dans son laboratoire de recherche : Médiateurs chimiques de l'INRA DE Versailles. Je le remercie pour ses précieux conseils (surtout en informatique), l'attention qu'il a manifestée pour mon travail, sa patience et sa confiance en moi. Ma gratitude est extrême pour tous ceux qui m'ont accueillie et aidée à apprendre, à m'intégrer et à évoluer.

Je remercie Robert Delorme de m'avoir accueillie au sein de l'Unité de Phytopharmacie de l'INRA de Versailles.

J'ai eu la chance d'être accueillie dans une équipe animée par un esprit d'amitié et d'enthousiasme. Mes remerciements s'adressent tout particulièrement à : Madeleine Mesnier, Nicole Partiaoglou, Michèle Renou, Dominique Taubon.

Tous mes bien sincères remerciements vont aussi à tout le personnel du département de zoologie agricole et forestière. Mesdames N. Saada et F. Benzara, responsables de la bibliothèque du département de zoologie de l'INA pour leur aide et leur patience.

Je dis un très grand merci à tous mes collègues enseignants du département de Biologie de Blida. Madame Amina Djemai, Madame Djamila Fadel pour leur gentillesse, leur disponibilité.

Action du Diflubenzuron sur la croissance, la reproduction et l'évolution des ecdystéroïdes hémolymphatiques, ovariens et embryonnaires chez le Criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)

Nombreux ceux qu'au cours de ce travail en maintes circonstances et sous différentes formes m'ont témoigné leurs aides et sympathies, particulièrement Faiza Kara, Hafida Saighi, Zoubida Belarbi,

A tous ce qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, je dirai merci.

RESUME

Le Diflubenzuron (DFB), un dérivé de la diphenyl benzoyl urée (BPU), a été testé sur *S. gregaria*.

Le Diflubenzuron a permis d'obtenir une mortalité de 100 % chez toutes les populations traitées L4 comme L5. Il provoque une perte de poids progressive, un rallongement du stade larvaire, une inhibition d'exuviation et des anomalies morphogénétiques chez les larves traitées comparativement aux témoins. Le produit empêche également l'augmentation du poids sec de la cuticule, réduit les taux de chitine et a augmenté les taux de protéines de la cuticule des larves traitées.

Le DFB affecte la reproduction des femelles de cette espèce à différents niveaux : Il retarde le moment de la première oviposition, rallonge l'intervalle de temps séparant deux pontes successives émises par la même femelle, réduit à trois fois la fécondité des femelles et présente une activité ovicide absolue.

Le DFB perturbe aussi la maturation ovarienne chez *S. gregaria* : il réduit significativement la taille des ovocytes de base, réduit le poids des ovaires et il présente un effet drastique sur le processus de résorption ovocytaire.

Le DFB perturbe de manière profonde le système endocrine de production des ecdystéroïdes hémolymphatiques, ovariens et embryonnaires chez *S. gregaria*.

Mots clés : *S. gregaria*, Diflubenzuron, croissance, anomalies morphogénétiques, reproduction, développement ovarien, système endocrine, ecdystéroïdes, ovaires, hémolymphes, embryon.

Introduction générale

Dans la mémoire ancestrale des hommes, le Criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) est généralement perçu comme le fléau acridien apocalyptique par excellence, lorsqu'il apparaît on peut parler de catastrophe écologique mobile.

Le Criquet pèlerin occupe une place particulière chez les ravageurs. Il constitue une menace quasi permanente pour les plantes cultivées et les pâturages de nombreux pays de l'Afrique du nord à l'Equateur et de l'Atlantique à l'Asie du sud-ouest en passant par le Proche Orient à cause : de sa grande mobilité (les essaims peuvent parcourir 1000 km en quelques jours) ; de son aire d'invasion très vaste couvrant environ 29 millions de kilomètres carrés, soit 20% des terres émergées ; de son grand potentiel reproducteur ; de sa capacité à multiplier très rapidement ses effectifs ; de sa capacité à consommer chaque jour son propre poids de nourriture fraîche et de sa polyphagie qui lui permet de causer des dégâts sévères à une large gamme de cultures (Showler et Potter, 1991 ; Showler, 2002).

L'Algérie occupe une position centrale dans l'aire grégarigène occidentale. En périodes d'invasion, les essaims y transitent et s'y reproduisent durant les périodes hiverno-printanières et rejoignent, au début de l'été, la zone de reproduction estivale des pays du Sahel. L'aire de rémission du Criquet pèlerin couvre pratiquement tout le Sahara algérien (plus de deux millions de km² soit 1/8 de l'aire d'habitat de l'espèce) (Chara, 1988) ; une activité acridienne est maintenue toute l'année par une persistance diffuse des populations de solitaires (Guendouz-Benrima, 2005).

Après deux décennies de rémission, une recrudescence importante, bien que de courte durée, est survenue en Afrique en 1987-1988. A cette occasion, d'énormes quantités d'insecticides ont été utilisées pour venir à bout de ce fléau. Des écosystèmes fragiles de régions désertiques ou semi désertiques ont souvent été largement touchés par des pulvérisations massives de produits toxiques (Rachadi, 1991). Les pays impliqués et la communauté internationale des pays donateurs se sont à juste titre émus de cet état de fait (Showler, 2002).

Les principales préoccupations concernaient à l'époque l'importance économique réelle de cet insecte et les coûts très élevés des opérations de lutte (315 millions de dollars dépensés en 1987-1988). Mais l'une des préoccupations majeures était sans doute liée aux quantités considérables de pesticides utilisées : 32000 tonnes et des millions d'hectares traités en l'espace d'à peine deux ans (Luong-Skormand *et al.*, 2000). A titre d'exemple, lors des invasions de 1987-1988 et pour faire face à l'invasion de Criquet pèlerin, la lutte engagée en Algérie, a nécessité entre autre l'utilisation, de 16 millions de litres de pesticides liquides et 14 millions de kg de pesticides en poudre (Chara, 1988).

La lutte contre le Criquet pèlerin, est principalement réalisée grâce à des molécules chimiques neurotoxiques. La similitude de fonctionnement du système nerveux des insectes et des vertébrés entraîne un manque de spécificité dans l'action de ces substances et un nombre important d'espèces non cibles est touché.

Les criquets comme tous les arthropodes, possèdent la particularité de synthétiser une cuticule et de se développer par des mues. Toute perturbation interférant sur ces mécanismes constitue un moyen efficace et spécifique de lutte. Le cycle de renouvellement

de la cuticule est contrôlé par trois types d'hormones : les hormones cérébrales, les hormones juvéniles et les ecdystéroïdes ; en plus elles interviennent dans la régulation d'autres mécanismes du développement (Nation, 2002).

Les ecdystéroïdes sont des hormones stéroïdes qui contrôlent plusieurs aspects du développement et la reproduction des insectes (Bellès, 1998; Gäde *et al.*, 1997; Lafont *et al.*, 2005; Mc Brayer *et al.*, 2008; Raikhel *et al.*, 2005). La majorité des auteurs accordent à ces hormones un rôle dans la formation du vitellus chez les femelles adultes d'insectes (Bellès, 1998; Hagedorn, 1985; Raikhel *et al.*, 2005; Tawfik *et al.*, 1999).

Les embryons d'insectes contiennent des ecdystéroïdes (Hägele *et al.*, 2004; Hoffmann *et al.*, 1980; Lagueux *et al.*, 1979; Tawfik *et al.*, 2002). Ces hormones seraient impliquées dans le contrôle du développement embryonnaire (Scalia *et al.*, 1987; Tawfik *et al.*, 1999), en provoquant l'initiation des mouvements morphogénétiques et l'induction de la cuticulogénèse (Lagueux *et al.*, 1979; Lanot *et al.*, 1987). Les ecdystéroïdes constituent donc une des cibles potentielles des insecticides (Dinan, 1989). La perturbation de la production ou absence des ecdystéroïdes apparaît comme une perspective intéressante.

Les connaissances considérables qui ont été accumulées ces trente dernières années sur la physiologie et sur l'endocrinologie des insectes, ont permis de développer des procédures pour sélectionner des insecticides qui interfèrent avec le métabolisme spécifique du développement des insectes ou avec les mécanismes endocriniens (Dhadialla *et al.*, 2005)

Depuis 1975, plusieurs composés sont synthétisés et bien que souvent encore à l'étude, certains ont fait l'objet d'application en plein champ. Ces composés d'un type nouveau quant à leur mode d'action, agissent au niveau physiologique soit en modifiant des voies de synthèse, soit en perturbant un équilibre interne. Ces composés sont désignés sous le terme général de Régulateurs de Croissance d'Insectes (RCI) (Dhadialla *et al.*, 1998; Kostyukovsky et Trostanetsky, 2006; Retnakaran *et al.*, 1985).

Les Régulateurs de Croissance d'Insectes comprennent entre autre, les mimétiques de l'hormone juvénile, les agonistes et les antagonistes de l'ecdysone et les inhibiteurs de la synthèse de chitine (Dhadialla *et al.*, 1998; Dhadialla *et al.*, 2005; Ishaaya et Horowitz, 1998).

Les inhibiteurs de la synthèse de chitine sont représentés par deux groupes : la Buprofezine et les Benzoylphenyl urées (B.P.U_S).

Plusieurs travaux ont décrit les effets biochimiques et biologiques des B.P.U_S (Abo-Elghar *et al.*, 2004; Cohen, 2001; Ishaaya, 1990; Retnakaran *et al.*, 1985; Reynolds, 1987) mais sans élucider complètement leur mécanisme d'action. Des hypothèses ont été proposées, parmi

lesquelles nous retiendrons les interférences des B.P.U_S avec la formation de la cuticule suite à une augmentation de l'activité de la chitinase (Ishaaya et Casida, 1974; Merzendorfer et Zimoch, 2003) ou de celle de la chitine par activation de l'activité protéolytique de la chitine synthétase (Leighton *et al.*, 1981).

Le Diflubenzuron (DFB), le premier représentant des B.P.U_S est connu pour interférer le processus de mue en inhibant la synthèse de la chitine (Hajjar et Casida, 1979; Post *et al.*, 1974; Reynolds, 1987). Bien que cet inhibiteur de la synthèse de chitine ait été développé dans le but de perturber le développement larvaire, on a vite observé des effets substantiels sur la reproduction des insectes. Très peu de travaux ont été rapportés sur ces effets du

DFB sur la reproduction comparativement à la littérature abondante traitant de son action sur le développement. Plusieurs auteurs ont signalé une diminution de la fécondité après traitement avec le DFB chez plusieurs espèces d'insectes appartenant à des ordres variés (Daglish et Wallbank, 2005; Kemabonta et Odebiyi, 2005; Lim et Lee, 1982; Narayan, 2004; Quesada-Moraga *et al.*, 2000; Soltani, 1987; Soltani et Soltani-Mazouni, 1992)

L'hypothèse d'une interférence du DFB avec les hormones a été initialement formulée par Yu et Terriere (1975; 1977) puis par Fournet *et al.* (1995). On peut donc se demander si ce composé ne peut pas perturber les taux d'ecdystéroïdes hémolymphatiques, ovariens et embryonnaires chez *S. gregaria*.

A notre connaissance, les effets du DFB sur la reproduction et l'évolution des ecdystéroïdes chez le Criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*, n'ont fait l'objet d'aucune étude. Notre travail consiste à examiner si les effets biologiques et physiologiques du DFB pouvaient être corrélés à des interférences avec le système endocrine de l'embryon, de la larve et de la femelle via les ecdystéroïdes en utilisant un outil précieux qui est le dosage immuno-enzymatique (EIA) des ecdystéroïdes. L'intérêt de cette étude en est accru.

Pour ce faire, il était nécessaire de voir au préalable :

- Les effets globaux du DFB sur les larves du 4^e et 5^e stades de *S. gregaria*. Outre la mortalité, d'autres paramètres chez les larves ont été mesurés tels le TL50, l'évolution pondérale, les altérations morphogénétiques et la composition chimique de la cuticule.
- Les effets globaux du DFB sur le succès reproducteur et le développement ovarien des femelles de cette espèce.
- Les effets du DFB sur l'évolution des taux des ecdystéroïdes hémolymphatiques des larves et d'évaluer son action sur les variations des taux de ces hormones dans l'hémolymph, dans les ovaires et dans les œufs en recherchant d'éventuelles corrélations avec le développement génésique des femelles au cours de la maturation sexuelle.

Les notions générales nécessaires à la compréhension du travail réalisé ainsi qu'à la démarche adoptée seront préalablement exposées dans les deux premiers chapitres : Généralités et Matériel et méthodes. Le troisième, le quatrième ainsi que le cinquième chapitre sont consacrés à la présentation des résultats. La discussion des résultats obtenus est synthétisée dans le sixième chapitre et on termine notre travail par une conclusion générale et des perspectives.

CHAPITRE I. Généralités

I- Le Criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)

A- Systématique et cycle de vie de *S. gregaria*

Dénoté scientifiquement *Schistocerca gregaria*, le Criquet pèlerin est souvent appelé Sauterelle pèlerine ou Sauterelles des nuées, c'est le « Djrad El Arbi » des indigènes, ce qui signifie littéralement « Sauterelle des Arabes » (Delassus et Pasquier, 1929).

1- Position taxonomique

D'après Louveaux et Ben Halima (1986), dans l'ordre des orthoptères, *S. gregaria* est classée selon la nomenclature suivante :

- Ordre : *Orthoptera*
- Sous-Ordre : *Caelifera*
- Super-Famille : *Acridoïdae*
- Famille : *Acrididae*
- Sous-Famille : *Cyrthacanthacridinae*
- Genre : *Schistocerca*
- Espèce : *S. gregaria*

2- Cycle de vie de *S. gregaria*

Le cycle biologique du Criquet pèlerin comporte deux étapes : la première étape est celle du développement embryonnaire, la deuxième étape correspond à une période de développement post-embryonnaire ou larvaire, le cycle s'achève par l'apparition des adultes qui après une période de maturation sexuelle sont aptes à se reproduire (fig.1).

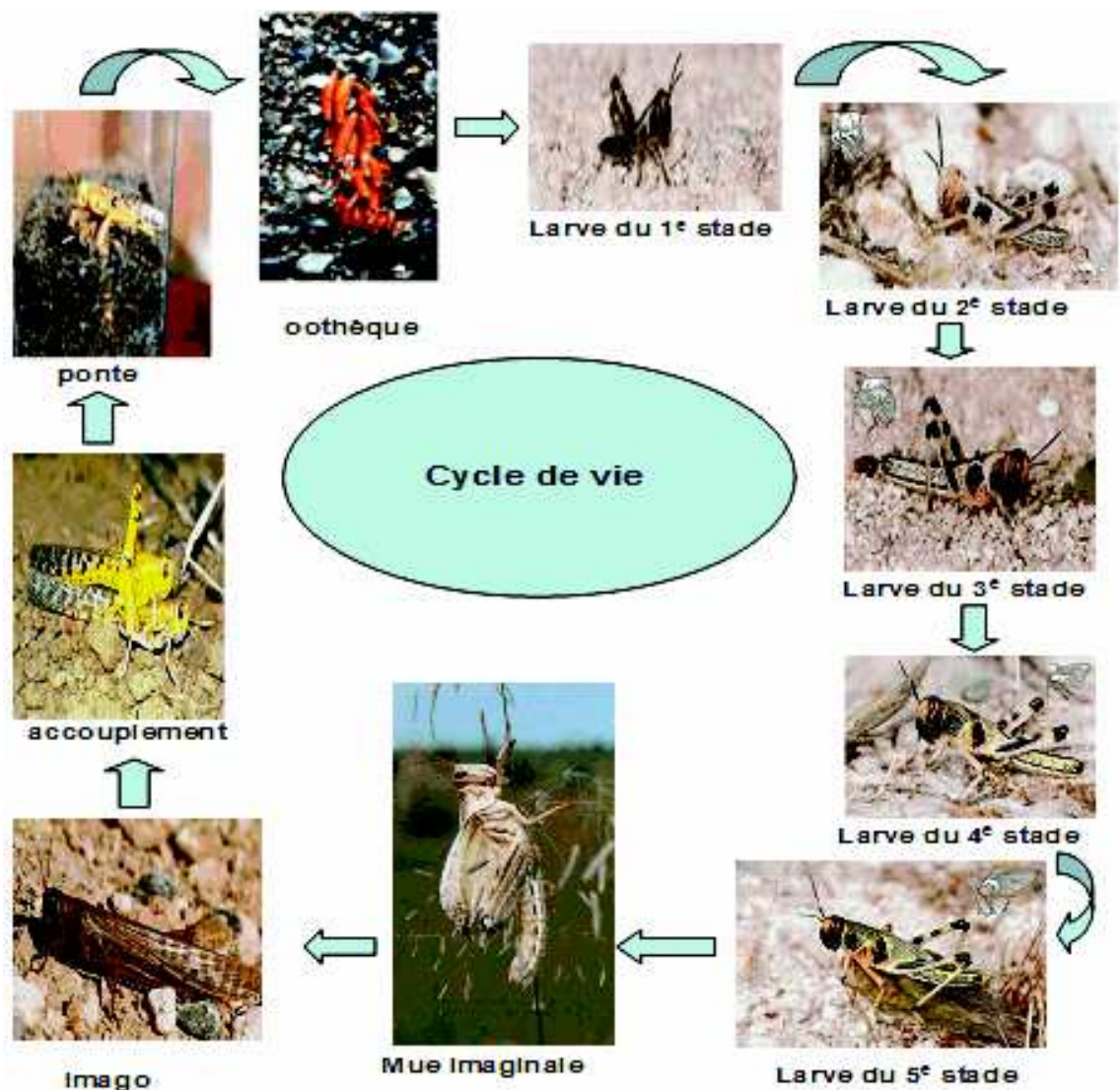
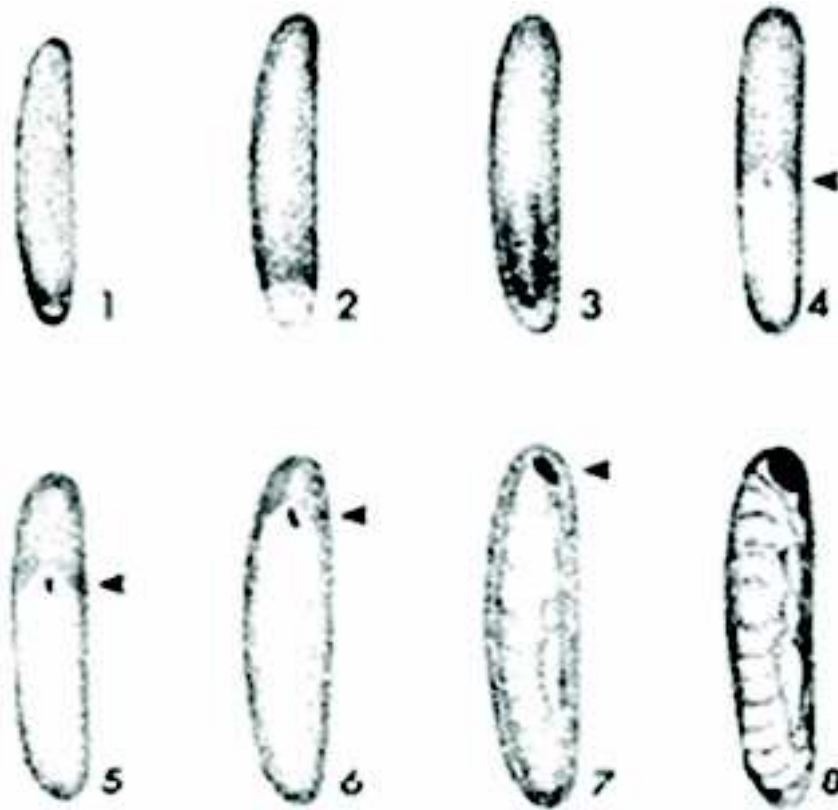


Fig. 1 : Les différents états biologiques du Criquet pèlerin (photos Duranton et Lecoq, 1990)

a- Développement embryonnaire

Au moment de la ponte, les œufs sont jaunes mais, dans le sol, ils virent au brun. Les œufs doivent absorber environ leur propre poids d'eau dans les cinq premiers jours après la ponte ; cela est suffisant pour leur permettre de se développer correctement (Launois-Luong et Lecoq, 1989 ; Duranton et Lecoq, 1990). L'œuf se développe en continu, sans arrêt de type diapause. Le développement embryonnaire dure une dizaine de jours en saison chaude et peut dépasser un mois en saison fraîche (Launois-Luong et Lecoq, 1989). Il est de 18 jours à 27°C et de 10 jours à 33°C (Duranton *et al.*, 1982). La datation des œufs peut être répartie en 8 classes d'âges ou stades embryonnaires, selon l'état de développement de l'embryon (Fig. 2) (Lecoq et Mestre, 1988). L'éclosion se produit en fin de développement. Chez les grégaires, les éclosions au sein d'une même population sont en général très synchrones et s'étalent seulement sur 2 à 3 jours (Duranton et Lecoq, 1990). La larve dite vermiforme, progresse vers la surface du sol par reptation le long du bouchon spumeux de l'oothèque.

Dès sa sortie à l'air libre, elle se débarrasse de sa cuticule post-embryonnaire au cours de la mue intermédiaire et devient alors une larve de premier stade.



- *Stade 1* : oeuf relativement maigre, venant d'être pondu et n'ayant pas encore absorbé d'eau. Aucune structure n'est visible, l'intérieur est uniformément jaune. L'embryon ne dépasse pas 1 mm de long à l'intérieur de l'oeuf qui en fait 6 ou 7.
- *Stade 2* : oeuf plus gros, ayant déjà absorbé de l'eau. L'embryon est difficilement visible à une extrémité de l'oeuf sous forme d'une petite zone de 1 à 2 mm de long, légèrement plus transparente et plus blanchâtre que le reste de l'oeuf.
- *Stade 3* : l'embryon effectue un retournement dans l'oeuf et on l'observe, arqué, au niveau du pôle postérieur qui prend une teinte grisâtre.
- *Stade 4* : couleur grisâtre de la partie de l'oeuf où se trouve l'embryon ; la longueur de ce dernier est inférieure ou égale à la moitié de celle de l'oeuf.
- *Stade 5* : l'embryon occupe entre la moitié et les deux tiers de la longueur de l'oeuf. Les yeux se pigmentent en noir (chez les grégaires) et deviennent visibles par transparence.
- *Stade 6* : les yeux sont visibles au quart antérieur de l'oeuf.
- *Stade 7* : l'embryon occupe entièrement l'oeuf. On ne trouve plus trace de vitellus. Les yeux composés sont au pôle antérieur et le reste du corps n'est pas encore pigmenté.
- *Stade 8* : l'embryon occupe entièrement l'oeuf et est prêt à éclore. Les différents segments du corps ainsi que les pattes sont bien visibles.

b- Développement Post-embryonnaire

Le développement post-embryonnaire de *S. gregaria*, comporte cinq stades larvaires et un stade imaginal (fig.1).

La durée du développement larvaire est d'une trentaine de jours en moyenne (extrêmes observés : 28 et 46 jours) (Duranton et Lecoq, 1990). En pourcentage les durées de chaque stade larvaire sont respectivement du stade 1 au stade 5, de 14, 16, 18, 20 et 32 % de la durée totale du développement, soit approximativement de 5, 5, 6, 7 et 11 jours pour une durée totale de développement de 34 jours (Duranton *et al.*, 1982).

Le stade imaginal dure en moyenne de 60 à 75 jours. La maturité sexuelle des femelles adultes intervient entre le 13^e et le 14^e jour ((Duranton *et al.*, 1982; Launois-Luong et Lecoq, 1989). La femelle sexuellement mûre dépose à 10 cm dans le sol une oothèque de 3 à 4 cm de long (Duranton *et al.*, 1982) . Dans la nature, une femelle dépose en moyenne 2 à 3 pontes espacées de 6 à 11 jours (Duranton et Lecoq, 1990) et jusqu'à 10 oothèques en élevage, ce qui donne 500 à 1000 descendants par femelle (Dhouibi et Jarraya, 1990).

Les criquets mâles commencent leur maturation les premiers. Ils dégagent des substances chimiques qui déclenchent la maturation des femelles (et aussi celle des mâles dont la maturation n'a pas encore commencé). Le Criquet pèlerin se reproduit en continu toute l'année (Popov, 1996). La copulation dure en général plusieurs heures (Duranton *et al.*, 1982).

Le Criquet pèlerin développe 2 à 3 générations par an avec un arrêt de développement facultatif (période de quiescence) à l'état imaginal pendant les périodes sèches ; les individus restent immatures et la reproduction est suspendue parfois pendant plusieurs mois (Duranton *et al.*, 1982; Launois-Luong et Lecoq, 1993). La durée de vie totale d'une génération, de l'oeuf à l'oeuf, est de l'ordre d'une cinquantaine de jours (Lecoq, 1991).

Chez les grégaires, il existe une grande synchronisation dans le développement des populations. En un site donné, un ou deux stades biologiques seulement sont observés simultanément. Au contraire, chez les populations solitaires, des individus de tous états biologiques (oeufs, larves, ailés) et de tous stades de développement peuvent être observés en même temps au même endroit (Duranton et Lecoq, 1990).

B- Théorie des phases ou polymorphisme phasaire

Le Criquet pèlerin appartient à la catégorie des acridiens de type "locuste" présentant un phénomène de polymorphisme phasaire, c'est-à-dire la possibilité de développer des formes variées et réversibles selon la densité des populations. Ces différentes formes sont désignées sous le terme de phases (Uvarov, 1966). Schématiquement, on parle de phase solitaire pour les populations de faible densité et de phase grégaire pour les populations de forte densité. Le terme de transformation phasaire désigne le passage d'une phase à l'autre. Il existe, par ailleurs, des formes intermédiaires dites *transiens*. On parlera de *transiens congregans* dans le cas d'une évolution de la phase solitaire vers la phase grégaire et de *transiens degregans* dans le cas inverse du passage de la phase grégaire vers la phase solitaire (Fig. 3). Le passage de la phase solitaire à la phase grégaire demande en général plusieurs générations successives au cours desquelles les conditions favorisant la transformation phasaire se maintiennent (Lecoq, 1991).

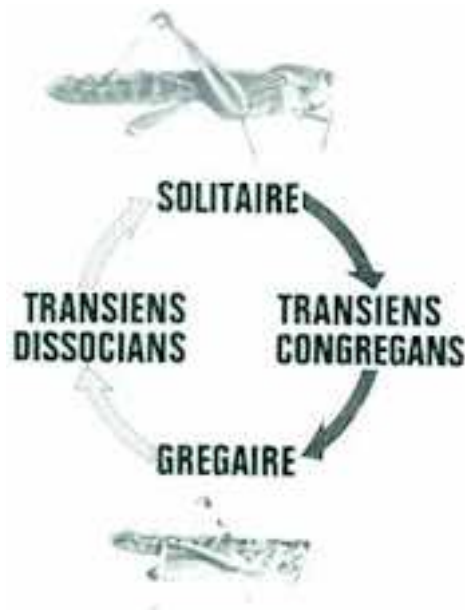


Fig. 3 : Les états phasaires séparés par des étapes intermédiaires (Transiens) (d'après Uvarov, 1923 in Duranton et Icoq, 1990)

Le principal facteur déclenchant la transformation phasaire est la densité (Gunn et Hunter-Jones, 1952; Hunter-Jones, 1958; Tanaka et Maeno, 2006). Il suffit de 5 criquets pèlerins par 100 m^2 pour que s'enclenche le processus de grégarisation sur la génération à venir (Duranton *et al.*, 1987). Si les mêmes conditions de densité sont imposées à plusieurs générations successives on peut passer rapidement, via la phase *transiens*, de la phase solitaire type à la phase grégaire type, ou inversement. Le passage de la phase grégaire à la phase solitaire est cependant souvent plus rapide que l'inverse. Le Criquet pèlerin est ainsi l'espèce connue la plus sensible aux modifications de la densité des populations ((Duranton *et al.*, 1987; Launois-Luong et Popov, 1992; Tanaka et Maeno, 2006).

En plus de l'effet de la densité, d'autres facteurs semblent intervenir dans l'expression du polymorphisme phasaire tels que la pluviométrie, la photopériode, la température, la sécheresse, la qualité de l'alimentation, la teneur en gaz carbonique, ainsi que la salinité du sol (Faure, 1932; Uvarov, 1966; Pener, 1991). L'apparition de pluies abondantes survenant après une période de sécheresse prolongée, favorise l'éclosion en masse et déclenche une grégarisation (Grasse, 1949). De même, la sécheresse qui réduit les surfaces couvertes de végétation, oblige les criquets à se réunir sur des points relativement peu étendus. La taille diminue lorsque les conditions deviennent plus douces et/ou plus sèches, mais augmente quand les conditions sont plus chaudes et/ou plus humides.

Un des traits les plus remarquables est leur aptitude à modifier leur morphologie, leur coloration (Fig.4), leur physiologie, leur comportement, leur développement en réponse à des changements de densité de population (Tab.1) (Uvarov, 1966; Steedman, 1988; Fuzeau-Braesch, 1991; Girardie, 1991; Hägele et Simpson, 2000; Breuer *et al.*, 2003; Tanaka et Maeno, 2006).



Figure 4. Modification de la couleur du corps chez les larves du dernier stade et les imagos du Criquet pèlerin solitaire et grégaire.

Transformations morphologiques	Transformations biologique et anatomiques	Transformations physiologiques
<ul style="list-style-type: none"> -Les grégaires sont de plus petite taille. -Les ailes des grégaires sont plus petites. Pigmentation des élytres est peu contrastée chez les solitaires et très contrastée chez les grégaires. -Le pronotum est concave chez les grégaires et convexe chez les solitaires -Les larves solitaires sont vertes ou brunes tandis que les grégaires sont jaunes avec de très fortes maculatures noires -Les ailés solitaires sont de couleur brune, grise ou beige, jamais verts alors que les grégaires sont d'abord roses puis jaunes à maturité. 	<ul style="list-style-type: none"> -Les larves grégaires se développent en 5 stades et 6 le plus fréquemment chez les solitaires. -Les grégaires se développent légèrement plus vite, par une tendance à la diapause imaginale que les solitaires. -Les grégaires consomment d'avantage de nourriture chaque jour, produisent des œufs plus gros et en nombre plus restreint que les solitaires. -Les grégaires occupent une aire géographique plus étendue que celle des solitaires. Ces derniers sont plus exigeants vis-à-vis de leur environnement -Le nombre d'ovarioles par ovaire chez les femelles et du nombre des tubes séminifères par testicule chez les mâles sont souvent inférieurs chez les grégaires. 	<ul style="list-style-type: none"> -Les grégaires ont un métabolisme respiratoire plus intense que les solitaires. Il existe une tendance à la synthèse d'hydrocarbures très condensés chez les solitaires par rapport aux grégaires. -Les grégaires possèdent plus de mélanine que les solitaires.

Tableau 1: Modifications liées à la transformation phasaire chez *S. gregari*

L'importance économique des locustes a conduit à de nombreux travaux traitant les facteurs extrinsèques favorisant le polymorphisme phasaire. Récemment, les recherches se sont orientées vers les facteurs intrinsèques, particulièrement le contrôle endocrinien qui règle cette transformation phasaire. L'hypothèse que l'hormone juvénile, sécrétée par les

corps allates, est l'hormone causale dans la transformation phasaire a été graduellement abandonnée (Breuer *et al.*, 2003; Tawfik et Sehnal, 2003). Les locustes, contrairement à plusieurs autres insectes ptérygotes conservent toutefois leur glande prothoracique plus longtemps après l'émergence, où elles persistent chez les adultes solitaires de *L. migratoria* et *S. gregaria* (Carlisle et Ellis, 1959), ce qui implique que ces glandes jouent un rôle bien qu'elles ne secrètent pas de quantités significatives d'ecdystéroïdes (Breuer *et al.*, 2003). La présence exclusive d'ecdysone favorise l'évolution dans le sens grégaire : cellules glandulaires abondantes et sensibles à l'action de l'hormone gonadotrope. La présence conjointe de l'ecdysone et de l'hormone juvénile assure l'évolution dans le sens solitaire: cellules glandulaires peu nombreuses, insensibles ou peu sensibles à l'action de l'hormone gonadotrope. De même, la découverte des différences marquées dans le contenu des ecdystéroïdes entre les phases solitaires et grégaires de *S. gregaria* (Tawfik *et al.*, 1996 ; Tawfik *et al.*, 1997; Tawfik *et al.*, 1999; Breuer *et al.*, 2003) était d'une importance majeure. Des taux des ecdystéroïdes différentes ont été enregistrés chez les adultes et les embryons des sauterelles. Tawfik *et al.* (1996) ainsi que Tawfik *et al.* (1997), notent des taux d'ecdystéroïdes plus élevés dans l'hémolymphe des larves et adultes solitaires. En revanche, des quantités maximales d'ecdystéroïdes sont notées dans les ovaires et dans les œufs chez les grégaires de cette espèce (Rees et Isaac, 1984; Tawfik et Sehnal, 2003). Chez cette espèce, la quasi-totalité des ecdystéroïdes ovariens passent dans l'ovocyte et s'accumulent sous forme de conjugués (Rees et Isaac, 1984; Tawfik et Sehnal, 2003). De même, le taux d'ecdystéroïdes est 5 à 10 fois plus élevé dans les œufs pondus par les grégaires que ceux émis par les solitaires et cette différence est maintenue tout au long de l'embryogenèse (Hägele *et al.*, 2004), indiquant que les ecdystéroïdes maternels pourraient jouer un rôle dans la transformation phasaire de la descendance (Tawfik *et al.*, 1999 ;Tawfik et Sehnal, 2003). Ces résultats ont stimulé des recherches intensives mais le contrôle hormonal du polymorphisme phasaire n'est pas encore complètement élucidé (Pener, 1991 ; Breuer *et al.*, 2003).

C- Eco-répartition

Le Criquet pèlerin, est considéré depuis l'Antiquité comme l'un des principaux fléaux de l'humanité dans l'Ancien Monde. Ses ravages s'étendent à la majorité des pays arides et semi-arides, de la côte ouest de l'Afrique à l'Inde (Huis *et al.*, 2007), et récemment en Chine, Afghanistan, et la Russie (Breuer *et al.*, 2003). La dernière invasion (2003-2004) du Criquet pèlerin en Afrique a débuté en septembre 2003 et 65000 km² avaient été dévorés à fin juillet 2004 sur neuf pays du Sahel (Mali, Mauritanie, Niger, Sénégal, Tchad) et du Maghreb (Algérie, Libye, Maroc, Tunisie). Selon les experts les dégâts peuvent être évalués à 200 millions d'Euros (Juillet 2004) (Lecoq, 2004).

Le Criquet pèlerin se rencontre dans des milieux secs avec des pseudo-steppes à *Panicum turgidum* et *Acacia ehrenbergiana* ou des formations éphémères à *Tribulus mollis* et *Shouwia thebaica* (Duranton et Lecoq, 1990; Ghaout, 1990).

En période d'invasion, les essaims de Criquet pèlerin peuvent envahir une aire couvrant plus de 29 millions de kilomètres carrés, soit plus de 20% des terres émergées Lecoq (1991; 2004). Toutefois, plus de la moitié de cette aire n'est concernée que par l'invasion d'essaims errants. Les zones de reproduction intéressent environ 13,6 millions de km². En raison des variations saisonnières de la distribution des pluies, les reproductions, à un moment donné, ne concernent au maximum qu'un quart de la surface globale (Popov, 1996). Les zones où se réalise l'optimum pluviométrique du Criquet pèlerin se situent entre 25 et 50 mm d'eau par

mois. Les régions à hautes fréquences acridiennes sont appelées « aires grégarigènes » du *Schistocerca gregaria* (Mahjoub, 1988), ainsi distingue-t-on :

- l'aire « grégarigène » de la région orientale en bordure du désert indo-pakistanaï ;
- l'aire « grégarigène » de la région centrale qui englobe les côtes de la mer rouge et du golfe d'Aden.
- l'aire « grégarigène » de la région occidentale de l'Afrique regroupe la Mauritanie, le Mali, le Niger où les foyers grégarigènes occupent les épandages aux pieds des massifs montagneux du Sahara méridional.

En périodes d'invasion, les dégâts occasionnés se chiffrent en millions, voire en centaines de milliards de dollars US. A titre d'exemples pour la période 1987-1989, près de 300 millions de dollars US ont été dépensés pour lutter contre l'invasion naissante (Duranton, com. pers.)

Entre deux périodes d'invasion on est en période de rémission. Il y a alors très peu d'essaims ou de bandes larvaires, voire aucune population grégaire. Les dégâts sur les cultures sont alors très minimes, sinon nuls (Duranton et Lecoq, 1990).

En phase solitaire, *S. gregaria* occupe une aire vaste mais limitée aux régions les plus désertiques d'un territoire allant de l'Atlantique à l'Inde. Il s'agit des régions où la pluviométrie moyenne annuelle est en général inférieure à 200 mm. Cette aire, dite aire de rémission, couvre environ 16 millions de kilomètres carrés et s'étend sur tout ou partie d'une trentaine de pays (Duranton et Lecoq, 1990; Popov *et al.*, 1991) (Fig.5).

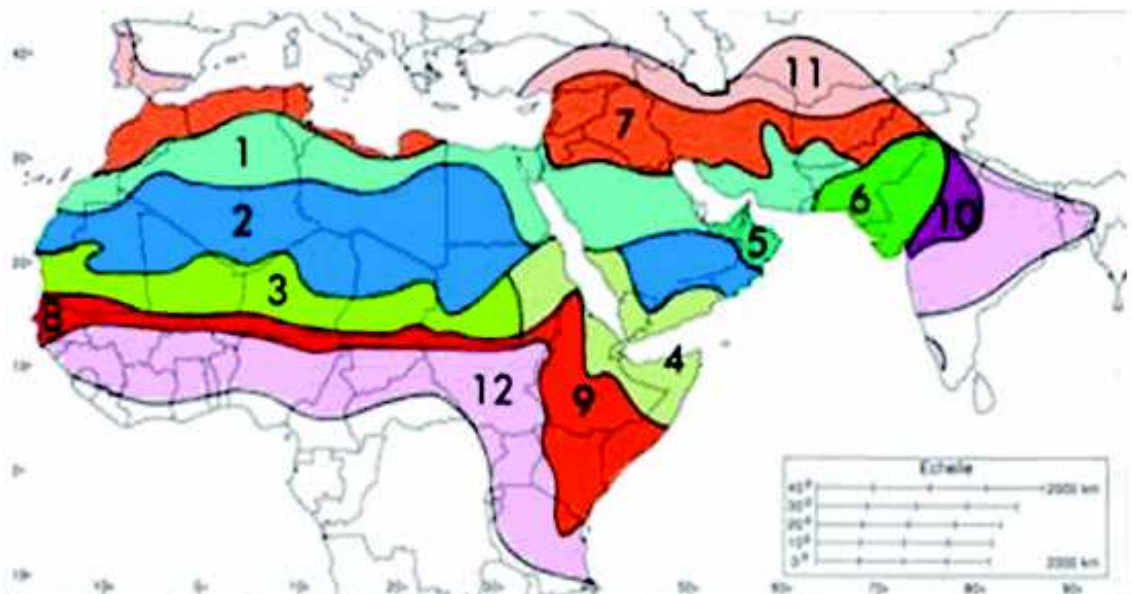


Fig.5 – Les limites des aires d'invasion et de rémission du Criquet pèlerin et subdivision biogéographique de son aire d'habitat (Duranton et Lecoq, 1990).

Zone de rémission

1. Zone saharo-méditerranéenne de dispersion et de reproduction en période de rémission
2. Zone saharienne désertique de dispersion et de reproduction en période de rémission
3. Zone saharo-sahélienne de dispersion et de reproduction en période de rémission
4. Zone semi-aride subissant l'influence du front de convergence de la mer Rouge et permettant dispersion et reproduction en période de rémission

5. Zone saharienne tempérée par effet de relief et permettant des reproductions plus fréquentes qu'en zone saharienne désertique

6. Zone désertique atténuée sous double influence méditerranéenne et moussonienne permettant dispersion et reproduction en période de rémission

Zone d'invasion

Les zones de dispersion et de reproduction de période de rémission sont utilisées en période d'invasion mais, de plus, les zones suivantes sont également colonisées.

7. Zone méditerranéenne de dispersion et de reproduction des grégaires

8. Zone tropicale (soudano-sahélienne) de dispersion et de reproduction des grégaires

9. Zone de dispersion et de reproduction des grégaires de l'Est africain

10. Zone orientale de dispersion et de reproduction des grégaires

11. Zone septentrionale de dispersion des grégaires

12. Zone méridionale de dispersion des grégaires

Les criquets, comme tous les arthropodes, possèdent un exosquelette appelé cuticule qui est synthétisé par les cellules épidermiques. Cette enveloppe cuticulaire confère à l'insecte une protection mais en contrepartie lui impose une croissance discontinue marquée par une succession de mue.

La cuticule des insectes est potentiellement une cible vulnérable et spécifique pour les insecticides par la perturbation létale de sa chimie, de sa structure et de sa fonction (Reynolds, 1987 ;Oberlander et Silhacek, 1998).

II- Le tégument : Structure et Composition chimique

A- Structure

Le tégument est le revêtement externe du corps. Il comprend une assise de cellules épidermiques surmontée d'une cuticule. La cuticule est formée de différentes couches superposées qui sont de l'extérieur vers l'intérieur du corps (Fig.6) :

- l'épicuticule, couche très fine (1 micron)
- l'exocuticule,
- l'endocuticule, qui avec l'exocuticule forme la procuticule

Ces strates sont déposées successivement par les cellules de l'épiderme avant chacune des mues. La membrane basale, produite par ces mêmes cellules du côté interne du corps, les isole de la cavité générale où se trouvent les organes vitaux (Duranton *et al.*, 1982 ;Andersen, 1998).

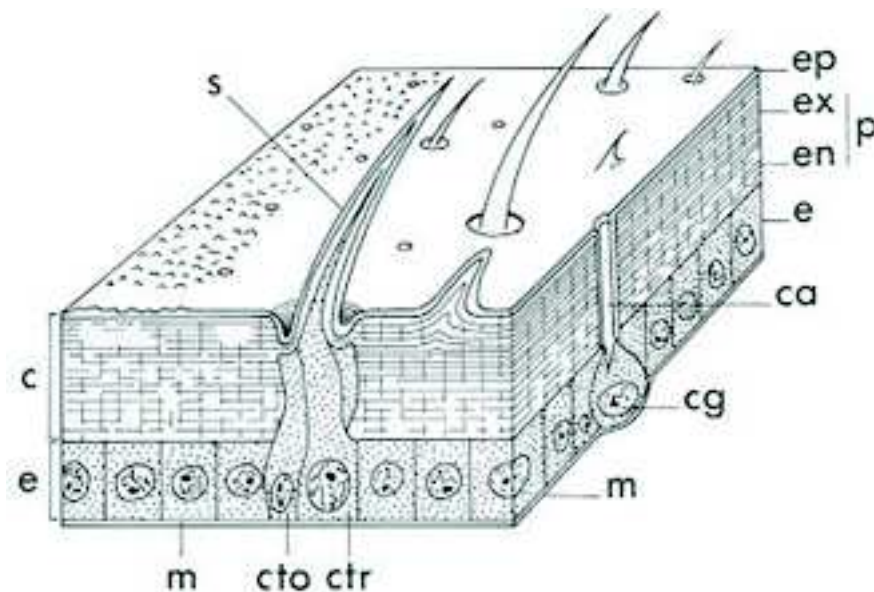


Fig.6: Schéma du tégument (en trois dimensions) (Duranton et al., 1982).

C : cuticule ; Ca : canal glandulaire ; Cg : cellule glandulaire ; Cto : cellule tormogène ; Ctr : cellule trichogène ; E : épiderme ; En : Endocuticule ; Ep : épicuticule ; Ex : exocuticule ; M : membrane basale ; Procuticule ; S : soie.

La cuticule recouvre la totalité du corps de l'insecte (tête, thorax, abdomen), la partie apicale des cellules du tube digestif antérieur et postérieur et tapisse l'intérieur des troncs trachéens principaux. Elle forme à la fois une protection et de squelette externe sur lequel s'attachent des muscles de la locomotion et du vol (Chapman, 1972). Son intégrité est indispensable pour le développement et la survie de l'insecte. Elle possède une dynamique particulière caractéristique de la croissance de tous les arthropodes : à des périodes déterminées, toute la cuticule, quelque soit sa localisation, est éliminée et remplacée par une cuticule neuve, c'est ce qui correspond au phénomène de mue. Ce renouvellement ne peut se faire que si la cuticule néosynthétisée se met en place avant l'élimination de l'ancienne (Reynolds, 1987 ; Merzendorfer et Zimoch, 2003).

B- Composition chimique

La cuticule se compose de chitine, de protéines, de lipides, de matériaux phénoliques et de molécules d'eau (Cohen, 1987; Kalume *et al.*, 2003; Reynolds, 1987).

La procuticule est constituée d'un complexe chitino-protéique hydrophile contenant une grande quantité d'eau, arrangées en (1) une couche exocuticulaire externe, appelée aussi cuticule pré-exuviale, est chimiquement très inerte, relativement déshydratée, caractérisé par la présence de sclérotine, ce qui lui confère dureté et rigidité, et (2) une couche endocuticulaire interne, appelée aussi cuticule post-exuviale, incolore, souple et relativement élastique, par suite de l'absence de sclérotine (Reynolds, 1987; Vincent, 2001). L'épicuticule est formée de protéines et imprégnée de cires qui l'imperméabilisent, mais, permet en revanche une entrée rapide des insecticides liposolubles (Chapman, 1972).

1- La chitine

La chitine est, après la cellulose, le polysaccharide le plus répandu dans la nature (Merzendorfer, 2006). La chitine est l'un des principaux composants de l'exosquelette des insectes, des autres arthropodes (crustacés, arachnides, etc.) et des nématodes. Elle se retrouve aussi dans certaines espèces de lichens et certaines espèces de champignons (Merzendorfer et Zimoch, 2003). C'est un sucre aminé, polysaccharide, formé d'un arrangement linéaire d'unités de N-acétyl-glucosamine reliés entre eux par de multiples ponts hydrogène (Fig. 7) (Reynolds, 1987 ; Merzendorfer, 2006). La chitine, est une substance souple, molle perméable et incolore qui représente de 33 à 55 % du poids sec de la cuticule et plus de 85% de la masse totale de la cuticule (Chapman, 1972). La chitine est généralement complexée à des protéines sous la forme de glycoprotéines plus ou moins stables.

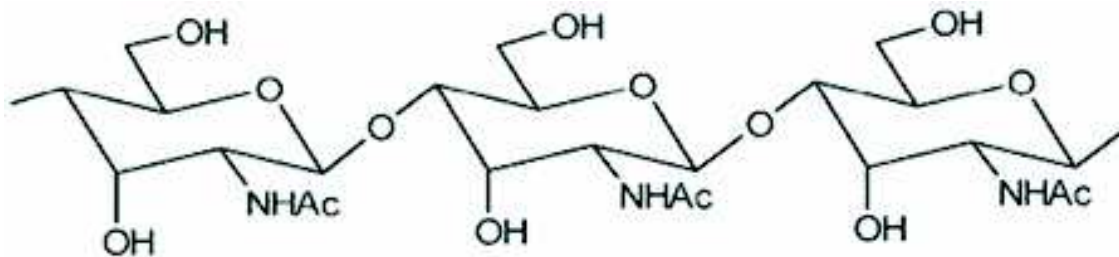


Figure 7 : Structure de la chitine (Chapman, 1972)

2- Les protéines :

Les protéines cuticulaires sont des composés structuraux, qui associés aux fibrilles de chitine, donnent au matériel cuticulaire divers degrés de flexibilité, rigidité, dureté, capacité de rétention d'eau et de résistance contre la dégradation (Andersen, 1998; Andersen, 2002). Les protéines représentent de 25 à 37 % du poids sec de la cuticule (Andersen, 1998). La quantité de protéines tend à être beaucoup plus grande que la quantité de chitine. La composition des protéines cuticulaires déposées avant la période pré-exuviale est nettement différente de celle de la période post-exuviale (Baernholdt and Andersen, 1998). Il existe un certain nombre de différences qualitatives entre les protéines des différents stades de développement. Des protéines cuticulaires incluant un certain nombre de polypeptides acides semblent être spécifiques de la période larvaire (Missios *et al.*, 2000).

La dureté de la cuticule est due à une sclérotinisation qui s'effectue peu après la mue. Il s'agit du tannage d'une protéine, l'arthropodine, par des quinones (Andersen et Roepstorff, 2007).

C- Changement du tégument au cours du processus de mue

Au cours de chaque mue, une cascade d'évènements moléculaires est déclenchée pour assurer la digestion partielle puis le remplacement de la cuticule préexistante par une nouvelle de plus grande taille. A partir de l'apolyse, la cuticule ancienne se décolle de l'épiderme sous jacent et les cellules épidermiques synthétisent une nouvelle cuticule. La dernière étape appelée exuviation, ou ecdysis, correspond au rejet de l'ancienne cuticule. Le processus de tannage assure finalement la rigidification de la cuticule.

1- Apolyse :

Il correspond au décollement de l'épiderme et de l'ancienne cuticule. Ce décollement, qui se produit plusieurs jours avant l'exuviation, s'accompagne parfois d'un arrêt d'alimentation (Chapman, 1972).

2- Digestion de l'ancienne cuticule :

L'apolyse est suivie par la sécrétion d'un liquide entre l'épiderme et la cuticule. Ce liquide, appelé aussi liquide de mue ou liquide exuvial contient des enzymes digestives : la protéinase et la chitinase qui ont pour effet de décomposer les protéines et la chitine de l'ancienne endocuticule en acides aminés et en molécules de sucres simples (Chapman, 1972).

Par action enzymatique, l'ancienne endocuticule est dégradée. La chaîne de chitine est hydrolysée jusqu'à libération du sucre élémentaire la N-acétyl-D-glucosamine (Mauchamp, 1979).

L'épicuticule néoformée est perméable aux molécules en solution, et les produits de l'ancienne cuticule sont soit recyclés dans l'épiderme pour former la nouvelle cuticule où ils passent dans l'hémolymphe et seront stockés dans le corps gras (Stevenson et Hettick, 1980). Il en est de même pour les protéines hémolymphatiques et les glycoprotéines qui constituent la fraction majeure de la cuticule des insectes. Elles jouent un rôle important et ont un intérêt certain dans la synthèse de la nouvelle cuticule (Socha, 1971). L'épiderme secrète la nouvelle cuticule (Chapman, 1972). L'enveloppe (couche de cuticuline) est la première couche de la nouvelle cuticule à être formé au moment de la mue. Les protéines et la chitine contiennent de l'azote, dont le manque d'approvisionnement limite souvent la croissance. La solubilisation et la récupération pré-exuviale de la vieille cuticule permettent la réutilisation de ces éléments (Reynolds et Samuels, 1996).

3- Exuviation ou Ecdysis:

Le liquide exuvial est résorbé par les cellules épidermiques et est remplacé par de l'air, après avoir dissous les couches internes de l'ancienne cuticule. La cire est sécrétée sur la surface de la nouvelle cuticule, la rendant imperméable. A travers les contractions des muscles abdominaux et l'augmentation de la pression de l'hémolymphe au niveau du thorax, le reste de l'ancienne cuticule se déchire au niveau du point le plus faible qui est habituellement la ligne médiane dorsale de l'insecte : ce processus est appelé mue (Chapman, 1972). L'insecte émerge en laissant un rejet : l'exuvie, tout en avalant l'air et en étirant sa nouvelle cuticule plissée jusqu'à ce qu'elle prend sa forme et sa taille finale. Le dépôt de l'endocuticule continu après la mue ainsi que le tannage de la cuticule. Ceci implique la production de nouvelles couches adjacentes avec l'épiderme. Ce processus continu chez *Schistocerca* durant les trois premières semaines de la vie imaginale. Durant ce temps le poids sec de la cuticule est presque triplé, ensuite, le poids de la cuticule se stabilise et n'augmente plus (Chapman, 1972) (Fig.8).

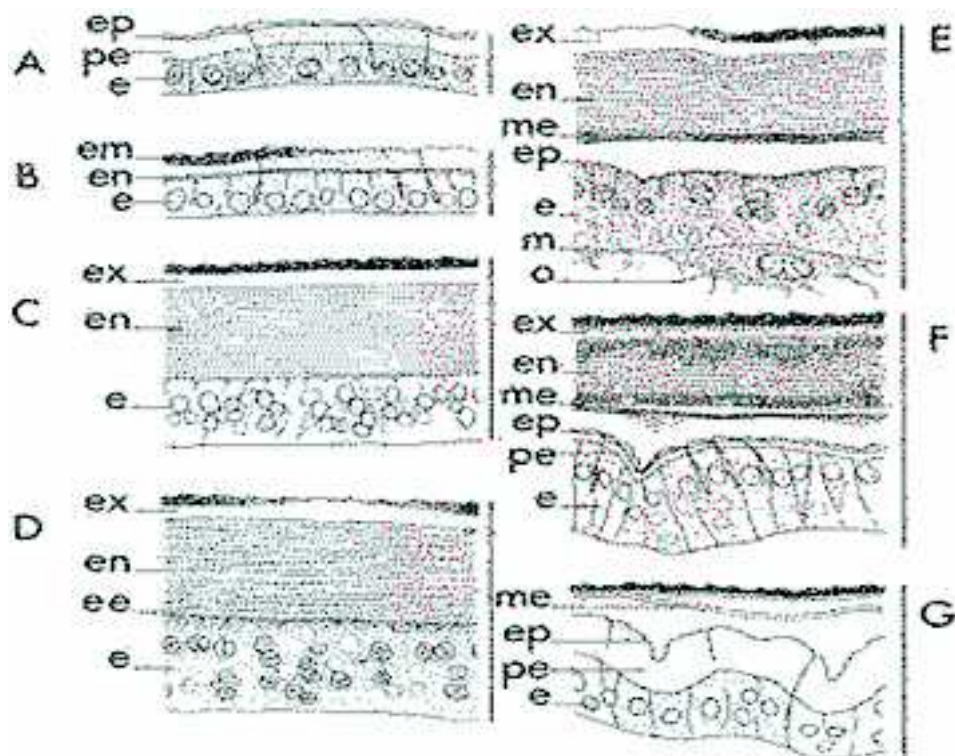


Fig. 8 : Coupe transversale du tégument du Criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria*, au niveau des tergites abdominaux d'une larve de dernier stade (Duranton et al., 1982)

e : épiderme, ee : espace exuvial, em : partie mélanisée de l'endocuticule ; en : endocuticule ; ep : épicuticule ; ex : exocuticule ; m : membrane basale ; me : membrane ecdysiale ; o : nocyte ; pe : endocuticule pré-exuviale. A : larve venant de muer ; B-C : dépôt de couches de l'endocuticule et des striés d'accroissement (2-4 jours après la mue) ; D : formation de l'espace exuvial (4-5 jours) ; E-F : préparation de la nouvelle cuticule (5-7 jours) ; G : peu de temps avant la mue imaginale

Le potentiel reproducteur des criquets reste un des facteurs les plus importants de leur indéniable pullulation. L'étude de la reproduction est donc capitale dans toute approche raisonnée pour diminuer sensiblement les dégâts causés par ces ravageurs. Le contrôle de la capacité reproductrice des insectes est un élément fondamental auquel le physiologiste peut apporter une contribution significative.

III- L'appareil reproducteur femelle

Les imagos passent par 3 étapes de développement au cours de leur vie, les périodes préreproductive, reproductive et post-reproductive (Peel et Akam, 2007).

L'appareil reproducteur femelle est constitué de deux ovaires de type panoïstique situés en position dorsale dans l'abdomen au-dessus du tube digestif (Launois-Luong, 1978). S'y adjoignent des glandes annexes et des conduits génitaux, voies de sortie des ovocytes au moment de l'ovulation et de la ponte. Chaque ovaire est composé de tubes ovariolaires qui sont autant d'unités structurales et fonctionnelles où sont formés les ovocytes (fig.9). Chaque ovariole renferme des cellules germinatives empilées les unes sur les autres, les

ovocytes, dont la croissance et le développement se font selon un gradient (fig.10). C'est l'ovocyte situé le plus bas, vers le débouché de l'ovariole dans l'oviducte, qui achève le premier sa maturation. Il est ensuite relayé par celui situé juste au-dessus et ainsi de suite, de telle manière qu'il n'y a, au mieux, qu'un seul oeuf formé par ovariole à chaque ponte. Les ovarioles fonctionnent de manière synchrone pour produire chacun un œuf de même rang dans une même oothèque (Launois-Luong, 1978). Cela explique pourquoi on ne peut trouver plus d'œufs dans une oothèque que d'ovarioles dans les deux ovaires (Popov *et al.*, 1990).

Au cours de sa croissance, le jeune ovocyte augmente rapidement de poids et de volume, principalement après le dépôt du vitellus. Durant toute la phase antérieure à la vitellogenèse, l'ovariole contient une file d'ovocytes de petite taille et de couleur blanchâtre. L'ovaire est dit en prévitellogenèse. La deuxième phase, marquée par le dépôt du vitellus, est la vitellogenèse. La vitellogenèse ou phase de grand accroissement correspond à l'accumulation de matériaux plastiques et énergétiques variées : lipides (triglycérides, lipoprotéines), glucides (glycogène), protéines sous la forme de plaquettes vitellines, sels minéraux. Les lipides représentent une part importante (environ 40% en poids sec) des réserves de l'œuf. Une faible partie (1- 5%) est synthétisée par l'ovocyte et les follicules ; une autre partie provient du corps gras (vitellogénines) et est transportée au travers de l'hémolymphe jusqu'à l'ovaire grâce à leur association à des lipoprotéines (environ 5%). Les plaquettes vitellines se constituent à partir de protéines exogènes ou vitellogénines, généralement élaborées par le corps gras et acheminées par l'hémolymphe. Elles traversent les enveloppes ovariennes et les espaces intercellulaires de l'épithélium folliculaire. Elles sont finalement captées par endocytose à la surface de l'ovocyte (Cassier *et al.*, 1997; Peel et Akam, 2007). Ces dépôts dans l'ovocyte font augmenter ce dernier rapidement de taille tout en le colorant en jaune, voire en jaune orangé chez certaines espèces. Arrivé au terme de sa croissance, l'ovocyte devient légèrement opaque en s'entourant du chorion. La choriogenèse est le fait de l'épithélium folliculaire. A la faveur de 3 cycles sécrétoires successifs, les cellules déposent, à la surface de l'ovocyte, l'enveloppe vitelline, l'endochorion et l'exochorion (Cassier *et al.*, 1997).

La fécondation a lieu juste avant la ponte au passage de l'ovocyte à l'entrée de la spermathèque et l'ovocyte fécondé devient un oeuf. En passant de l'ovariole dans les oviductes, l'ovocyte se dépouille du manchon de cellules folliculaires qui l'entourait ; ces dernières vont constituer, à la base de l'ovariole, une trace de ponte (Fig. 11 A et B). Les traces de pontes où corps blancs sont d'aspect blanchâtre à leur début mais elles jaunissent rapidement. Ces corps blancs ne peuvent être observés qu'à l'aide d'une loupe binoculaire.

Si les conditions de développement se dégradent au cours de la vitellogenèse, l'ovocyte régresse, une partie du vitellus est recyclée mais reste de cet échec une marque très visible qui constitue un corps de régression (ou de résorption) (Fig. 11 A et B) coloré en rouge orangé par les pigments vitellins non réassimilés. Les traces jaunes orangées d'échec de croissance ovocytaire peuvent subsister jusqu'à deux pontes successives ou disparaître rapidement après une autre ponte comme dans le cas du Criquet pèlerin. Dans certaines conditions particulièrement hostiles, la totalité des ovocytes peut régresser ; il n'y a alors pas de ponte (Duranton et Lecoq, 1990).

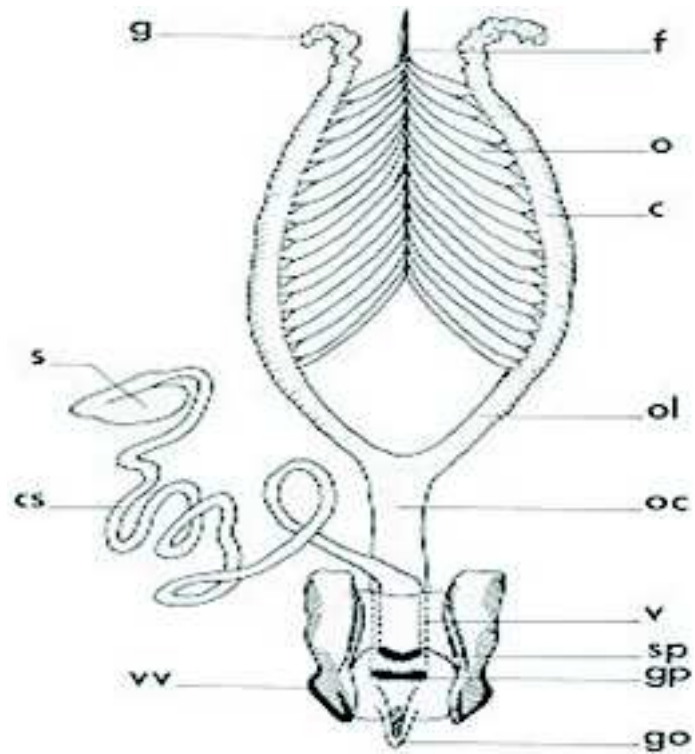


Fig. 9: Appareil génital femelle en vue dorsale (Liu et Leo, 1959 in Duranton et al., 1982)

c : calice, cs : canal de la spermathèque, f : filament suspenseur, g : glandes accessoires, go : guide de l'œuf, gp : gonopore ou orifice génital, o : ovariole, oc : oviducte commun, ol : oviducte latéral, s : spermathèque, sp : orifice de la spermathèque, v : vagin, vv : valve ventrale de l'ovisapte.

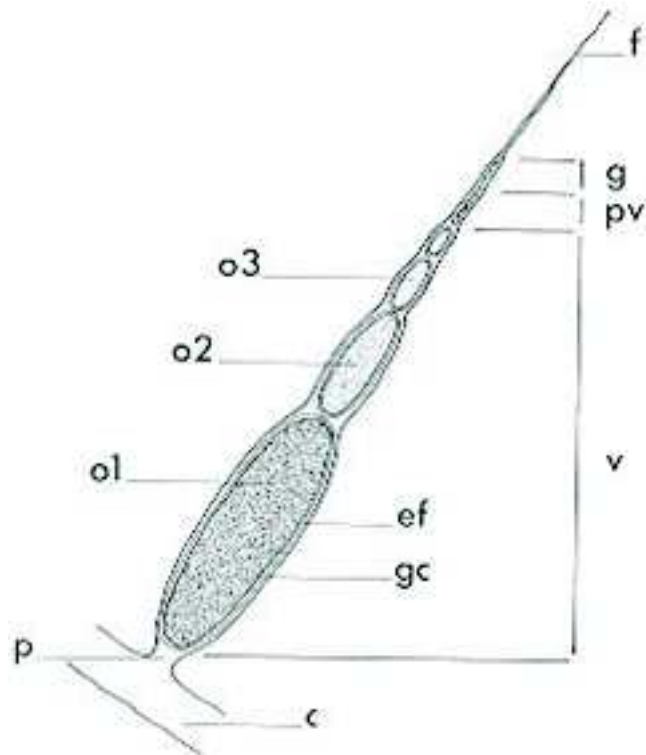


Fig. 10 : Schéma d'un ovariole d'une femelle n'ayant pas pondu (D'après Duranton et al., 1982).

c : calice, ef : épithélium folliculaire, f ; filum terminal, g : germarium, gc : gaine conjonctive de l'ovariole, o1 : ovocyte en fin vitellogenèse, o2 : ovocyte en cours de vitellogenèse, o3 : ovocyte en début de vitellogenèse, p : pédicelle, pv : prévittellarium, v : vitellarium.

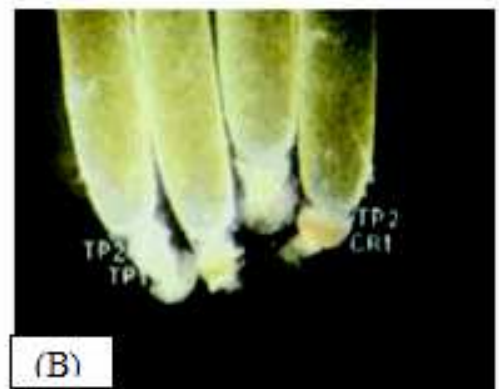
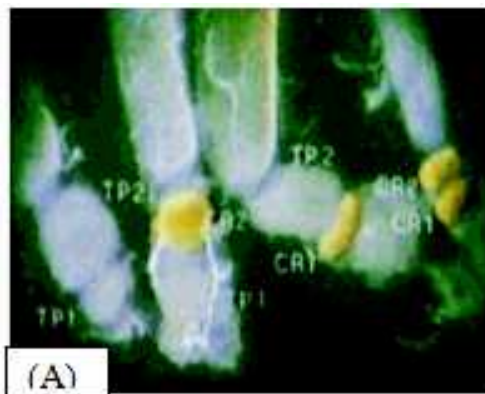


Fig. 11 : Distinction des corps de résorption (CR) et des traces de ponte (TP) (Duranton et al., 1982).

IV- Les ecdystéroïdes

A- Définition

De nombreuses études préliminaires, débutant avec Kopec en 1917 et s'étalant sur près de 20 ans, ont permis de montrer que la métamorphose était d'une part déclenchée par une hormone et d'autre part que celle-ci était synthétisée au niveau du cerveau des animaux. Cette hormone, l'ecdysone (du grec *ecdysis* signifiant mue), a pour la première fois été isolée, purifiée et cristallisée par Karlson et Butenandt (1954), ils en obtiennent 25mg à partir de 500 kg de nymphes de vers à soie ce qui permet de déterminer que l'hormone fait partie de la famille des stéroïdes.

Les ecdystéroïdes représentent une famille d'hormones stéroïdes (un des nombreux lipides possédant un noyau tétracyclique à 17 atomes de carbone) propres aux invertébrés (zooecdystéroïdes) (Rees, 1989) mais que l'on trouve également chez de nombreuses plantes (phytoecdystéroïdes) (Harmatha *et al.*, 2002; Kumpun *et al.*, 2007; Laurence *et al.*, 2001).

Le terme ecdystéroïde(s) est utilisé comme terme générique pour désigner toutes les molécules dont la structure est proche de celle de l'ecdysone (E) (Fig. 12). Sa structure chimique est caractérisée par la présence du squelette carboné du cholestérol, d'une fonction cétone et de cinq groupements hydroxyles (Campiche *et al.*, 2006; Karlson, 1963).

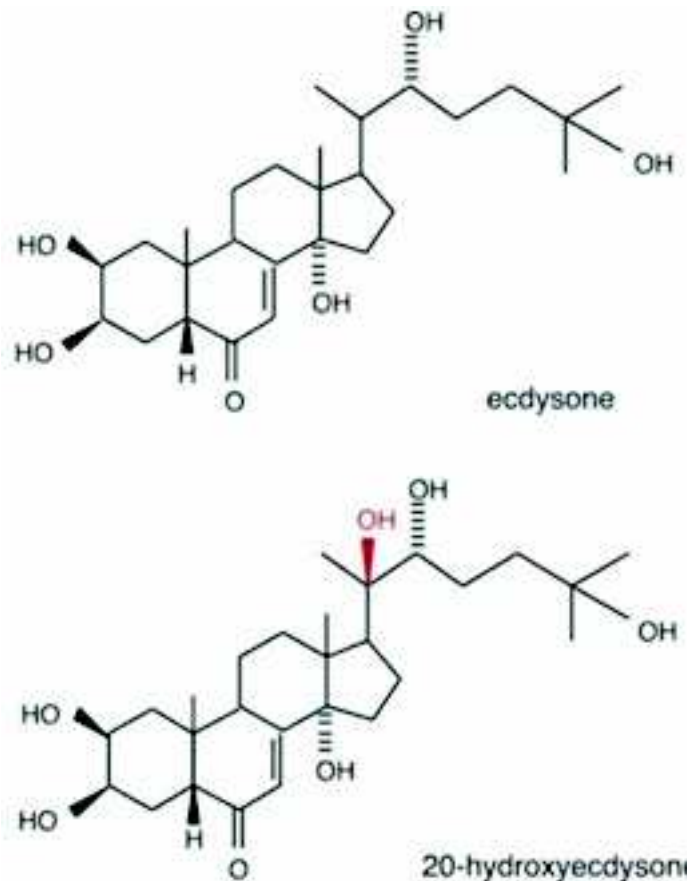


Fig. 12: Structure chimique de l'ecdysone et de la 20-hydroxyecdysone (20E) (Campiche *et al.*, 2006) (en rouge, l'hydroxyle supplémentaire sur le carbone 20)

B- Schéma général de la voie de synthèse de l'ecdysone

Action du Diflubenzuron sur la croissance, la reproduction et l'évolution des ecdystéroïdes hémolympatiques, ovariens et embryonnaires chez le Criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)

La synthèse de l'ecdysone se fait à partir du cholestérol. Les insectes sont incapables d'effectuer de *novo* la synthèse de cholestérol (Lafont, 1997; 2000) et sont donc dépendants entièrement de leur alimentation et des stéroïdes qu'ils y trouvent pour le fabriquer. Le cholestérol est absorbé au niveau de l'intestin puis est transféré dans l'hémolymphe pour enfin être assimilé par la glande prothoracique. Dans cet organe associé au cerveau, se réalisent de nombreuses réactions biologiques catalysées par plusieurs enzymes, dont certaines appartiennent à la famille des cytochromes P450 (Grieneisen *et al.*, 1993; Lafont, 2000; Warren *et al.*, 2002). Au niveau cellulaire, une partie de ces transformations chimiques se produit dans le cytoplasme et une autre dans les mitochondries. Aujourd'hui encore, certains intermédiaires chimiques et de nombreuses enzymes participant à la production de l'ecdysone n'ont pas encore été identifiés (Lafont, 2000; Warren *et al.*, 2002) (Fig. 13).

Les glandes prothoraciques produisent l'ecdysone aussi appelée α -ecdysone, cependant la biosynthèse de la β -ecdysone ou 20-hydroxyecdysone n'a pas lieu dans les glandes prothoraciques elles mêmes, mais dans certains tissus périphériques, principalement le corps gras (Fig. 14).

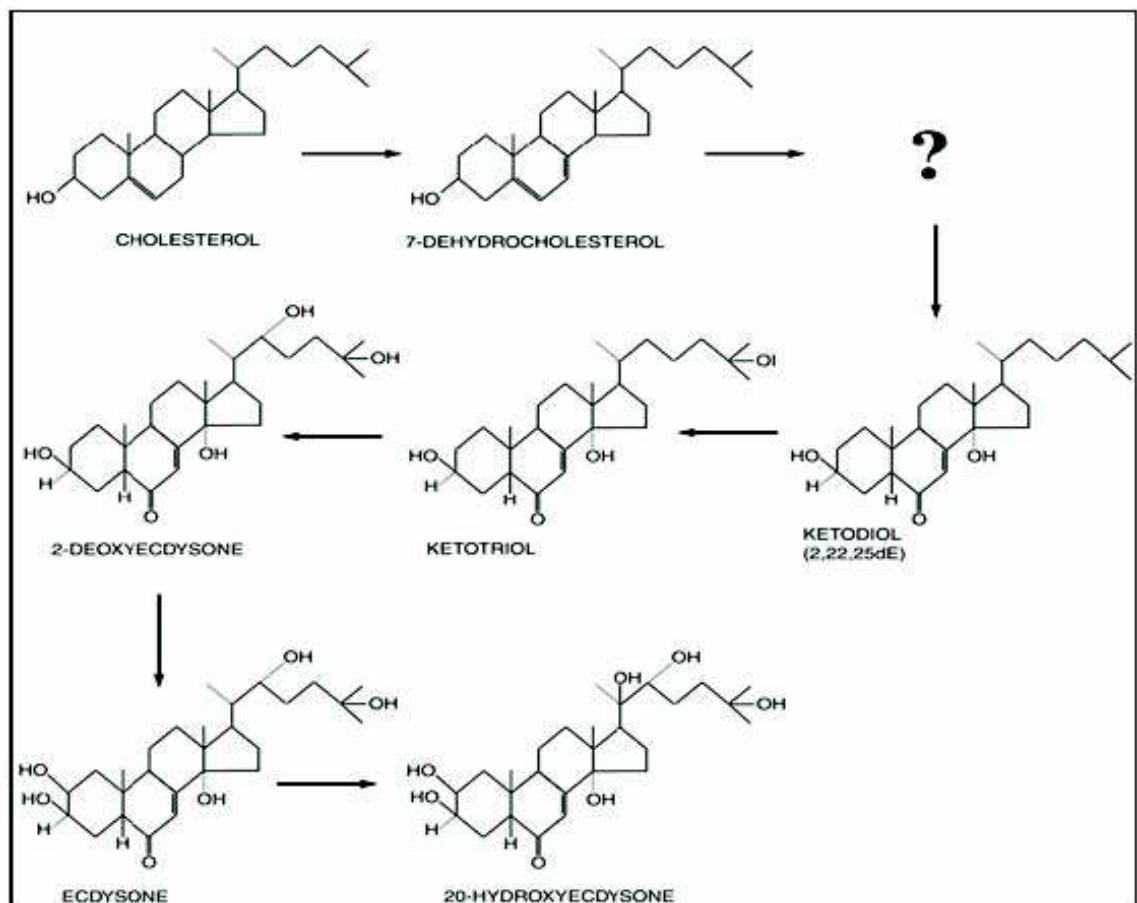
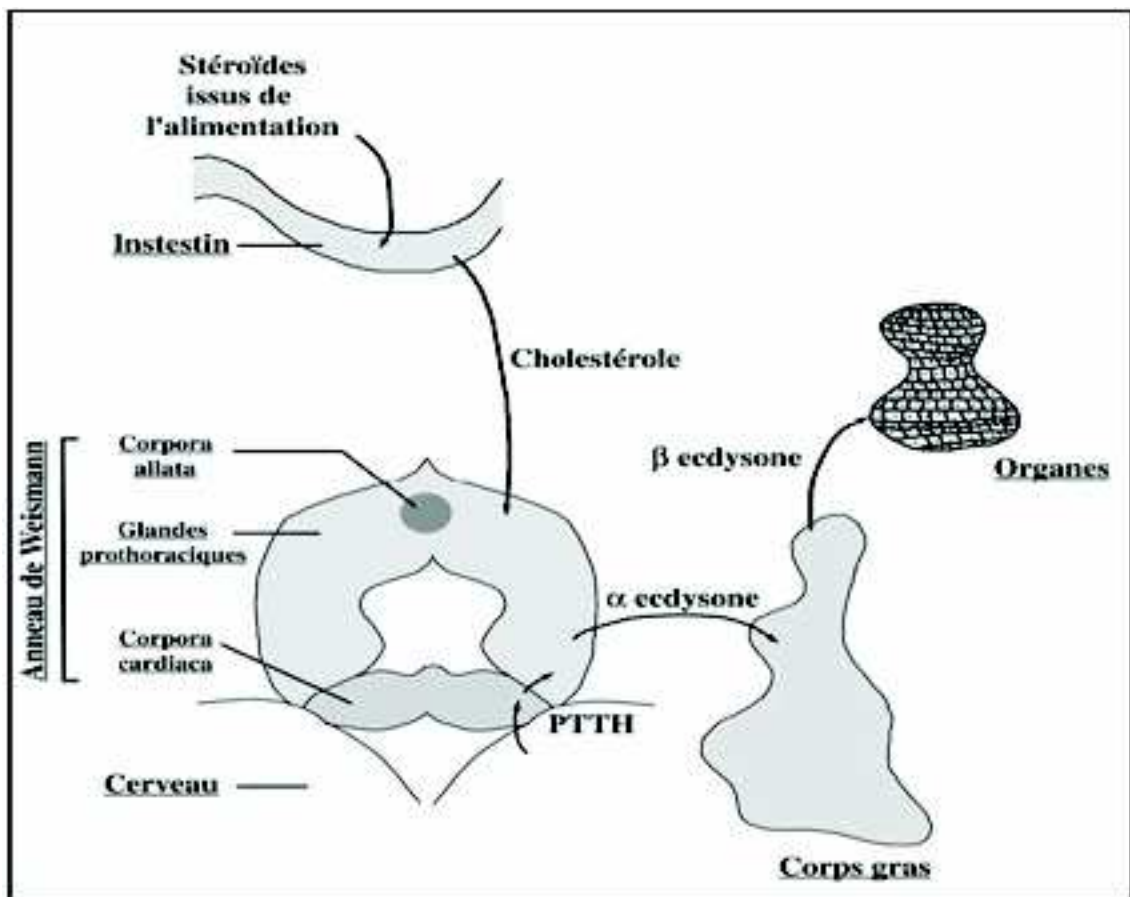


Figure 13. Voie de synthèse de la 20-hydroxy-ecdysone à partir du cholestérol chez la drosophile. Le point d'interrogation symbolise les intermédiaires chimiques encore inconnus (Adaptée de Warren *et al.*, 2002).

La sécrétion de l'ecdysone dans l'hémolymphe est déclenchée par une autre hormone cérébrale, l'hormone prothoracicotrope ou PTTH (Gilbert *et al.*, 2002). Lorsque la larve atteint une certaine taille, la PTTH est sécrétée par quelques cellules neurosécrétrices de la *pars intercerebralis*, au niveau du cerveau, puis est transférée via les axones jusque dans les *corpora cardiaca*, des organes neurohumoraux associés également au cerveau, où elle sera stockée avant d'être sécrétée. Chez la drosophile par exemple, les glandes prothoraciques sont incorporées dans un complexe endocrinien, la "ring gland" ou anneau de Weismann, qui, outre les deux glandes prothoraciques fusionnées, comprend la *corpora allata* impliquée dans la sécrétion de l'hormone juvénile et les *corpora cardiaca* (Fig. 14).

Fig. 14 : La sécrétion de la 20-hydroxy-ecdysone (Warren *et al.*, 2002).



Les stéroïdes contenus dans l'alimentation sont assimilés par l'intestin pour y être transformés en cholestérol. Le cholestérol sert de point de départ à la synthèse d'α-ecdysone dans la glande prothoracique. L'α-ecdysone sous l'effet de l'hormone prothoracicotrope est libérée dans l'hémolymphe. L'α-ecdysone pénètre le corps gras pour y être transformée en β-ecdysone, forme active de l'ecdysone à l'origine des réponses hormonales au sein des différents organes.

Une fois dans l'hémolymphe, l'ecdysone est transportée vers le corps gras, le tégument et les tubes de Malpighi où elle est convertie en 20-hydroxyecdysone (20 E) sous l'action

de la 20- hydroxylase (Lafont, 1997). Ce schéma est récemment compliqué avec la mise en évidence d'autres produits de sécrétion (comme la 3-déhydroecdysone et la 25-désoxyecdysone) souvent majoritaires et variables selon les espèces. Il est difficile de dire actuellement quelle est la signification de cette diversité. Les voies de biosynthèse des ecdystéroïdes à partir du cholestérol sont cependant loin d'être élucidées ; elles comportent en effet une « *boîte noire* » comprenant plusieurs réactions qui restent à élucider (De Loof *et al.*, 2006; Grieneisen *et al.*, 1993; Koolman, 1990; Lafont, 2000; Lafont *et al.*, 2005; Rees, 1995).

Dans l'hémolymphe, les ecdystéroïdes circulent soit sous forme libre, soit sous forme liée à des protéines sanguines mais généralement sans spécificité sauf pour le criquet où l'on a pu isoler un transporteur spécifique (Cassier *et al.*, 1997). La demi-vie de l'ecdysone dans l'hémolymphe est très variable (de 5 minutes à 24 heures en fonction du stade larvaire et de la phase (Girardie, 1991). Les ecdystéroïdes sont hydroxylés et conjugués de différentes manières pour être inactivés au niveau des tubes de Malpighi et de l'intestin, puis excrétés, par l'animal (Blais et Lafont, 1984; Lafont, 1997; Takeuchi *et al.*, 2002) . Hoffmeister *et al.* (1965) montrent que les fèces des insectes contiennent de fortes concentrations d'ecdystéroïdes et que dans le cas de *Schistocerca* il s'agit principalement d'ecdysone.

C- Rôles

Chez les insectes, les ecdystéroïdes sont impliqués à la fois dans le contrôle du développement embryonnaire, post-embryonnaire et de la reproduction (Gäde *et al.*, 1997; Hoffmann *et al.*, 1980; Lanot *et al.*, 1987; Bellés, 1998 ; Lafont *et al.*, 2005; Raikhel *et al.*, 2005). Chez la majorité des insectes, la forme hormonale la plus fréquemment rencontrée est la 20E. Le fait qu'elle se soit révélée plus active que l'E dans certain nombre de bioessais est un argument apporté par les auteurs pour considérer que l'E n'est qu'une « prohormone » dont l'action nécessite une activation préalable. Cependant, l'E pourrait jouer des rôles hormonaux particuliers distincts de ceux de la 20E (Hoffmann *et al.*, 1980) .

1- Fonctions chez les larves

Chez les criquets comme chez la plupart des espèces, la glande prothoracique est la source principale des ecdystéroïdes durant le développement larvaire (Hoffmann et Koolman, 1974; Lafont *et al.*, 2005) et son activité sécrétrice est en rapport avec le cycle de mue (Delbecque *et al.*, 1990). Leur potentiel de production des ecdystéroïdes a été prouvé *in vitro* (Roussel, 1992 ; Li *et al.*, 1997)

Les cellules neurosécrétrices de la pars intercerebralis (Région antérieure du cerveau) médianes (SNC-M) et latérales (SNC-L) produit un (ou des) facteur (PTTH) qui stimule la sécrétion de l'ecdysone par les glandes prothoraciques (PTG). De plus les SNC-M élaborent une neurohormone responsable de l'exuviation (Girardie, 1991) (Fig.15).

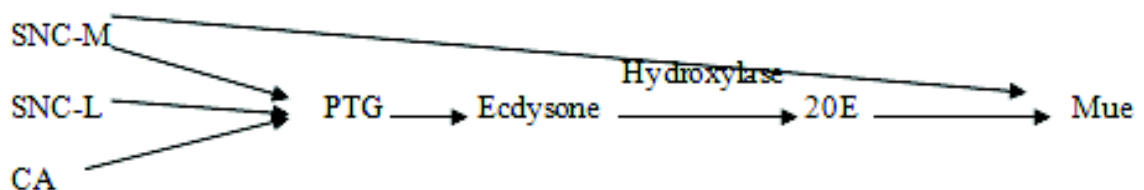


Fig.15 : Schéma simplifié du métabolisme de l'ecdysone chez la larve (Girardie, 1991).

La cinétique de l'ecdysone circulante présente 2 pics : Le premier pic d'ecdysone circulante est constitué essentiellement d'ecdysone. Il est responsable de la crise mitotique des cellules épidermiques conduisant à l'apolyse (décollement cuticulaire). Le 2^e pic, plus important, contient surtout de la 20E; il est responsable de la synthèse de la nouvelle cuticule. La chute d'ecdystéroïdes circulants entre les 2 pics est nécessaire à la mue. L'injection d'hormone à cette période empêche la réabsorption du liquide exuvial d'où retard et même suppression de la mue (Girardie, 1991).

Chaque mue est déclenchée en réponse à l'élévation importante et transitoire de la teneur hémolympatique en 20E. La présence de JH pendant cette période du cycle sera responsable du maintien des caractères larvaires lors de la mue suivante (Riddiford, 1994). En revanche, la disparition de la JH crée un nouveau contexte hormonal qui induira, en présence des ecdystéroïdes seuls, un engagement des tissus vers des programmes de type imaginal (Truman et Riddiford, 2002). Dans ces conditions, les ecdystéroïdes sont définis comme des déclencheurs de la mue alors que les hormones juvéniles déterminent par leur présence ou absence la nature de la mue (Riddiford, 1996).

2- Fonctions chez les adultes

Au cours de l'évolution, les insectes sont parmi les organismes qui ont su les mieux développer diverses stratégies comportementales et physiologiques afin de s'adapter à leur environnement. La diversité des modes de reproduction et la complexité des mécanismes physiologiques qui leurs sont associées sont à l'image de ces adaptations (Thornill et Alcock, 1983). Bien que le système nerveux de l'insecte soit à l'origine de l'orchestration des activités reproductives, le système endocrinien n'en joue pas moins un rôle clé. En effet, de nombreuses études réalisées sur divers ordres d'insectes ont démontré l'implication de l'hormone juvénile, de l'ecdysone ainsi que certaines neurohormones dans le contrôle de la physiologie reproductive (Hoffmann *et al.*, 1980; Hagedorn, 1985; Lanot *et al.*, 1987; Lorenz *et al.*, 1995; Girardie et Girardie, 1996; Bellés, 1998; Raikhel *et al.*, 2005).

L'hormone juvénile, sécrétée par les corps allates, fut reconnue très tôt comme étant impliquée dans la reproduction. Wigglesworth en 1936, fut le premier à démontrer son activité gonadotrophique au niveau du développement des oocytes chez *Rhodnius prolixus*. Or, ce n'est que 40 ans plus tard que l'ecdysone fut identifiée dans les ovaires des femelles chez le moustique *Aedes aegypti* (Hagedorn *et al.*, 1975) et ainsi suspectée de jouer un rôle dans la reproduction des insectes. Puisque les glandes prothoraciques qui synthétisent l'ecdysone au stade larvaire dégénèrent rapidement chez l'adulte, il a été longtemps spéculé que cette hormone n'avait aucune fonction reproductive. Or depuis cette observation, la présence de l'ecdysone a été identifiée chez plusieurs espèces appartenant à différents ordres (ex. *Blattodea* (*Battella germanica* (L.)), Pascual *et al.* (1992); *Isoptera* (*Macrotermes bellicosus*), Bordereau *et al.* (1976); *Orthoptera* (*Locusta migratoria*), Hoffmann *et al.* (1980); *Diptera* (*Drosophila melanogaster*), Rubenstein *et al.* (1982); *Lepidoptera* (*Bombyx mori*), Parlak *et al.* (1992) et ses rôles dans la régulation des activités reproductives sont de mieux en mieux connus.

C'est chez les moustiques anautogènes (qui requièrent une ingestion de sang pour le développement des oeufs) que son activité gonadotrophique a été la plus étudiée et décrite, plus particulièrement chez le moustique de la fièvre jaune, *A. aegypti*. L'ingestion de sang chez ces diptères stimule la sécrétion de l'OEH ("ovarian ecdysteroidogenic hormone I", préalablement nommée EDNH pour "egg-development neurosecretory hormone") par le cerveau, afin d'activer la synthèse et la sécrétion de l'ecdysone par les ovaires (Lea,

1972). Subséquemment, l'E est rapidement convertie en 20E au niveau des ovaires, mais également des corps gras. Martin *et al.*(2001) ont démontré que la 20E maintenait l'expression des gènes de la vitellogénine (protéine constituant 80-90% des substances de réserve de l'oeuf) dans les corps gras, la protéine étant par la suite acheminée et incorporée aux oocytes (Koller et Raikhel, 1991). Par ailleurs, la 20E induit la différenciation folliculaire des ovaires (Beckemeyer et Lea, 1980) et pourrait agir au cours de la choriogenèse (Lin *et al.*, 1993 ; Klowden, 1997). Chez *Drosophila melanogaster*, outre les rôles précédemment décrits, l'ecdysone permet le développement des chambres de l'oeuf (les chambres sont constituées de l'oocyte intimement connecté à quinze cellules nourricières) (Buszczak *et al.*, 1999).

Chez les Lépidoptères selon Ramaswamy *et al.*(1997), la régulation hormonale du développement ovarien varie chez les espèces selon certaines caractéristiques reproductives telles que le stade de développement de la femelle lors de l'initiation de la vitellogenèse, la polyandrie (accouplement multiple des femelles) et l'ingestion de nourriture au stade adulte. Ces aspects de la biologie reproductive des Lépidoptères sont intrinsèquement liés aux stratégies reproductives utilisées par les femelles, lesquelles influencent directement la maturation des oeufs. Ainsi, chez les espèces monandres comme *Bombyx mori*, le développement des oeufs se fait de concert avec le processus de la mue larvaire sous l'action de l'ecdysone. Non seulement les ecdystéroïdes initient la synthèse de la vitellogénine, mais augmentent également la compétence des follicules à incorporer cette protéine dans les oocytes en développement. Chez d'autres espèces (ex. *Plodia interpunctella*, *Diatraea grandiosella*) qui initient la vitellogenèse tôt dans le stade pupal, c'est la chute des titres des ecdystéroïdes qui stimule la synthèse de la vitellogénine. La monandrie et la polyandrie limitée sont généralement les stratégies de reproduction utilisées chez ces espèces. Finalement, chez les espèces polyandres où la maturation ovarienne est complètement (ou presque) dissociée du processus métamorphique, le développement des oeufs est sous la dépendance de l'hormone juvénile, et ce, en l'absence complète de l'ecdysone (ex. *Manduca sexta*, *Helicoverpa zea* et certaines espèces migratrices telles *Pseudaletia unipuncta*). À ce titre, certaines études ont démontré que la présence artificielle de l'ecdysone inhibait l'action gonadotrope de l'hormone juvénile (Satyanarayana *et al.*, 1992 ; 1994).

Chez les Orthoptères, l'hormone juvénile est impliquée dans le contrôle de la maturation ovarienne (Strambi *et al.*, 1997), quoique l'on suspecte l'implication de l'ecdysone dans la production de la vitellogénine (Hoffman et Sorge, 1996). Beaucoup de connaissances acquises sur les ecdystéroïdes ovariens et embryonnaires viennent des études effectuées sur les sauterelles : *S. gregaria* et *L. migratoria* (Hoffmann *et al.*, 1980; Tawfik *et al.*, 1999 ; Tawfik et Sehnal, 2003). Les cellules folliculaires, en plus de leur rôle dans la formation de la membrane vitelline et du chorion (Raikhel et Dhadialla, 1992), sont l'autre site majeur de production des ecdystéroïdes chez les adultes de plusieurs espèces d'Orthoptères (Lagueux *et al.*, 1977 ; Glass *et al.*, 1978; Goltzené *et al.*, 1978; Hoffmann *et al.*, 1980). L'activité exocrine des cellules folliculaires est précédée par une phase endocrine. Les cellules élaborent, à partir du cholestérol, de l'ecdysone, des précurseurs ou des dérivées qui, liés aux vitellogénines, s'accumulent en majeure partie dans l'ovocyte ou passent dans l'hémolymphe. Ces réserves hormonales, d'origine maternelle, contrôlèrent divers aspects de l'ovogenèse (réinitiation méiotique) et de l'embryogenèse (synthèses cuticulaires) (Cassier *et al.*, 1997). Ces biosynthèses folliculaires dépendent d'une neurohormone de la pars intercerebralis, la Follicle Cell Trophic Hormone (FCTH) (fig.16).

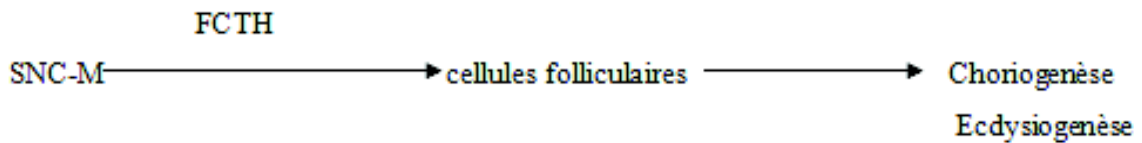


Fig. 16 : Schéma simplifié de la biosynthèse de l'ecdysone par les cellules folliculaires (Girardie, 1991).

La sécrétion des ecdystéroïdes sous l'effet de neurohormones ecdysiotropes débute alors que les ovocytes I commencent à accumuler du vitellus (Cassier *et al.*, 1997)

Ainsi, bien que les rôles de l'ecdysone et de l'hormone juvénile aient été élucidés dans certaines étapes du développement des oocytes chez les insectes, la maturation ovarienne dans son ensemble demeure très complexe puisque de nombreuses interactions synergiques et inhibitrices ont cours entre ces deux hormones et d'autres neurohormones (Bellés, 1995).

Toutefois, certains endocrinologistes ont soulevé l'hypothèse selon la quelle l'ecdysone présente chez les femelles adultes serait transférée dans les œufs afin de favoriser le développement embryonnaire (Hoffmann *et al.*, 1980 ; Delbecque *et al.*, 1990).

3- Fonctions chez les embryons

Une autre fonction des ecdystéroïdes ovariens est de servir de source pour l'embryon de précurseurs d'hormone de mue. En effet, chez la femelle adulte, les ecdystéroïdes ovariens sont transférés à l'œuf sous forme de conjugués inactifs polaires ou apolaires (Gande et Morgan, 1979; Hoffmann *et al.*, 1980; Dinan et Rees, 1981; Hagedorn, 1985; Tawfik *et al.*, 2002), pouvant même être liés parfois à des protéines, telles les vitellines (Hoffmann *et al.*, 1980; Lagueux *et al.*, 1981 ; Hagedorn, 1985; Lanot *et al.*, 1987; Tawfik *et al.*, 1999). Pendant l'embryogenèse, leur hydrolyse enzymatique mettra à la disposition de l'embryon des ecdystéroïdes libres et actifs nécessaires à son développement (Hoffmann *et al.*, 1980 ; Hagedorn, 1985). Les ecdystéroïdes interviennent ensuite dans la régulation des mues embryonnaires (Hoffmann *et al.*, 1980 ; Dinan et Rees, 1981). Les fluctuations dans le taux et la composition des ecdystéroïdes indiquent que ces derniers contrôlent certains processus du développement embryonnaire. Le nombre et la nature des cuticules secrétées par l'embryon varient en fonction de l'espèce. Cependant une corrélation temporelle des pics d'ecdystéroïdes libres avec différents événements de la cuticulogenèse embryonnaire peut être établie chez *S. gregaria* (Sbrenna, 1991) et *Locusta migratoria* (Lagueux *et al.*, 1979). Il semblerait aussi exister une corrélation entre la morphologie de la cuticule élaborée par l'embryon et la nature (structure) de l'ecdystéroïdes stimulant sa production. Lagueux *et al.* (1979), ont détecté 4 pics distincts d'E libres précédant respectivement la sécrétion de la serosa et les trois cuticules embryonnaires. Tawfik *et al.* (1999) ajoutent, que les ecdystéroïdes contrôlent non seulement le dépôt des cuticules embryonnaires, mais jouent également un rôle dans le dimorphisme phasaire chez *S. gregaria*.

Il est probable que le taux d'ecdystéroïdes maternels soit suffisant pour réguler toutes les mues embryonnaires mais il est aussi possible que les glandes endocrines de l'embryon soient fonctionnelles pendant le stade final de l'embryogenèse.

V- La lutte antiacridienne

L'existence d'aires grégarigènes et la succession de périodes d'invasion et de rémission permet d'envisager, contre le Criquet pèlerin, une lutte préventive dont le but est de prévenir tout départ d'invasion. La stratégie de lutte préventive contre ce locuste comporte trois étapes essentielles (Popov *et al.*, 1991; Rachadi, 1991) :

- la surveillance des conditions écologiques dans les aires potentielles de reproduction et de grégarisation (données météorologiques, imageries satellitaires, déductions des modèles bioécologiques) ;
- l'organisation des prospections, aériennes et terrestres, dans les aires devenues potentiellement favorables à la suite de précipitations abondantes ;
- la lutte contre toutes les populations de Criquet pèlerin dépassant un certain seuil, principalement dans les biotopes réputés constituer des foyers grégarigènes.

Pendant les invasions acridiennes, les dégâts causés sont considérables et la lutte chimique devient une nécessité impérieuse. C'est le moyen le plus efficace et le plus important en terme de surface traitée et de possibilités matérielles, financières et humaines mises en œuvre. Il faut une stratégie adaptée à chaque espèce cible pour l'atteindre à une étape de grande vulnérabilité (Launois-Luong *et al.*, 1988).

Par de nombreux aspects, les invasions de locustes s'apparentent à des épidémies. Une fois l'invasion déclenchée dans une des parties de l'aire habitat, elle se propage rapidement de proche en proche jusqu'à contaminer en un laps de temps de 2 ans pour le Criquet pèlerin l'ensemble de son aire d'invasion. Une recrudescence de locuste qui n'a pu être enrayerée à son début a toutes les chances de prendre rapidement une dimension qui la rend incontrôlable. Il faut admettre que, malgré ses moyens techniques considérables, l'homme n'est pas en mesure d'enrayer un fléau sans dégâts à l'environnement. Ainsi, la nécessité de traiter rapidement de grandes superficies exige une logistique sans faille et des produits adaptés (Rachadi, 1991; Showler, 2002). Les insecticides les plus adaptés doivent avoir les caractéristiques suivantes :

Avoir une efficacité relative suffisante, rapportée, à la catégorie de l'espèce considérée, à la phase et à la densité. Ainsi l'efficacité doit être voisine de 100% sur les bandes larvaires de locustes. Les produits qui ont un puissant mode d'action par ingestion et à longue persistance d'action, satisfont le mieux cette exigence (Luong-Skormand *et al.*, 2000).

L'efficacité des traitements peut également être améliorée et les impacts négatifs réduits en choisissant la technique de lutte appropriée. Celle connue sous le nom de traitement en barrière (Wilps, 2004). Elle consiste à traiter des bandes de végétation parallèle avec un pesticide et de laisser entre elles des zones non traitées. Comme les bandes larvaires ont tendance à se déplacer sous le vent lors de leur recherche de nourriture, elles traverseront les bandes de végétation traitée et accumuleront ainsi une dose létale de pesticide (Rachadi, 1991; Coppen, 1999; Wilps, 2004 ; Matthews, 2005; Holt et Cooper, 2006).

Les produits chimiques utilisés actuellement en lutte anti-acridienne sont généralement destinés à tuer les criquets soit immédiatement, soit après un délai plus ou moins long. Ils sont utilisés contre les invasions et les populations acridiennes après s'être assuré du statut du ravageur, du niveau d'infestation et des surfaces envahies. Ces produits se présentent sous la forme de poudre, de suspension huileuse ou de gaz. On distingue les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthriinoïdes et les régulateurs de croissance (Rachadi, 1991) (Tab.2).

Outre les inconvénients dûs au coût des technologies de production des pesticides, on ne peut cependant pas négliger ni les dangers immédiats de la manipulation des

acridicides et l'empoisonnement des écosystèmes naturels par leurs résidus, ni l'apparition de ravageurs secondaires liée à l'impact de ces produits chimiques sur la faune utile.

Famille Chimique	Matière active	Temp. active g/ha	Temp. active g/l	Mode d'action	Cible à privilégier	Particularité
OP	Chlorpyrifos Ethyl	240 à 250	240	contact et ingestion	Ailés et larves	-
OP	Diazinon	900 à 960	500	contact	Ailés	-
OP	Dichlorvos	200	200	contact	Ailés	Produit visqueux
OP	Malathion	960	1000	contact	Ailés	Produit visqueux corrosif
C	Bendiocarbe	200	100	contact et ingestion	Ailés et larves	-
P	Deltaméthrine	12,5	12,5	Contact et ingestion	Ailés et larves	-
P	Lambda-cyhalothrine	40	20	contact	Ailés et larves	Possibilités d'allergie cutanée
OP/C	Phoxim Propoxur	248/42	248/42	Contact et ingestion	Ailés et larves	Association
OP/P	Fénitrothion / Esfenvalérate	245/5	245/5	Contact et ingestion	Ailés et larves	Association
MC	Parathion-Méthyl	240	240	Contact et ingestion	Larves	Diffusion ralentie Encapsulation
MC	Fénitrothion	400	400	Contact et ingestion	Larves	Diffusion ralentie
RC	Téflubenzuron	50	25	Ingestion		Effet différé à la mue suivante

Tableau 2. Matières actives sélectionnées dans la lutte anti-acridienne (Duranton et al., 1987; Rachadi, 1991) MC : micro-encapsulés, RC : régulateurs de croissance, OP : organophosphorés, C : carbamates, P : pyréthriinoïdes.

A- Les régulateurs de la croissance des insectes

L'idée que l'on pouvait intervenir sur l'équilibre endocrine des insectes pour les combattre fut émise par Williams en 1956. Cependant, ce ne fut que dix ans plus tard que Slama et Williams (1966) montrèrent que l'on pouvait au moyen de substances proches de celles existant chez les Insectes intervenir sur les processus de croissance (mues et métamorphose) et donc utiliser ce type de molécules comme source potentielle d'insecticides. Ainsi, de nouvelles matières actives plus spécifiques car agissant sur des mécanismes physiologiques propres aux Insectes, ont vu le jour : les régulateurs de croissance des insectes (Retnakaran et al., 1985).

Les régulateurs de croissance des insectes (RCI) ou encore insecticides de la troisième génération agissent comme des ecdysones, des hormones juvéniles ou des inhibiteurs de chitine. Ce sont des composés synthétiques ou des substances naturelles comme l'azadirachtine, qui interfèrent dans l'équilibre naturel des hormones de mue.

Les Régulateurs de la Croissance des Insectes peuvent actuellement être classés en deux catégories :

- Des RCI perturbant l'action des hormones de développement, hormones juvéniles (JH₃) et ecdystéroïdes
- Des RCI agissant sur la synthèse et la mise en place de la cuticule (Reynolds, 1987) : ils forment principalement la famille des benzoylphénylurées (BPU₃) (Retnakaran *et al.*, 1985)

1- Régulateurs de croissance des insectes perturbant l'action des hormones de développement

Les régulateurs de croissance d'insecte, 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). À 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'hormone de mue, ont été développés et commercialisés. Les analogues de l'hormone juvénile (ex. méthoprène, fénoxycarbe, pyriproxifène et dioféolan) ont pour principaux effets de produire, chez les individus traités, un stade surnuméraire, des larves permanentes ou des intermédiaires larve-pupe (Mauchamp, 1979; Muyle et Gordon, 1989 ; Gadenne *et al.*, 1990). Quant aux produits simulant l'ecdysone (ex. RH-5849, tébufénozide et méthoxyfénozide), leur principale activité réside dans leur capacité à induire une mue prématurée incomplète et létale (Wing *et al.*, 1988 ; Smaghe *et al.*, 1996; Dallaire *et al.*, 2004 ; Berghiche *et al.*, 2007).

2- Les régulateurs de croissance des insectes perturbant la synthèse de la cuticule :

La dégradation et la synthèse périodique d'un exosquelette contenant de la chitine distingue les arthropodes de tout autre phylum, une caractéristique qui peut être employée pour interférer spécifiquement avec ce processus et sa régulation hormonale pour produire des insecticides à faible toxicité pour les vertébrés (Reynolds, 1987).

Les premières matières actives découvertes, interférant sur la mise en place de la cuticule sont les dérivés de la benzoylphénylurée (Post *et al.*, 1974; Verloop et Ferrell, 1977 ; Retnakaran *et al.*, 1985; Ishaaya, 1993; Abo-Elghar *et al.*, 2004; Kostyukovsky et Trostanetsky, 2006).

Dans les années 1970, les chercheurs de la société Philips-Duphar, dans l'espoir d'obtenir un nouvel « herbicide » ont combiné 2 molécules herbicides déjà connues, le dichlobenyl et le diuron. Selon le concept bien connu de Lavoisier « Rien ne se perd, rien ne se crée, tout se transforme », ces chimistes, n'ont pas obtenu un herbicide mais un insecticide. Par substitution de 2 atomes de fluor à 2 atomes de chlore, le diflubenzuron était né (Verloop et Ferrell, 1977)et commercialisé (Retnakaran *et al.*, 1985).

De formule globale $C_{14}H_9N_2O_2F_2Cl$, il appartient à la famille chimique des substitués de l'urée : 1-(2,6-difluorobenzoyl)-3-(4-chlorophényl) urée (Fig. 17)

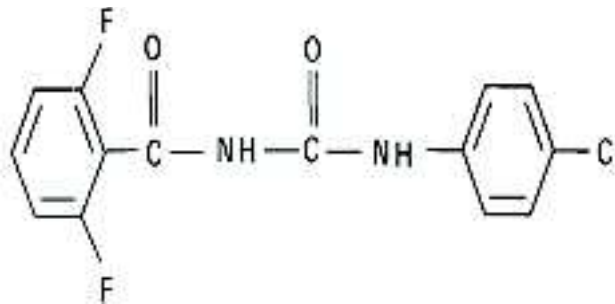


Fig. 17: Formule développée du Diflubenzuron (Van Eck, 1979)

Bien qu'il soit établi que les BPU_s interfèrent avec la synthèse de chitine (Van Eck, 1979), le mécanisme d'action précis de ces composés reste imparfaitement connu (Abo-Elghar *et al.*, 2004; Merzendorfer, 2006). Du point de vue biochimique, on a longtemps pensé que le DFB bloquait la chaîne de synthèse de la chitine en agissant probablement sur la biosynthèse de la chitine synthase (CS), enzyme chargée de la formation de la chitine (Reynolds, 1987), cependant, cette hypothèse n'a pas été confirmée *in vitro* (Cohen, 2001; Merzendorfer, 2006). En outre, le DFB n'inhibe pas la synthèse de chitine chez la levure (Marks *et al.*, 1982). Des modes d'actions alternatifs ont été proposés : induction de la chitinase (enzyme dégradant la chitine), modification du transport ou la fusion de vésicules de transfert, inhibition de la translocation des polymères de chitine à travers la membrane (Reynolds, 1987 ; Nakagawa et Matsumura, 1994 ; Cohen, 2001; Merzendorfer et Zimoch, 2003) ou bien celui suggérant que le DFB inhiberait le transport des précurseurs de la chitine de leur site de production (cellules épidermiques) à celui de leur réaction de polycondensation (Reynolds, 1987 ; Abo-Elghar *et al.*, 2004).

Le DFB est utilisé dans la lutte contre plusieurs ravageurs des cultures et forestiers (Tomlin, 2003; Tunaz et Uygun, 2004) y compris les sauterelles (Matthews, 2005 ; Holt et Cooper, 2006). Il s'est avéré très efficace contre des larves de *Schistocerca gregaria* (Coppen et Jepson, 1996; Dorow, 1996; Lahr *et al.*, 2001; Matthews, 2005). Les BPU_s sont plus efficaces par ingestion que par contact ou encore par application topique, car leur pénétration cuticulaire est relativement basse (Smagghe *et al.*, 1997 ; Medina *et al.*, 2002; Dhadialla *et al.*, 2005). Ces composés sont principalement des larvicides (Wakgari, 1997 ; Oberlander et Silhacek, 1998). Dans certains cas, ils exercent également une activité ovicide, due probablement à l'inhibition de la production de chitine durant le développement embryonnaire (Grosscurt, 1978 ; Elek, 1998).

Très peu de travaux ont été rapportés sur les effets du DFB sur la reproduction comparativement à la littérature abondante traitant de son action sur le développement.

En effet, des études réalisées chez plusieurs espèces appartenant à différents ordres : (Hémiptère, Orthoptères, Coléoptères, Diptères, Neuroptera) ont montré que le DFB et ses analogues pouvaient affecter le développement ovarien (Lim et Lee, 1982) en affectant la taille et l'épaisseur de l'épithélium folliculaire (Perveen et Miyata, 2000) et réduire la fécondité des femelles (nombre d'œufs pondus) (Soltani, 1987 ; Kim *et al.*, 1992; Smith et Wall, 1998; Perveen et Miyata, 2000; Kellouche et Soltani, 2006; Kostyukovsky et Trostanetsky, 2006; Perveen, 2006) ainsi que le pourcentage d'éclosion des œufs chez plusieurs espèces d'insectes (Grosscurt, 1978; Marco *et al.*, 1998; Rumpf *et al.*, 1998 ; Medina *et al.*, 2002, 2003; Abo-Elghar *et al.*, 2004; Cutler *et al.*, 2005).

Le Diflubenzuron est faiblement toxique pour l'homme et ne présente pas de danger pour les mammifères (Bayoumi *et al.*, 2003) (l'OMS le classe dans la catégorie « Risque aigue improbable dans des conditions normales d'utilisation ») et a peu d'effet sur d'autres organismes vivants tels que les oiseaux et les poissons (Campiche *et al.*, 2006; Everts, 1990; Grenier et Grenier, 1993; Lahr *et al.*, 2001; OMS, 2001). Il est également très sélectif puisque son action se fait principalement par ingestion ; les insectes herbivores reçoivent donc une dose plus élevée que les insectes utiles comme les guêpes ou les abeilles prédatrices (Park *et al.*, 1996). Chez l'abeille selon les auteurs, les concentrations varient de 1 à 150 mg/kg, dans la nourriture sont sans effet par ingestion ((Barker et Taber, 1977; Chandel et Gupta, 1992; Tasei, 2001; Tomic *et al.*, 1985). Il est rémanent et reste actif sur la végétation pendant plusieurs semaines; c'est donc un produit efficace pour les traitements en barrières contre les locustes (Cooper *et al.*, 1995 ; Drow, 1996 ; Scherer et Célestin, 1997 ; Coppen, 1999 ; Holt et Cooper, 2006).

Chapitre II : Matériel et Méthodes

I- MATERIEL

A- Matériel biologique : Origine et conditions d'élevage de l'insecte

Nos recherches ont été conduites sur une population de *S. gregaria* originaire d'Adrar (Sahara Central Algérien) qui a été mise en élevage au département de lutte anti-acridienne de l'INPV (Institut National de la Protection des Végétaux).

Les individus de *S. gregaria* sont élevés en masse dans des enceintes parallélépipédiques, de dimensions 60 x 40 x 56 cm selon la méthode utilisée par Ghaout (1990). L'élevage est maintenu grâce à des conditions expérimentales contrôlées. Un thermostat permet de réguler une température de $32 \pm 2^\circ\text{C}$ à l'intérieur des cages tandis qu'un tube fluorescent (60 W) maintient une photopériode de 12 h de lumière sur 12 h d'obscurité, grâce à un interrupteur horaire. L'humidité est comprise entre 50 et 70 %. Les criquets sont alimentés quotidiennement de blé *Triticum durum*, de chou *Brassica oleracea*, de gazon *Pennisetum dichotomum* et un complément protéique à base de son de blé. Des larves de 4^e et 5^e stade sont prélevées à partir de l'élevage de masse le jour de leur mue et réparties dans des cages plus petites, de dimensions 20 x 30 x 15 cm pour servir aux essais.

Des lots nécessaires aux différentes expériences sont constitués d'individus de même âge, des larves âgées ou de jeunes imagos.

B- le diflubenzuron

D'origine hollandaise (Philips-Duphar), le diflubenzuron est commercialisé sous le nom de dimilin. . Le DIMILIN ® 25 WP se présente sous la forme d'une poudre mouillable à 25% de matière active. Il est peu toxique pour les mammifères : la DL50 pour le rat par ingestion est supérieure à 4650 mg/kg (Wilps, 2004). L'insecticide nous a été aimablement fourni par les services de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) d'El-Harrach (Alger).

II- METHODES

A- Traitement par le Diflubenzuron

1- Traitement des larves

Pour étudier l'effet du DFB sur la mortalité des larves du 4^e et 5^e stade de *S. gregaria a*, nous avons adopté les traitements suivants :

- Traitement par ingestion

Les larves de 4^e et 5^e stade nouvellement exuviées sont nourries pendant 24h sur des fragments de chou *Brassica oleracea* de surfaces déterminées traités avec le DFB aux doses de 5, 10, 30 et 60 mg/ml d'eau. Après un temps de séchage d'environ 30 minutes de l'aliment, les larves sont introduites dans les cages. Des témoins du même âge alimentés avec de la nourriture non traitée sont également utilisés

· Traitement par injection :

Des larves de 5^e stade sont injectées avec 25µl de solution de DFB à deux doses différentes 10 et 30 mg/ml d'eau aux criquets du dernier stade (L5). Les criquets sont injectés une fois, le 1^{er} jour du traitement, sous la patte métathoracique à l'aide d'une seringue Hamilton. Pendant l'injection, l'aiguille est maintenue parallèlement à la cuticule pour éviter toute blessure des tissus internes. Les individus contrôles reçoivent une injection de 25µl d'eau.

a- Etude de la mortalité

Afin d'estimer l'efficacité du traitement, nous avons calculé le pourcentage de la mortalité observée chez les larves du 4^e et 5^e stade témoins et traitée au DFB en appliquant la formule suivante :

Mortalité observée = Nombre de morts / Nombre total des individus x 100

Nous avons appliqué la formule d'Abbot (1925), en corrigeant les mortalités observées chez les animaux traités en tenant compte de la mortalité observée chez les témoins.

Mortalité corrigée = $M_2 - M_1 / 100 - M_1 \times 100$

M₁ = Pourcentage de mortalité dans les lots témoins

M₂ = Pourcentage de mortalité dans les lots traités.

b- Calcul des temps létaux 50 (TL50)

Les taux de mortalité quotidiens corrigés sont utilisés pour calculer les TL50. Pour estimer le TL50 (Temps létaux au bout duquel on obtient 50 p. cent de mortalité) de la population traitée, on s'est servi de la transformation en Probit des pourcentages de mortalités corrigées (Bliss in Cavalier, 1976) et la transformation en logarithme décimal des temps (Cavalier, 1976).

Ces transformations nous ont permis d'établir des droites de régression (Probit – Logarithme) de type : $y = ax + b$

Avec **y** : Probit des mortalités corrigées

x : Logarithme du temps

a : pente

A partir des équations des droites de régression, nous avons déterminé le TL50 pour chaque dose et pour chaque stade larvaire.

c- Evolution pondérale

Les larves sont synchronisées dès la 5^e mue larvaire puis séparées en lots correspondants aux différents traitements par les solutions de DFB à 10, 30 et 60 mg/ml et en lots correspondants aux témoins. Nous avons réalisé trois répétitions par traitement et pesé

chaque larve en début d'expérience puis quotidiennement après traitement jusqu'au 10^e jour. Nous notons de ce fait pour chaque individu considéré son évolution pondérale et la durée du stade larvaire au niveau de chaque lot expérimenté et chaque lot témoin. Nous avons étudié 48 individus au total à raison de 12 individus pour chacune des 3 doses.

Pour la suite des expériences sur les larves et les adultes, nous avons utilisé la dose létale moyenne : 30 mg/ml

d- Composition chimique de la cuticule et taux des ecdystéroïdes hémolymphatiques

L'effet du DFB sur la composition chimique de la cuticule et l'évolution des ecdystéroïdes dans l'hémolymphe est étudié en administrant pendant 24 h à des larves nouvellement exuviées une alimentation traitée à la dose de 30 mg/ml d'eau. Des larves de même âge recevant une alimentation non traitée constituent le lot témoin

2- Traitement des adultes

a- Pour l'étude de la reproduction

Des larves de stade 5 sont isolées dès la 5^{ème} mue larvaire dans des cages séparées pour obtenir des imagos femelles synchronisés. Les femelles ayant mué le même jour sont séparées en lots d'individus témoins et lots d'individus sur lesquels seront réalisés les différents traitements.

Des lots de femelles âgées de 5 jours, sont traités séparément par ingestion pendant trois jours à raison de 30 mg de DFB en solution aqueuse. Le moment de l'ingestion coïncide avec le commencement de la croissance des gonades (de 5 à 8 jours après la mue imaginale). Après cette période, une alimentation normale est ensuite dispensée aux animaux traités. Après l'arrêt du traitement, nous avons introduit des mâles matures non traités, prélevés de la population d'élevage, pour l'accouplement. Ceci s'avère indispensable dans la mesure où ces mâles constituent un stimulus fondamental pour la maturation sexuelle chez les femelles de

S. gregaria (Norris, 1954). Des couples de même âge nourris sur un substrat alimentaire non traité, constituent le lot témoin.

Les oothèques sont recueillies dans des pondoires remplis de sable fin, stérilisé et humidifié (15 volumes d'eau pour 100 volumes de sable). Ramassées chaque matin, elles sont placées dans une étuve à 30°± 2°C. Dans ces conditions, l'incubation des œufs dure de 14 à 15 jours. Le moment d'émission de la première ponte, l'intervalle séparant deux pontes successives ainsi que le nombre d'œufs pondus par les femelles témoins et traitées sont déterminés.

Pour éliminer l'influence des variations individuelles au cours des différentes expériences, les individus testés et témoins sont élevés ensemble dans des sous-compartiments de la même cage avant et pendant les expériences.

b- Pour l'étude de la maturation ovarienne et la mesure des taux des ecdystéroïdes dans l'hémolymphe, les ovaires et les œufs.

Dans le but de mesurer l'effet du DFB sur le développement ovarien ainsi que sur l'évolution des taux d'ecdystéroïdes hémolymphatiques, ovariens et embryonnaires, nous avons

procédé comme suit : des femelles prises 5 jours après leur mue imaginale reçoivent une nourriture traitée à la dose de 30 mg de DFB en solution aqueuse. Les individus témoins sont nourris d'une alimentation non traitée.

B- Prélèvement des échantillons

1- Prélèvement de la cuticule des larves

Les abdomens des larves du quatrième et cinquième stades témoins ou traités âgés de 0-4h après la mue, sont prélevés toutes les 24 heures pendant les 4 premiers jours de chaque stade larvaire. Le tégument est isolé et débarrassé à la pince, sous la loupe binoculaire, des masses musculaires et du tissu adipeux qui y adhèrent. Le matériel cuticulaire soigneusement débarrassé des tissus sous-jacents est lavé dans un mélange éther –chloroforme (v/v : 1/1) à température ambiante pendant 24 h afin d'éliminer toutes traces lipidiques. Après rinçage à l'alcool 96°, la cuticule est séchée dans l'étuve à 60°C jusqu'à l'obtention d'un poids sec **P1**.

2- Prélèvement de l'hémolymphe

Les prélèvements de l'hémolymphe se font sur des larves du dernier stade et des femelles témoins et traités au DFB. Après section d'une ou deux pattes, 10 - 15 µl d'hémolymphe sont prélevés sur chaque individu à l'aide d'un tube capillaire préalablement calibré. Chaque échantillon d'hémolymphe est additionné de 300µl de méthanol et conservé à – 20°C pour le dosage ultérieur des ecdystéroïdes.

3- Prélèvement des ovaires

a- Pour l'étude du développement ovarien

Les individus femelles témoins et traités au DFB sont disséqués après les périodes de traitement étudiées du jour 9 au jour 16 après la mue imaginale.

Les individus sont sacrifiés dans un flacon contenant du coton imbibé de chloroforme. On ouvre ensuite dorsalement l'abdomen et le thorax du Criquet à l'aide d'une paire de ciseaux fins et, on écarte à l'aide de deux pinces fines les parois de l'abdomen et du thorax. On coupe ensuite les oviductes latéraux au niveau de leur base et on sépare les deux ovaires gauche et droit avec les deux pinces. Après séparation, les deux ovaires sont placés dans une boîte de Pétri contenant de la paraffine, puis fixés avec des épingles entomologiques. Leur examen se fait sous loupe binoculaire dans une solution aqueuse de NaCl 9‰.

Mesures des ovocytes de base

Dans le but de mesurer l'effet du DFB sur la croissance ovocytaire, nous avons réalisé la dissection des femelles dans une solution aqueuse de NaCl 9‰ sous une loupe équipée d'un micromètre oculaire.

Pour chaque femelle disséquée, nous avons observé 20 ovarioles (10 ovarioles /ovaire) au niveau desquels nous avons mesuré les longueurs des ovocytes terminaux (de rang 1), depuis le 1^{er} jour suivant le traitement (soit le 9^{ème} jour après la mue imaginale), jusqu'à la pleine vitellogenèse, soit le 16^{ème} jour de la vie imaginale. Il est défini 3 classes selon les

3 étapes du développement ovarien : un état juvénile où les ovarioles sont translucides, un état de prévitellogenèse où les ovocytes basaux se remplissent de dépôt blanchâtre, et enfin un état de vitellogenèse où les dépôts vitellins dans les ovocytes deviennent jaunâtres. La taille moyenne des ovocytes des femelles expérimentées est comparée à celle des femelles contrôles.

- Calcul des taux de résorption ovocytaire

Pour chaque femelle disséquée nous avons compté les corps de résorption situés à la base de chacun des 20 ovarioles isolés (10 ovarioles/ovaire) pour chaque femelle. Le pourcentage d'échecs à la ponte (%) par individu est calculé par le rapport du nombre d'ovarioles présentant des Cr sur le nombre total d'ovarioles examinés dans les deux ovaires.

b- Pour le dosage des ecdystéroïdes

Les femelles sont disséquées dans une solution saline aux jours 4, 8, 12 et 16 du premier cycle gonadotrophique. L'excès de la solution de dissection est enlevé, les ovaires prélevés sont mis sur papier aluminium, rapidement pesés puis immergés dans le méthanol (Merck) à raison de 1ml par 100-250 mg de tissu (Tawfik *et al.*, 1999) et conservés à - 20°C pour le dosage.

4- Prélèvement des œufs

Les œufs pondus par les femelles témoins et traitées sont transférés dans un incubateur à 30°± 2°C. Les œufs sont prélevés, aux temps 0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 et 14 jours d'incubation, pesés individuellement à l'aide d'une balance de précision (Sartorius micro type M 500 P), et additionnés de 500 µl de méthanol (Merck) puis conservés à - 20°C jusqu'au moment de dosage des ecdystéroïdes.

C- Dosage des protéines totales et de la chitine de la cuticule sternale abdominale des larves.

La séparation des constituants protéiques et de la chitine est réalisée par hydrolyse basique prolongée, conformément aux indications de Bordereau et Anderson in Abbaci et Hamza (1995). Chaque échantillon de poids sec **P1**, introduit dans un tube scellé est chauffé à 110°C pendant 2-3 heures en présence d'hydroxyde de sodium (2,5 N). Le résidu solide chitineux, est lavé successivement à l'eau distillée, l'acide chlorhydrique (1 N), l'alcool absolu (Merck), l'éther. Il est ensuite séché jusqu'à l'obtention d'un poids sec et pesé **P2**. La différence **P1- P2** représente la masse en protéines de l'échantillon. Les pesées sont réalisées grâce à une balance de précision.

- P1-P2 : correspond à la teneur en protéines totales cuticulaires
- P1 : poids sec de la cuticule (mg)
- P2 : quantité de chitine (mg)
- Taux de protéine = $[(P1 - P2) / P1] \times 100$
- Taux de chitine = $P2 / P1 \times 10$

D- Dosage enzymo-immunologique (EIA) des ecdystéroïdes dans l'hémolymphe, dans les ovaires et dans les œufs

1- Extraction et purification des ecdystéroïdes

a- Ecdystéroïdes de l'hémolymph :

Chaque échantillon d'hémolymph conservé dans le méthanol est soniqué pendant 5mn puis centrifugé (5000t, 10mn). Le surnageant est prélevé. L'opération est répétée : les deux surnageants sont rassemblés et évaporés sous azote. L'échantillon sec est repris dans 500µl de tampon EIA (tampon phosphate de potassium 1M, PH 7,4, additionné de NaCL, EDTA tétrasodique et sérum albumine bovine (0,1%).

b- Ecdystéroïdes des Œufs et des ovaires :

Les extractions des ecdystéroïdes sont effectuées sur des oeufs traités et témoins. Chaque échantillon est broyé à l'aide d'un piston plastique dans 500µl méthanol pour les œufs et à l'aide d'un Potter dans 2 ml méthanol pour les ovaires. Chaque extrait est soniqué, centrifugé à raison de 9000 tours/mn pendant 10 minutes, puis le surnageant est prélevé. Une seconde extraction du culot est réalisée avec le même volume de méthanol. Les 2 surnageants sont rassemblés et évaporés sous vide (Speed vac Concentrator). On effectue ensuite une partition chloroforme : eau (v/v:1:1) pour éliminer les lipides. L'extrait sec est repris dans 500 µl d'eau pour les œufs et dans 2 ml d'eau pour les ovaires , puis le même volume chloroforme est ajouté, l'échantillon vortexé et centrifugé. La phase aqueuse supérieure, contenant les ecdystéroïdes, est prélevée. Une deuxième partition est réalisée en ajoutant le même volume d'eau que précédemment. Les extraits aqueux sont rassemblés puis évaporés sous azote.

Dans les œufs, une grande quantité d'ecdystéroïdes est sous forme de conjugués non directement mesurables par EIA. Une hydrolyse enzymatique des conjugués permet de libérer les ecdystéroïdes libres dosables par EIA. Un aliquote de chaque échantillon est repris dans 1ml de tampon acétate de sodium (0,1 M, pH 5,3) contenant une enzyme lytique (β -glucuronidase Type H1, Sigma) à raison de 100 unités par ml, puis incubation en agitation une nuit à 37°C.

Les échantillons sont ensuite purifiés par passage sur une petite cartouche de silice Sep-pak C18 (Waters) (Lafont *et al.*, 1982):

- Conditionner la colonne avec 5 ml d'éthanol
- Passer 5 ml d'eau pure
- Passer l'échantillon aqueux puis rincer avec 2 ml d'eau, les ecdystéroïdes sont retenus sur la cartouche (on élimine dans un premier temps le tampon)
- Elution par 4 ml de méthanol Merk dans un tube
- Évaporer le méthanol sous Speed Vac,

Après séchage, l'échantillon sec est repris dans 2 fois 500 µl de méthanol. Puis le méthanol est évaporé sous vide (Speed Vac). Les extraits secs sont repris par 500µl de tampon EIA

2- Dosage enzymo-immunologique des ecdystéroïdes

Le principe :

L'EIA (enzymo immuno assay) consiste en une mise en compétition des ecdystéroïdes que l'on cherche à doser avec un traceur enzymatique (20E liée à la peroxydase) de quantité connue, vis-à-vis d'un anticorps anti-ecdystéroïde de lapin : AS4919 suivant le protocole mis au point par Porcheron *et al.* (1989) (fig. 18).

Protocole expérimental pour l'E.I.A.

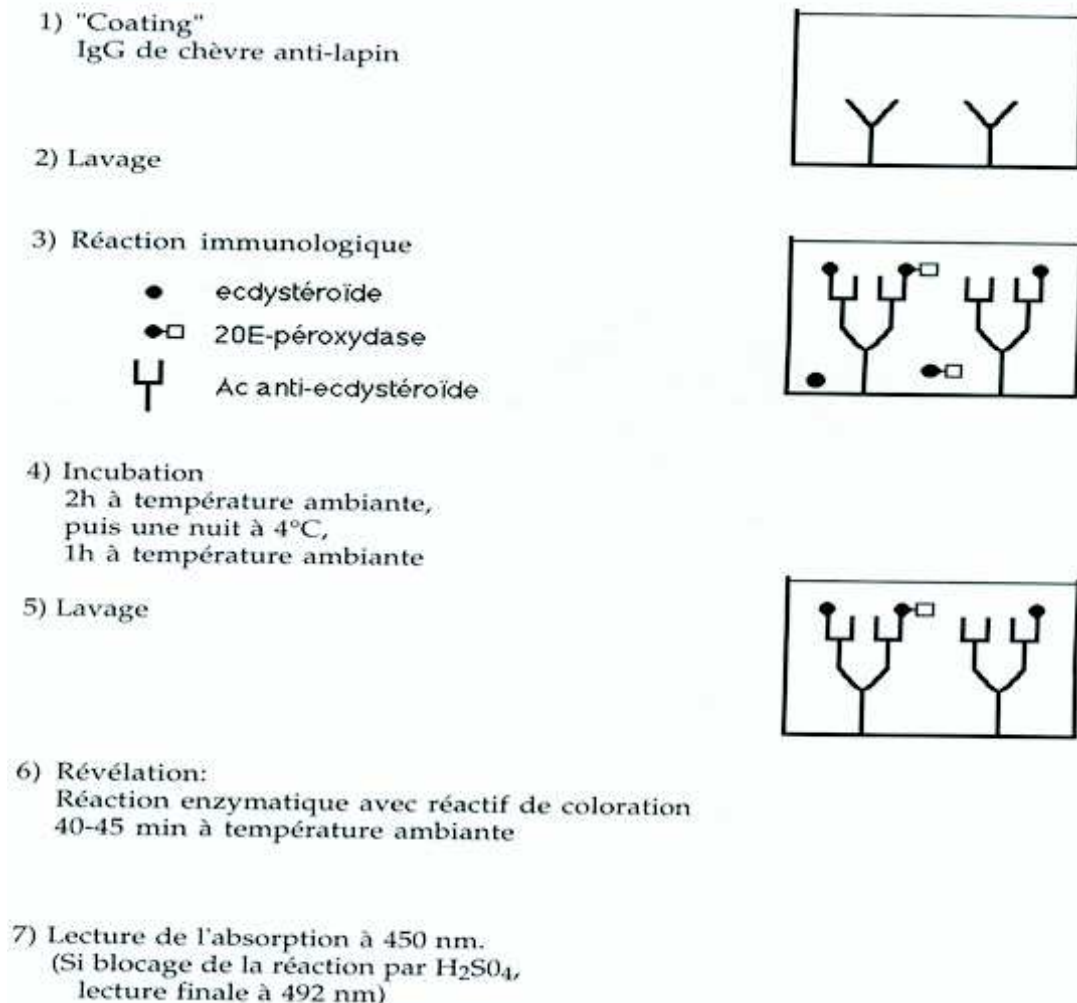


Fig. 18: Protocole du dosage enzymo-immunologique (E.I.A)

Mode opératoire

a- Préparation des plaques : « Coating »

Pour coater :

On immobilise sur chaque plaque de microtitration à 96 puits (Greiner), un anticorps de chèvre anti-immunoglobines de lapin (IgG de chèvre anti-lapin). Pour cela on dépose 200 µl d'une solution contenant 0,25 µg de l'anticorps dans du tampon phosphate 50 mM (pH 7,4) dans chaque puits de la plaque.

saturation :

Après 24 heures d'incubation à température ambiante, 100 µl de tampon EIA à 3 g/l (0,3%) de sérum albumine bovine (BSA) est ajouté dans chaque puits avec un Multistepper. La saturation s'effectue en 12 heures à +4°C. La plaque couverte du film autocollant est ensuite stockées toujours à +4°C jusqu'à son utilisation

b- Réaction immunologique

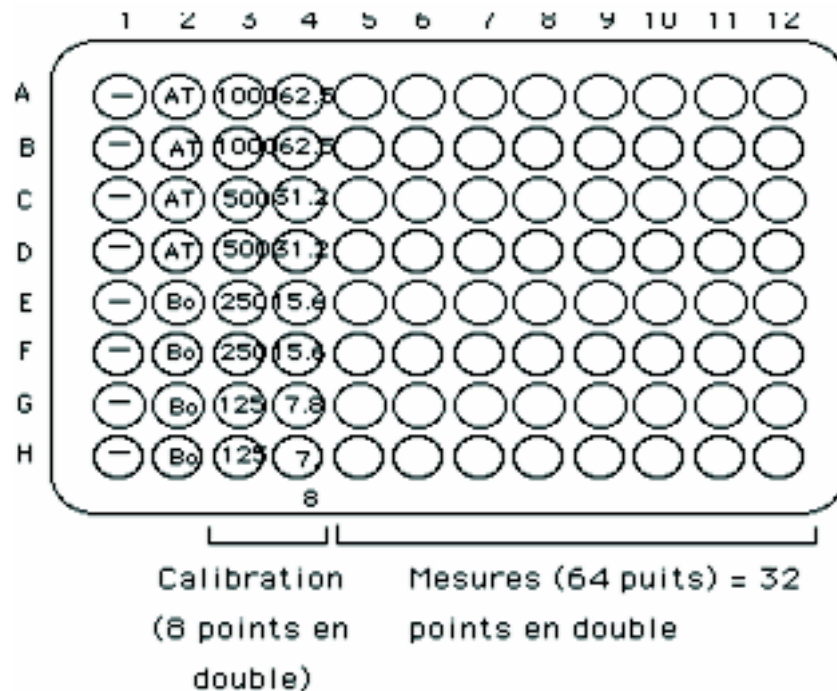
Au moment de l'utilisation, la plaques est lavée (5 cycles) avec un tampon de lavage (tampon phosphate 50 Mm PH 7,4 ; 0,05 Tween 20) afin d'éliminer toute trace d'anticorps anti-lapin non fixé.

Les réactifs sont distribués dans l'ordre suivant

- le traceur enzymatique (ecdysone-peroxydase) (d 1/100 000)(50 µl)
- les standards (50 µl) – les échantillons (50 µl)
- L'antisérum anti-ecdystéroïdes (50µl) (AS4919 d 1/100000)

La gamme standard ou d'étalonnage est composée de 8 concentrations connues de l'hormone standard, la 20-hydroxyecdysone. On réalise à partir d'une solution mère la plus concentrée (4000 fmol) une série de dilutions successives afin d'obtenir des concentrations finales différant d'un facteur 2.

La réaction est réalisée dans un volume total de 150 µl. Aucun réactif n'est distribué dans la première colonne de la plaques, qui sera utilisée pour le blanc à la lecture spectrophotomètre.



- Témoin (T) : 50 µl de traceur enzymatique
100 µl de tampon EIA en double
- B0 : 50 µl de traceur enzymatique
50 µl de tampon EIA
50 µl d'antisérum en quadruple
- gamme standard : 50 µl de traceur enzymatique
50 µl de standard

50 μ l d'antisérum en double

échantillon : 50 μ l de traceur enzymatique

: 50 μ l d'échantillon

: 50 μ l d'antisérum

La liaison non spécifique (NSB) du traceur avec la plaque est déterminée en utilisant un mélange dans lequel l'antisérum et l'ecdystéroïde standard sont remplacés par 100 μ l de tampon EIA. L'activité enzymatique du traceur lié à l'anticorps en l'absence de compétiteur (B_0), est déterminé en utilisant un mélange dans le quel l'ecdystéroïde standard est remplacé par 50 μ l de tampon EIA

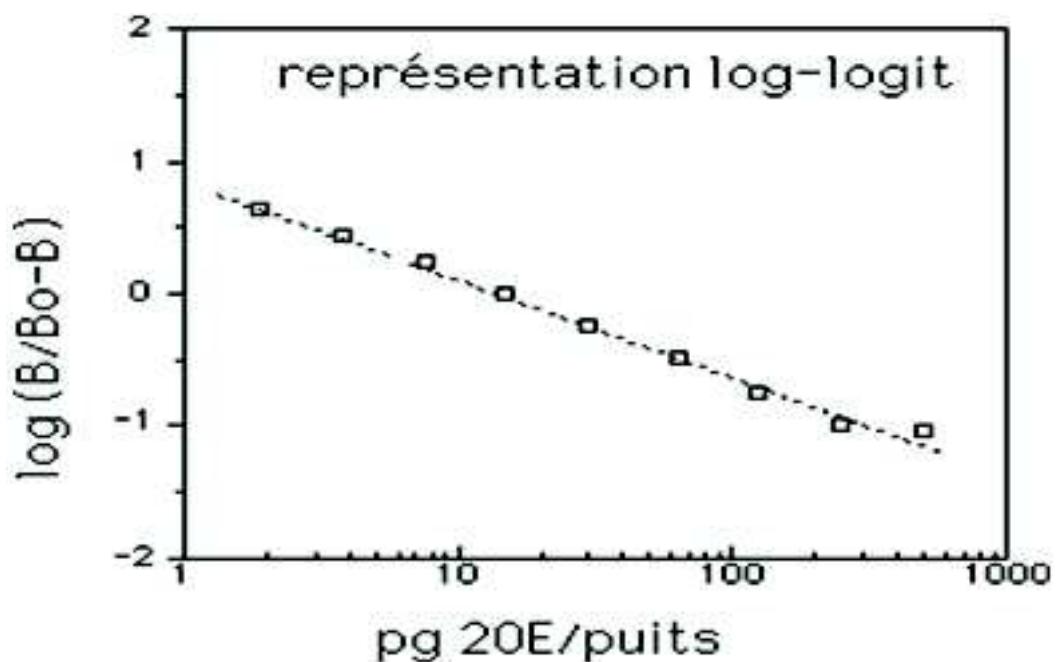
L'incubation est effectuée en agitation pendant trois heures à température du laboratoire.

c- Mesure de l'activité enzymatique

La plaque est lavée à nouveau (5 cycles) pour éliminer les réactifs en excès substances (traceur, Anticorps) libres. 100 μ l du substrat enzymatique (tampon phosphate-citrate 0,1M, pH 5 ; 1 pastille de 5 mg ortho-phénylènediamine ; H_2O_2 30%) sont déposés dans chaque puits. La plaque recouverte de papier aluminium est laissée en agitation pendant 1h à température du laboratoire. La lecture de la densité optique de la plaque est effectuée au spectrophotomètre à 450 nm (optimum de révélation de la peroxydase en 1 h) (B_0 de 0,3-0,4 Unités D.O. au moins).

d- cul

Les résultats sont exprimés en pourcentage de B/B_0 (où B représente l'absorbance mesurée) en fonction de la concentration en ecdystéroïdes. Cette courbe est linéarisée par une transformation graphique des variables en logarithme pour la concentration et en LOGIT pour le pourcentage de B/B_0



La représentation dite log-logit consiste à utiliser en ordonnées la fonction $\text{logit}(B) = \log(B/Bo-B)$

On trace donc la fonction : $\log(B/Bo-B) = f(\log[H])$ qui s'avère être une droite, à partir des concentrations en ecdystéroïdes des échantillons sont estimées.

E- lyse statistique :

Les données sont représentées sous forme de moyenne (\pm Ecart-type) établie sur un effectif qui est précisé dans les résultats.

Les moyennes des différentes séries ont été comparées deux à deux avec le test *t de Student* : le seuil de signification (p) est égal ou inférieur à 5% (différence significative) ou 1% (différence très significative).

Tandis que les comparaisons multiples des moyennes ont été réalisées en utilisant une analyse de variance (ANOVA) (Minitab, 2000). Elle permet de savoir si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions. Lorsque plus de 2 modalités interviennent par facteur, nous avons appliqué en outre le test de Tukey qui intervient après l'ANOVA. Il permet de vérifier la significativité de la variable d'intérêt entre toutes les combinaisons des modalités.

Test non paramétrique Mann-Whitney : suppose que les données sont des échantillons aléatoires et indépendants appartenant à deux populations de même forme (et donc de même variance) et que l'échelle est continue ou ordinale (naturellement ordonnée) si elle est discrète. Le test des rangs signés à 2 échantillons est légèrement moins puissant (l'intervalle de confiance est plus large en moyenne) que le test à 2 échantillons avec regroupement des variances d'échantillons lorsque les populations sont normales, et beaucoup plus puissant (l'intervalle de confiance est plus étroit, en moyenne) pour beaucoup d'autres populations.

Chapitre III : Effets globaux du diflubenzuron sur le développement des larves du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*.

Des essais ont été réalisés pour établir dans un premier temps l'efficacité larvicide du Diflubenzuron appliqué par ingestion et injection. En plus de la mortalité, nous avons mesuré le TL50, la croissance pondérale, la durée du stade larvaire, les atteintes morphologiques et la composition de la cuticule de *S. gregaria*.

I- étiologie de mortalité des larves de 4^e et 5^e stade de *S. gregaria*

Les examens réalisés avec le Diflubenzuron avaient comme objectif, de vérifier si ce produit pouvait occasionner parmi les larves de *S. gregaria* des taux de mortalité suffisamment élevés pour obtenir une protection efficace des cultures.

Le Diflubenzuron, administré pendant 24h aux doses de: 5, 10, 30 et 60 mg/ml d'eau aux larves du quatrième et cinquième stade nouvellement exuvies de *S. gregaria* par ingestion, présente une toxicité avec une relation dose-réponse. La mortalité est le premier critère de jugement de l'efficacité d'un traitement.

Le DFB a permis d'obtenir une mortalité de 100 % pour toutes les populations testées, L4 comme L5. Néanmoins, nous constatons que les pourcentages de mortalités enregistrés après traitement varient avec le stade de l'insecte et la dose administrée.

Les pourcentages de la mortalité corrigée chez les larves de 4^e et 5^e stade témoins et traitées au DFB sont représentées par les figures 19 (A et B). Chez les L4 traitées par ingestion, les 100 % ayant été atteints respectivement au bout de 3 jours, 9 jours, 9 jours et 12 jours avec les doses 60, 30, 10 et 5 mg/ml (Fig. 19A). Chez les L5 traitées aussi par ingestion et aux mêmes doses, le taux de 100% a également été atteint au bout de 5 jours, 12 jours, 12 jours et 17 jours (Fig. 19B).

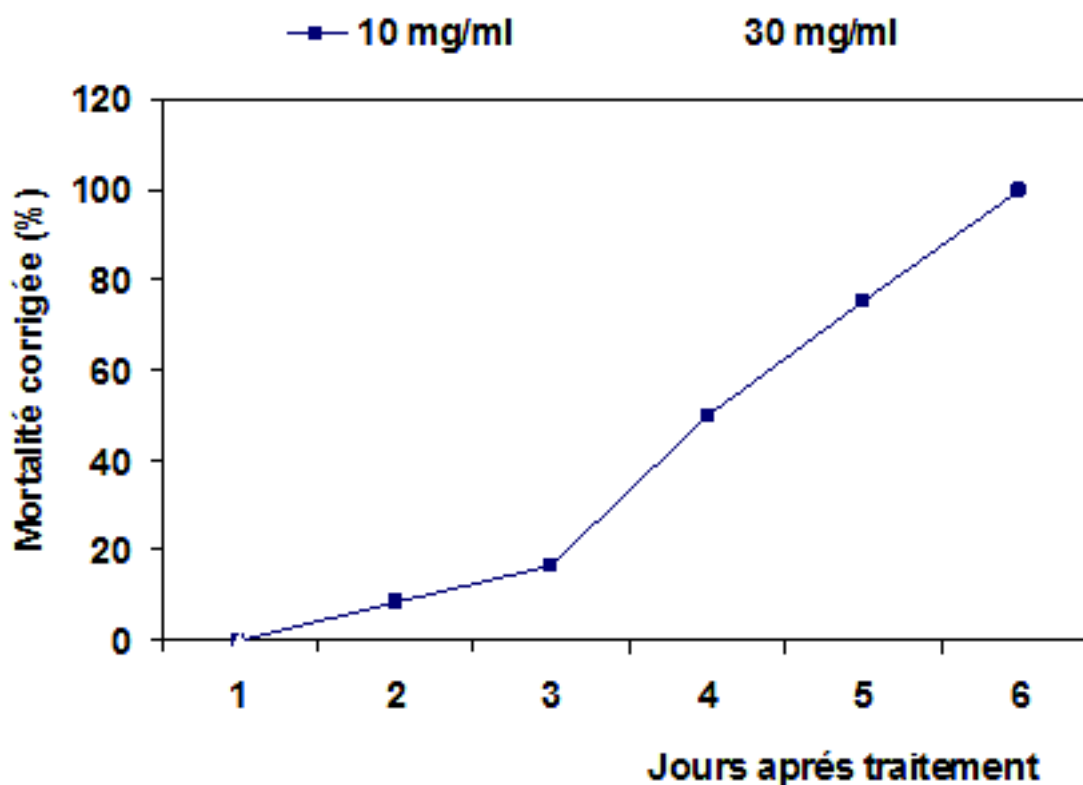


Fig.20 : Mortalités corrigées (%) chez les larves du cinquième stade de *S. gregaria* traitées au DFB par injection. Les données représentent les valeurs moyennes respectives au cours des essais sur 12 larves pour chaque essai.

II- Evaluation des TL50

Les taux de mortalité corrigée précédemment calculés nous ont servi pour calculer les TL50. Rappelons que les temps létaux au bout desquelles on obtient 50% (TL50) de mortalité de la population de *S. gregaria* traitées sont obtenus à partir des droites de régression des logarithmes décimaux des temps en fonction de taux de mortalité corrigée chez les larves traitées au DFB (Fig. 21 et 22). En effet, il existe une liaison étroite entre les différentes doses et les taux de mortalité obtenus. Ceci est confirmé par le coefficient de corrélation compris entre 0 et 1 ($0 < R < 1$), donc la corrélation est dite positive (Combes et Saada, 1968).

De même, le calcul des TL50 nous renseigne sur l'importance de l'effet du DFB dans le temps. Nous avons calculé les TL50 uniquement pour le mode ingestion, qui est le mode de traitement préconisé sur terrain. Les temps létaux calculés varient en fonction de la dose et du stade de l'insecte. Le TL50 le plus court, est enregistré chez les L4, traitées par ingestion avec la plus forte dose (60mg/ml) avec 1, 92 jours, alors que le temps le plus long avec 7,83 jours est obtenu avec la dose la plus faible (5mg/ml) (fig. 21). Cependant, pour les L5 et pour les mêmes doses, les TL50 obtenus sont plus longs avec respectivement 2,51 jours et 11,25 jours (fig. 22). D'après nos résultats, on remarque que les TL50 sont étroitement liés aux doses létales testées et suivent une progression géométrique. En effet, le temps le plus court où on enregistre le taux de mortalité le plus élevé est relatif à la dose la plus

Action du Diflubenzuron sur la croissance, la reproduction et l'évolution des ecdystéroïdes hémolympathiques, ovariens et embryonnaires chez le Criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)

forte (60 mg/ml), suivie par les doses moyennes (10 et 30 mg/ml) et enfin par la dose la plus faible (5mg/ml), où le TL50 est plus long. Nous avons ensuite procédé pour les L5, à une comparaison des deux modes d'administration (ingestion - injection) et des deux doses testées : 10 et 30 mg/ml. Le mode par injection a plus d'effet et induit des TL50 plus courts (fig. 23)

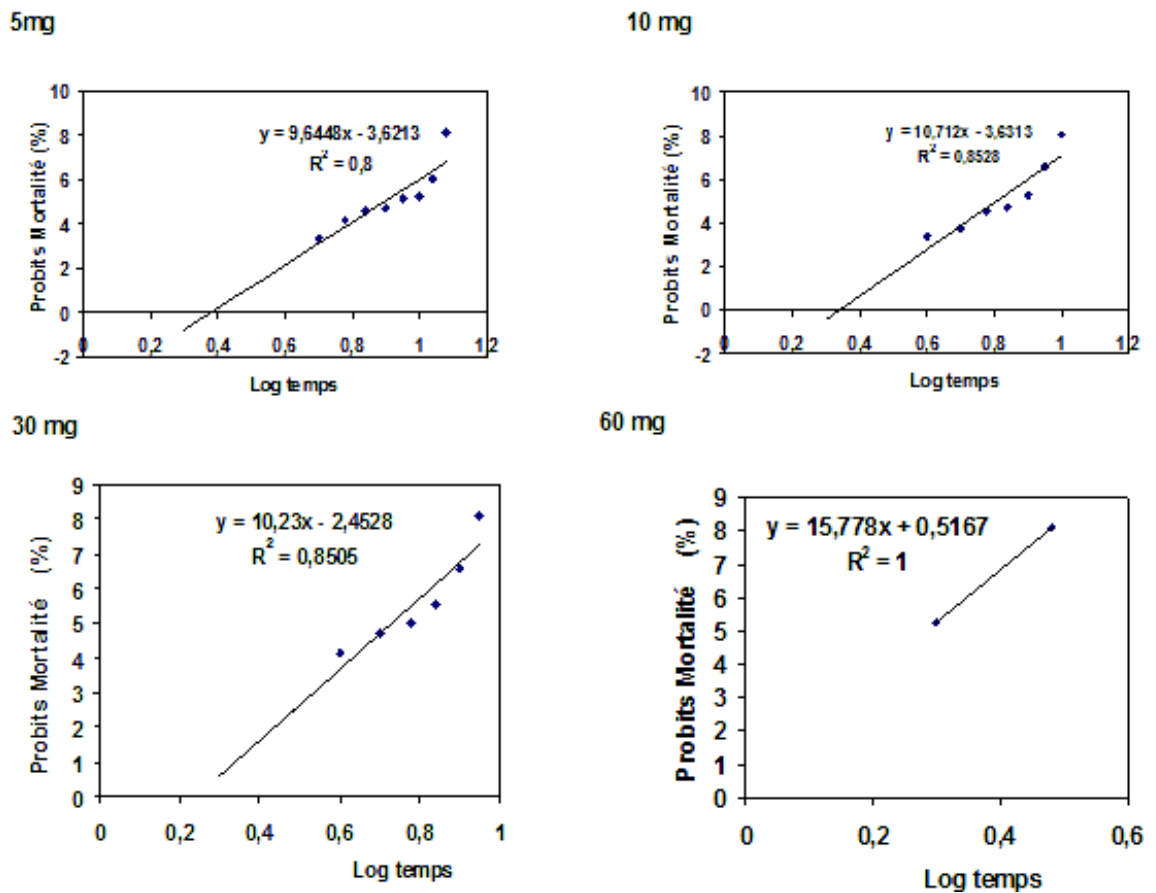


Fig.21 : TL50 chez les L4 traitées au DFB aux doses (5, 10, 30 et 60mg/ml) par ingestion

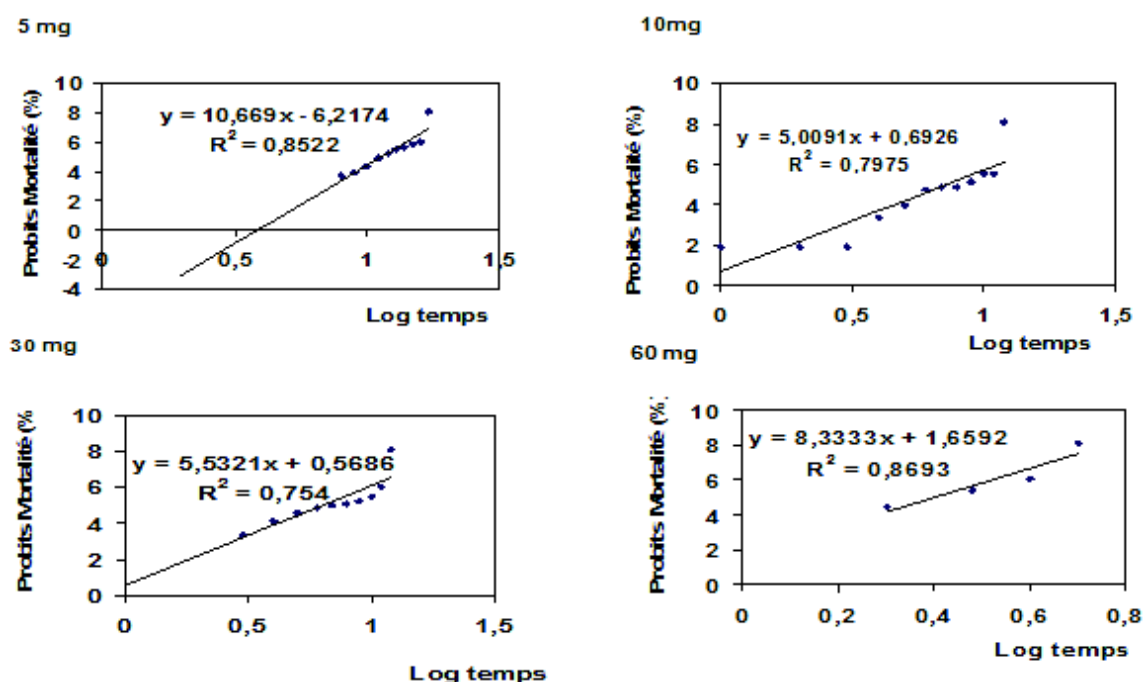


Fig.22: TL50 chez les L5 traitées au DFB aux doses (5, 10, 30 et 60 mg/ml) par ingestion.

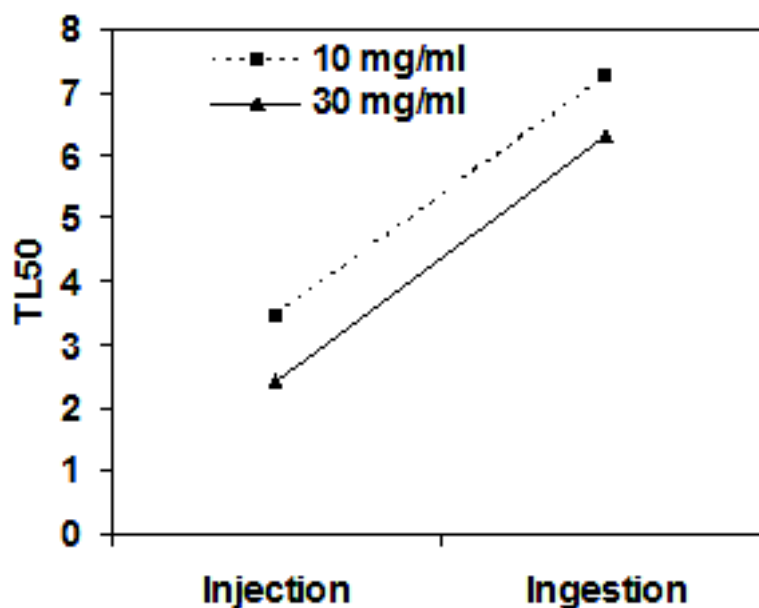


Fig. 23 : Variation des TL50 pour les effets de la dose et du mode de traitement chez les L5.

III- Evolution pondérale

Pour voir si le DFB affecte la croissance pondérale, nous avons pesé initialement, les criquets L5 témoins et traités pendant 24h par ingestion aux trois doses : 10, 30 et 60 mg/ml, puis quotidiennement pendant 10 jours. Les résultats sont synthétisés dans la figure 24.

Une perte de poids progressive est enregistrée chez les individus traités aux trois doses comparativement aux témoins. Toutefois il y a lieu de souligner que la chute de poids est beaucoup plus marquée chez les sujets traités à la dose la plus forte (60 mg/ml) que chez ceux traités à la dose moyenne (30 mg/ml) et à la dose la plus faible (10 mg/ml). En revanche, on remarque qu'il y a un gain de poids régulier pour les larves contrôles. Pour les L5 témoins n'ayant subi aucun traitement, la croissance s'est poursuivie normalement, et l'ensemble des individus ont accompli leur mue imaginale.

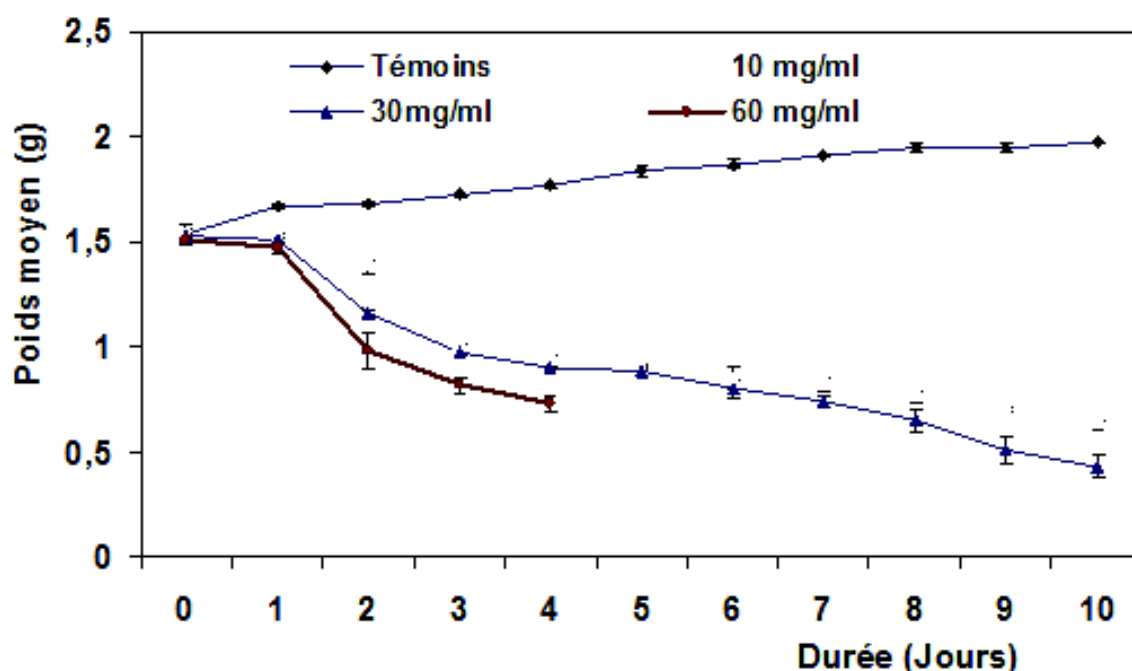


Fig. 24 : Evolution comparée du poids (g) des larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB par ingestion. Les données représentent les valeurs moyennes (\pm Ecart-type) respectives au cours des essais sur 12 larves pour chaque essai.

Nous avons cherché à vérifier par une analyse de la variance ANOVA si les pertes de poids des larves traitées diffèrent significativement des pertes de poids des larves témoins en fonction du temps. Il est clair que le traitement ($p = 3\%$) a un effet très net sur les pertes de poids des larves, et que cet effet se maintient jusqu'à la fin de l'expérience (Tab. 3).

Facteurs	Sommes des carrés	ddl	Carrés moyens	F	P
Temps	3,6422	1	4,8857	4,2148	0,000
Traitement	22,5512	3	0,0565	4,88	0,003
Individus	0,0588	12	0,0049	193,74	0,952
Erreur	1,5301	132	0,0116		

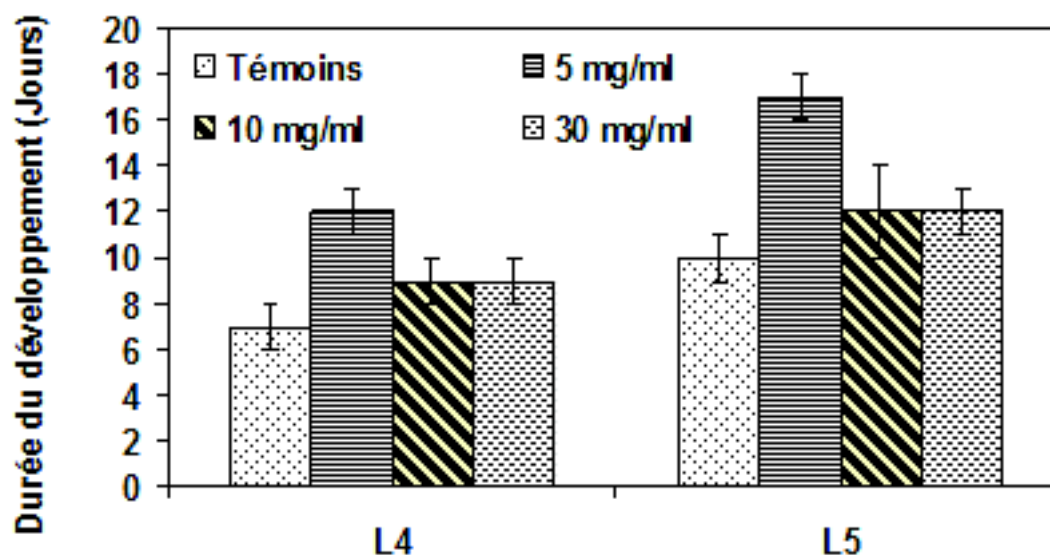
Tableau 3: ANOVA des poids des larves du dernier stade (L5) en fonction du traitement et du temps.

IV- Durée du stade larvaire

Dans les différents lots de larves des deux derniers stades traités avec chacune des 3 doses (5,10 et 30 mg/ml) du DFB par ingestion pendant 24h, nous notons les mortalités individuelles journalières durant toute la durée de l'expérimentation. Le nombre de jours de survie larvaire moyenne est calculé pour chaque lot considéré. Les résultats sont représentés sur la figure 25.

Chez les témoins, on remarque que les larves du 4^e et 5^e stade ont accompli respectivement leur 4^e mue larvaire et leur mue imaginale au bout de 7 et 10 jours. En comparaison, le DFB a provoqué un prolongement de l'état larvaire pour les trois doses utilisées. Cependant cet effet est plus marqué chez les larves traitées avec la dose létale la plus faible, jusqu'à 12 jours en moyenne pour les L4, soit 5 jours de plus et de 17 jours en moyenne pour les L5, soit 7 jours de plus comparativement aux témoins (Fig. 25).

Fig. 25. Prolongement de l'état larvaire chez les L4 et les L5 de *S. gregaria* traitées au DFB. Les données représentent les valeurs (moyennes \pm Ecart-type) respectives au cours des essais sur 12 larves pour chaque essai.



L'efficacité du Diflubenzuron ne se mesure pas uniquement en termes de mortalité chez les insectes. La réduction des performances par l'apparition des malformations au cours de notre étude, chez les larves traitées uniquement avec la dose la plus faible (5mg/ml) revêt également une grande importance.

Pour les doses supérieures les criquets meurent soit avant soit au cours de la mue.

V- Atteintes morphogénétiques

Au cours de ces essais, 20 larves de 4^e stade ont été placées dans des cages dont la végétation avait été traitée avec la dose de 5 mg/ml. Les résultats sont reportés sur la figure 26.

D'après les résultats, on remarque que 35% des insectes traités sont morts au cours de mue et n'ont pas atteint le stade 5 (Photo1). Toutefois, les atteintes morphogénétiques ont pu être observés chez 65% des larves L5 issues des larves L4 traitées. Les larves étaient handicapées sans exception. Les malformations observées, ne touchaient pas seulement les pattes mais fréquemment aussi les antennes, les ailes et les extrémités abdominales.

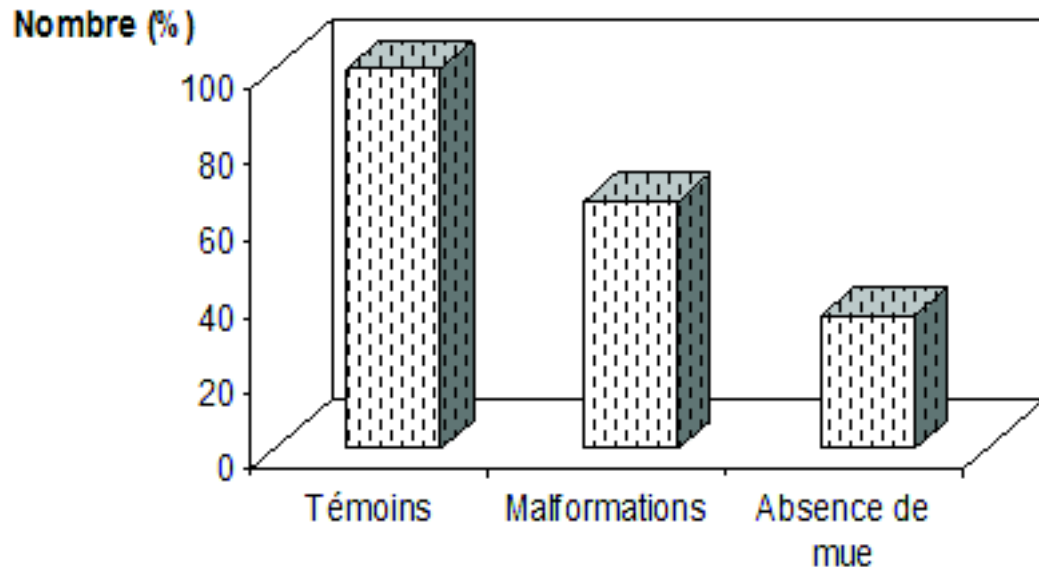


Fig. 26 : Pourcentage de larves témoins et de larves traitées présentant une inhibition d'exuviation et des malformations.

De ce fait, les insectes peuvent être handicapés de différentes façons :

- une mue intégrale n'est plus possible, ce qui entraîne généralement tôt ou tard la mort de l'insecte (photo 1) ;
- l'aptitude au vol est réduite, voire annihilée (déformation des ailes) (photo 2) ;
- difficultés au niveau de la prise de nourriture (malformation ou disparition des pattes et des tarses) (photo 2) ;
- obstacles à la communication générale, notamment disparition de l'aptitude à la copulation (perte ou malformation des extrémités) (photo 2)



*Photo 1: Mue incomplète d'une larve du 4^e stade de *S. gregaria*.*



Photo 2 : Larve L5 présentant des malformations au niveau des ailes, au niveau des extrémités avec disparition des pattes.

L'observation de ces anomalies morphogénétiques chez les larves traitées par le DFB, a orienté nos recherches vers l'étude de ce produit sur la composition de la cuticule des larves du dernier stade.

VI- Effets sur la cuticule des larves

A- Effets sur le poids sec de la cuticule

Rappelons que nous avons traités des larves du 4^e et 5^e stades âgés de 24h après la mue à la dose létale moyenne de 30 mg/ml pendant 24h. Les résultats relatifs au poids sec moyen des cuticules abdominales des larves sont synthétisés dans le tableau 4

Chez les larves témoins de *S. gregaria*, l'évolution du poids sec de la cuticule abdominale des larves du quatrième et cinquième stade, montre une augmentation progressive au cours de la période d'étude. Dans les procédés traités, le DFB empêche par contre l'augmentation du poids sec de la cuticule au cours de la période considérée aussi bien pour les L4 que pour les L5 (Tab.4).

Age (Jours)	L4		L5	
	Témoins	Traitées	Témoins	Traitées
0	3,71 ± 0,6	3,8 ± 1,33	5,01 ± 0,8	5,1 ± 0,4
1	3,95 ± 0,81	3,61 ± 1,18	6,53 ± 0,89	5,00 ± 0,44
2	4,46 ± 1,9	3,48 ± 0,24	10,93 ± 1,75	4,66 ± 0,7
3	4,53 ± 0,64	3,45 ± 0,88	12,85 ± 3,92	4,36 ± 0,54
4	5,13 ± 0,32	3,13 ± 0,42	14,91 ± 2,66	3,9 ± 0,8

Tableau 4: Evolution du poids sec moyen (mg) des cuticules abdominales des larves (L4 & L5) de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB (moyenne ± S, n= 6)

B- Effet du DFB sur le taux de protéines cuticulaires

Chez *S. gregaria*, les protéines représentent le principal constituant de la cuticule abdominale des larves témoins et traitées. En effet à l'issue de leur synthèse, elles sont en moyenne, constituées de 70% de protéines aussi bien chez les L4 que les L5 de cette espèce.

Concernant l'évolution du taux des protéines de la cuticule des larves L4 et L5 témoins, on enregistre, une diminution de la synthèse protéique durant les quatre premiers jours de la vie larvaire. Dans les procédés traités au DFB par contre, les taux des protéines, augmentent progressivement comparativement aux témoins chez les L4 comme chez les L5 (Tab. 5)

Age (Jours)	L4		L5	
	Témoins	Traitées	Témoins	Traitées
0	74,02 ± 2,44	75,85 ± 3,4	78,10 ± 3,05	78,10 ± 1,9
1	73,28 ± 5,42	76,03 ± 5,2	76,89 ± 4,43	82,94 ± 4,4
2	70,52 ± 3,4	77,56 ± 4,6	73,67 ± 3,4	81,76 ± 0,6
3	70,34 ± 4,93	78,16 ± 2,8	71,55 ± 2,2	82,48 ± 0,6
4	69,63 ± 3,2	78,27 ± 3,5	66,95 ± 1,06	88,28 ± 1,05

Tableau 5: Evolution du taux des protéines (%) de la cuticule abdominale des L4 et L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB (moyenne ± Ecart-type, n=6). Les valeurs sont exprimées en pourcentage (%) par rapport au poids sec.

Le DFB augmente significativement le taux de protéines cuticulaires chez les L4 (Tab. 6). Pour ce qui est des L5, nous avons cherché à voir si l'effet du traitement sur l'évolution des taux des protéines cuticulaires est en fonction du temps. ANOVA à deux facteurs contrôlés (traitement et temps) montre que le traitement a un effet significatif sur le taux de protéines de la cuticule abdominale. Enfin, l'interaction traitement - temps est aussi significative ($p= 1\%$) (Tab.7).

Facteurs	DL	SC	CM	F	P
Traitement	1	746.81	746.81	16.07	0.000
Age	4	55.47	13.87	0.30	0.878
Individu	5	91.57	18.31	0.39	0.850
Erreur	49	2276.65	46.46		

Tableau 6: ANOVA du taux de protéines chez les L4

Facteurs	Sommes des carrés	ddl	Carrés moyens	F	
Traitement	1298,9	1	1298,9	37,96	0,000
Age	58,2	4	14,5	0,43	0,790
Interaction	731,0	4	182,8	5,34	0,001
Erreur	1711,0	50	34,2		

Tableau 7: ANOVA à deux facteurs contrôlés du taux de protéines des larves L5 en fonction du traitement et de l'âge (jours).

C- Effet sur le taux de chitine

Inversement aux taux des protéines cuticulaires, l'évolution des taux de chitine chez les larves dans toutes les séries (L4 et L5), présente une croissance progressive au cours des 4 jours d'expériences chez les témoins (Tab. 8). Le DFB, provoque par contre une diminution significative du taux de chitine chez les L4 et chez les L5 au cours de la période examinée.

Age (Jours)	L4		L5	
	Témoins	Traitées	Témoins	Traitées
0	25,96 ± 2,44	24,14 ± 5,43	21,97 ± 3,05	21,84 ± 2
1	26,7 ± 5,42	23,96 ± 8,37	23,09 ± 7,32	19,74 ± 1,75
2	29,47 ± 8,41	22,43 ± 4,65	26,31 ± 5,34	18,22 ± 0,61
3	29,64 ± 7,93	21,82 ± 6,88	28,43 ± 2,2	17,5 ± 0,7
4	30,36 ± 8,22	21,71 ± 5,74	33,04 ± 1,06	11,7 ± 1,06

Tableau 8: Evolution du taux de chitine de la cuticule des larves L4 et L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB (moyenne ± Ecart-type, n=6). Les valeurs sont exprimées en pourcentage (%) par rapport au poids sec et accompagnées des Ecart-types.

Pour vérifier statistiquement l'effet du DFB sur le taux de chitine dans la cuticule des larves, nous avons fait appel à l'Analyse de la variance ANOVA. Le traitement a significativement réduit ($p=1\%$) le taux de chitine chez les L4 (Tab.9) et chez les L5 (Tab. 10).

Source	DL	SC	CM	F	P
Traitement	1	523.09	523.09	12.79	0.001
Age	4	23.51	5.88	0.14	0.965
Individus	5	296.95	59.39	1.45	0.223
Erreur	49	2003.43	40.89		

Tableau 9: ANOVA du taux de chitine chez les L4

Facteurs	DL	SC	CM	F	P
Traitement	1	1212.84	1212.84	26.62	0.000
Age	4	20.07	5.02	0.11	0.978
Individu	5	190.30	38.06	0.84	0.531
Erreur	49	2232.27	45.56		

Tableau 10: ANOVA du taux de chitine chez les L5

Chapitre IV : Effets globaux du Diflubenzuron sur la reproduction et le développement génésique des femelles du criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria*

Le potentiel reproducteur des criquets reste un des facteurs les plus importants de leur pullulation. L'étude de la reproduction est donc capitale dans toute approche raisonnée pour diminuer sensiblement les dégâts causés par ces ravageurs. C'est pourquoi, nous avons cherché à savoir si le DFB affectait le potentiel reproducteur et la maturation ovarienne des femelles de *S. gregaria*

I- Effets globaux sur la reproduction des femelles

A- Délai d'émission de la première ponte

La figure 27 illustre les résultats obtenus en traitant des criquets femelles de *S. gregaria* par ingestion pendant 3 jours, sur le moment de la première oviposition.

Chez les témoins, les femelles ont pondu en moyenne cinq oothèques par femelle. Chez les femelles traitées, ce nombre a été réduit à deux oothèques par femelles uniquement, soit un taux de réduction de 40%. Chez les témoins, la première ponte a eu lieu $12,7 \pm 0,7$ jours après la mue imaginale. Après traitement au DFB, ce délai a augmenté jusqu'au $16,2 \pm 1,2$ jours, soit 4 jours plus tard. Le test de Mann Whitney montre un effet significatif du DFB ($p < 0,4\%$) sur le moment de l'émission de la première ponte.

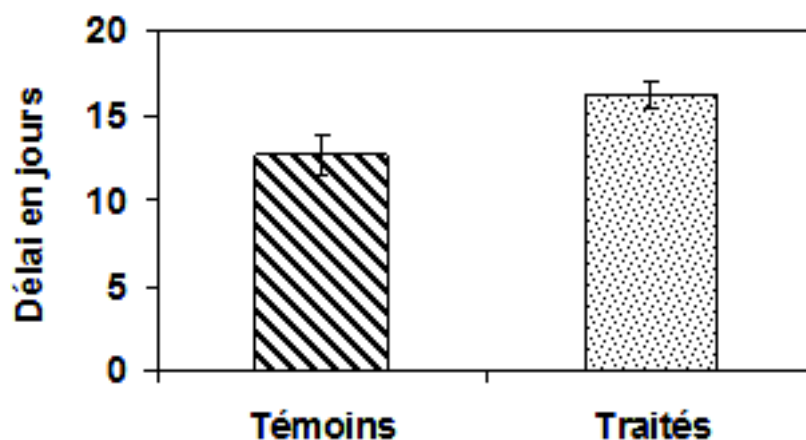


Fig. 27: Moment de la première oviposition chez les femelles de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB (moyenne \pm Ecart-type, N= 9).

B- L'intervalle du temps séparant deux pontes successives

L'intervalle de temps séparant deux pontes successives d'une même femelle est affecté par le traitement au DFB.

En effet, la deuxième ponte s'est produite $26,5 \pm 3,1$ jours après la première ponte chez les traités contre $14,5 \pm 2,1$ jours chez les témoins (fig. 28). Le DFB réduit significativement ($p < 0,01$) cet intervalle de ponte (Tab.11). Chez les génétrices témoins, cet intervalle diminue avec le rang de la ponte, il est successivement de $14,5 \pm 2,1$ jours, de $12,5 \pm 1,3$ jours, de 10 ± 1 jours pour l'intervalle de temps séparant la 1^e et la 2^e ponte, la 2^e et la 3^e ponte, la 3^e et la 4^e ponte et enfin entre la 4^e et la 5^e ponte (Fig. 28).

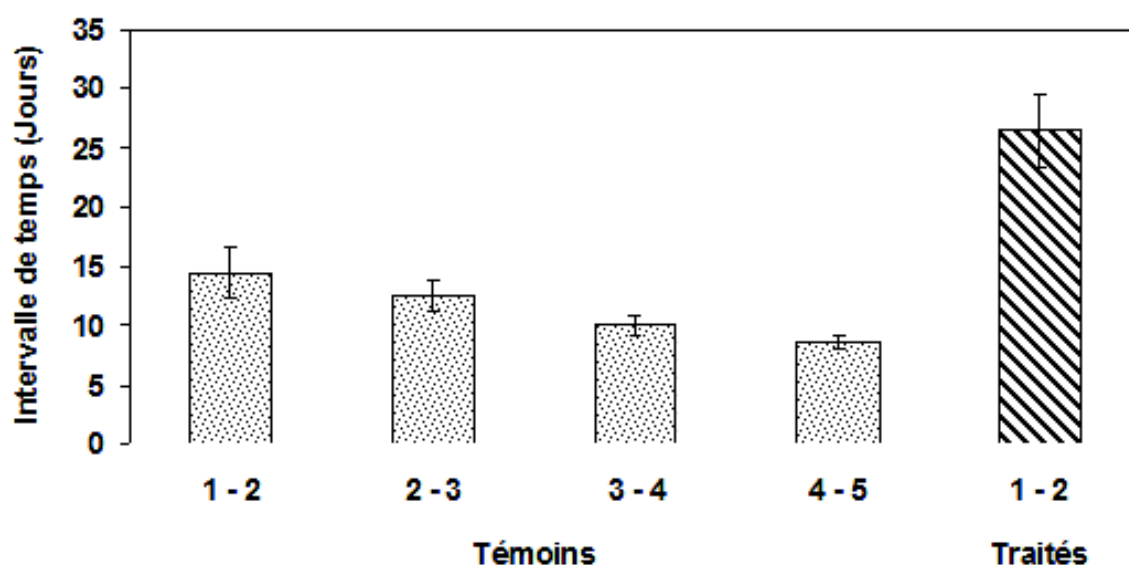


Fig. 28 : Intervalle de temps (en jours) séparant deux pontes successives chez les femelles témoins (barres pointillées) et les traitées (barres rayées) (moyenne \pm Ecart-type, $n=8-9$). En abscisses, les numéros correspondent aux intervalles de temps entre les pontes successives : 1-2 : entre la 1^e et la 2^e ponte, 2-3 : entre la 2^e et la 3^e ponte ; 3-4 : entre la 3^e et la 4^e ponte, 4-5 : entre la 4^e et la 5^e ponte.

Intervalle de temps	Témoins				Traitées
	1-2	2-3	3-4	4-5	1-2
	14,5 \pm 2,08	12,5 \pm 1,29	10 \pm 0,82	8,66 \pm 0,58	26,5 \pm 3,11
ANOVA	F= 74,31 et P= 0,000				

Tableau 11 : ANOVA de l'intervalle de temps entre deux pontes successives de *S. gregaria*

C- Nombre d'œufs par oothèque (fécondité) et taux d'éclosion (fertilité).

La figure 29 montre que chez les reproductrices témoins, la moyenne de la première ponte par femelle est de 80 ± 2 œufs. Chez les femelles traitées, la moyenne de la première ponte par femelle est de 26 ± 6 œufs seulement par oothèque. Le DFB a réduit significativement ($p < 5\%$) le nombre d'œufs par oothèque.

Sur un effectif de 28 pontes examinées : 20 oothèques émises par les femelles témoins et 8 oothèques pondues par les traitées, nous constatons que le nombre d'œufs diminue également en fonction du rang de la ponte avec respectivement 80 ± 2 œufs, 72 ± 3 œufs, 50 ± 3 œufs, 48 ± 5 œufs et 43 ± 7 œufs pour la 1^e, la 2^e, la 3^e, la 4^e et la 5^e ponte chez témoins et avec 26 ± 6 œufs et 15 ± 2 œufs pour la 1^e et la 2^e ponte chez les sujets traités (Fig. 29).

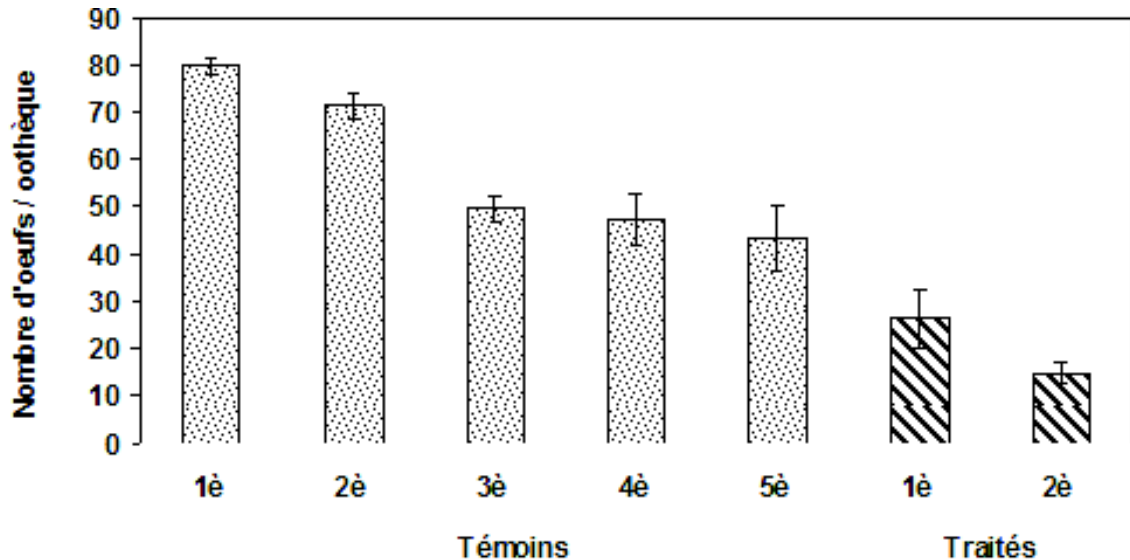


Fig. 29: Evolution comparée de la fécondité des femelles de *S. gregaria* témoins (barres pointillées) et traitées au DFB (barres rayées) au cours de la maturation sexuelle (moyenne \pm Ecart-type, $n= 8-9$). En abscisses les numéros correspondent aux pontes successives. 1 à 5 chez les contrôles, 1 et 2 chez les traitées.

Nous avons déterminé par la suite le taux d'éclosion des œufs pondus pour la première ponte chez les femelles témoins et traitées au DFB (Tab.12). Chez les sujets témoins, le taux d'éclosion des œufs a atteint 75% après 14 à 15 jours d'incubation à $32 \pm 2^\circ\text{C}$. En revanche, chez les traités aucun œuf n'écloît même après 45 jours de surveillance quotidienne des pontes. Le DFB présente un pouvoir ovicide absolu.

	Témoins	Traitées
Nombre d'œufs/femelle	80 ± 2	26 ± 6
Nombre d'œufs éclos	60 ± 5	0
Taux d'éclosion (%)	75 %	0%

Tableau 12 : Taux d'éclosion (%) des œufs pondus (1^e ponte) par les femelles témoins et traitées au DFB.

D- Poids des œufs

Dans le but de voir l'effet du DFB sur la viabilité des œufs, nous avons pesé les œufs fraîchement pondus, puis tous les deux jours au cours du développement embryonnaire jusqu'à l'éclosion. Les résultats sont synthétisés dans la figure 30.

Que ce soit pour les séries témoins ou traitées, l'évolution du poids des œufs montre une augmentation progressive au cours de l'embryogenèse. Néanmoins, la prise du poids

est plus beaucoup plus faible chez les traités. Le DFB provoque une réduction significative ($< 0,3\%$) du poids des œufs pondus.

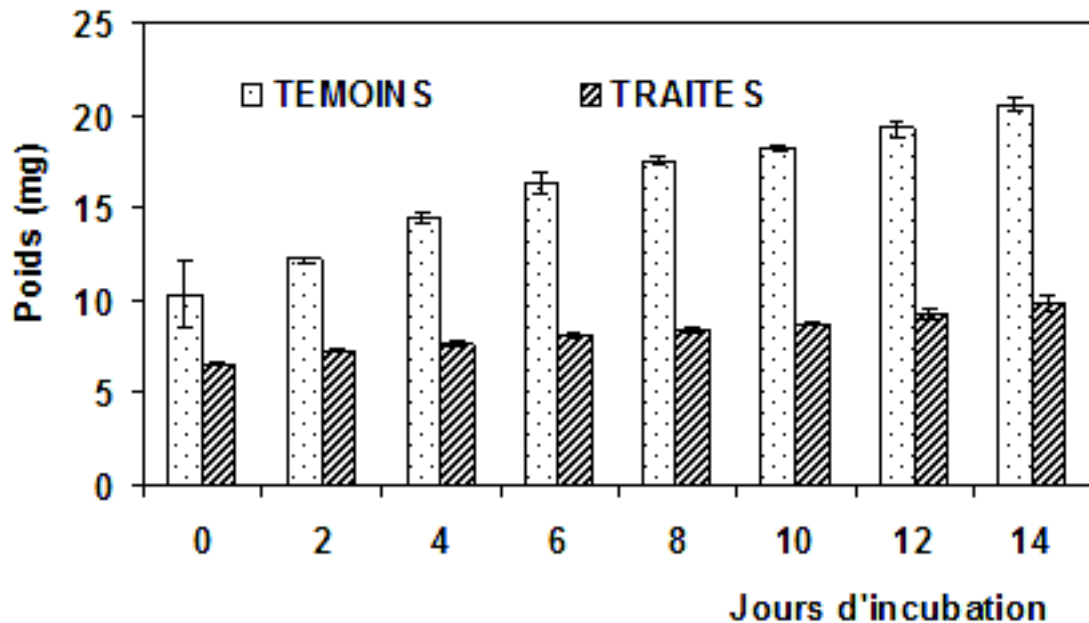


Fig. 30: Effet du DFB sur le poids des œufs au cours du développement embryonnaire chez

S. gregaria (moyenne \pm Ecart-type, n= 8-9).

II- Effets globaux sur le poids de l'ovaire et la croissance ovocytaire

A- Poids des ovaires

Nous avons comparé l'effet du DFB sur le poids des ovaires chez les témoins et les traités. Ces pesés nous serviront par la suite pour le calcul des quantités des ecdystéroïdes ovariens. Chez les femelles témoins, l'évolution du poids des ovaires au cours du premier cycle ovarien montre une augmentation progressive jusqu'au 12^e jour après la mue imaginale puis une diminution par la suite au moment de la ponte (Fig. 31). Le DFB réduit significativement ($p < 0,05$) le poids des ovaires chez les femelles traitées de *S. gregaria*.

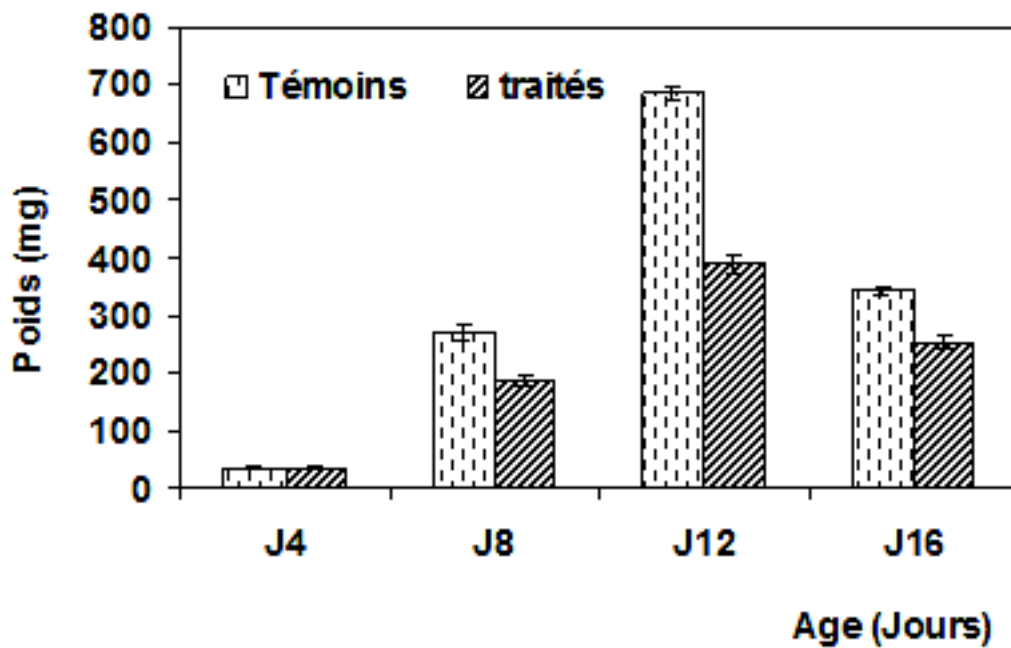


Fig. 31 : Evolution du poids (mg) des ovaires chez les femelles de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB au cours du premier cycle ovarien ($m \pm s$, $n = 4$ à 5).

B- Taille de l'ovocyte de base

Chez les témoins, l'ovocyte terminal augmente progressivement pour atteindre un maximum avec 5,5 mm enregistré le 11^e jour du premier cycle gonadotrophique, correspondant à la phase de vitellogenèse. (Fig. 32) (Photo 3A). Chez les traités par contre, la taille des ovocytes est plus réduite avec 3mm noté le 11^e jour, et restent au stade de prévitellogenèse (Photo 3B).

Le DFB retarde la croissance ovocytaire chez femelles traitées comparativement aux témoins. ANOVA avec deux facteurs contrôlés montre un effet hautement significatif du traitement au DFB en fonction du temps sur la croissance ovocytaire (Tab. 13).

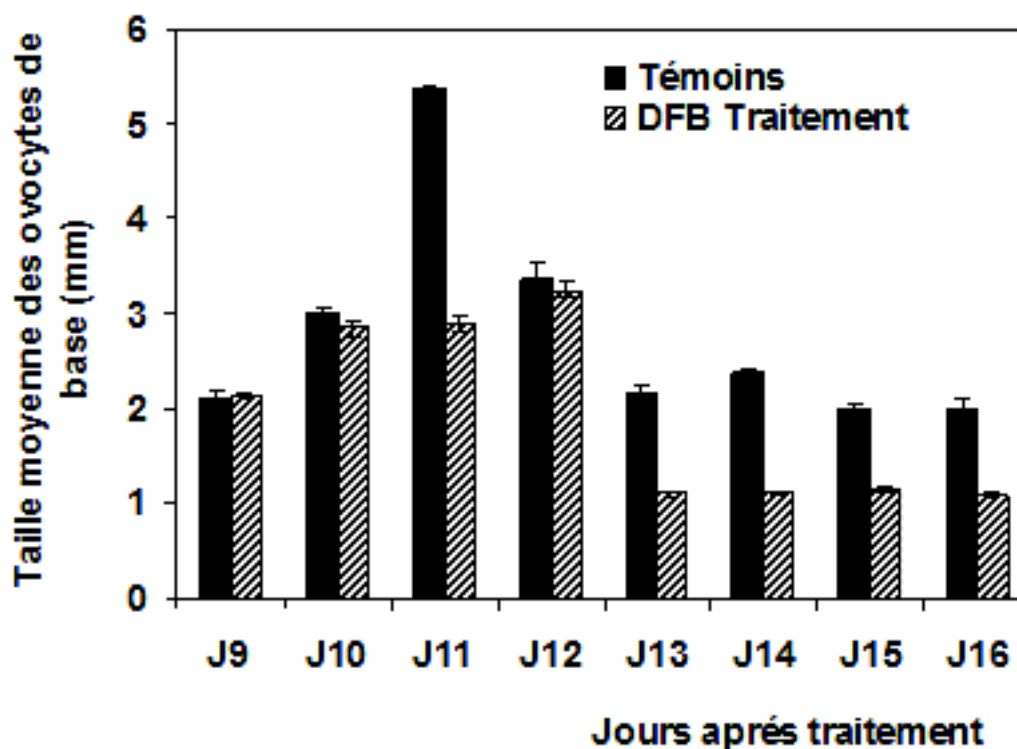


Fig.32 : Taille de l'ovocyte basal (mm) des ovarioles de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB durant le premier cycle ovarien (moyenne \pm S.E.M., $n=10$, soit 20 ovocytes pour chaque point). Le jour 9 correspond au premier jour après traitement.

Source	DL	SC	CM	F	P
Individu	3	0.0987	0.0329	0.16	0.926
Traitement	1	12.5781	12.5781	59.41	0.000
Temps	7	48.4662	6.9237	32.70	0.000
Erreur	44	9.3154	0.2117		

Tableau 13 : ANOVA de la taille de l'ovocyte de base

C- Résorption ovocytaire

Dans la mesure où le DFB semble avoir un effet inhibiteur de la croissance des ovocytes pendant le processus de vitellogenèse, il nous a paru intéressant d'entrevoir l'influence de ce composé sur la résorption ovocytaire.

La résorption des oocytes terminaux s'est produite progressivement dans les femelles traitées suivant les indications de la figure 33. Durant le premier cycle ovarien, le nombre d'ovocytes résorbés est beaucoup plus important chez les femelles traitées avec un maximum observé le jour 16^e après traitement ($83,9 \pm 3,8$ % d'ovarioles totaux) Comparativement aux témoins

(10 ± 3 %) (Fig. 33). Le traitement au DFB a induit une résorption ($p < 0.05$) significative des oocytes terminaux.

Le DFB a un très net effet sur la résorption ovocytaire, l'ANOVA indique que les pourcentages rencontrés diffèrent significativement avec $p < 0,001$.

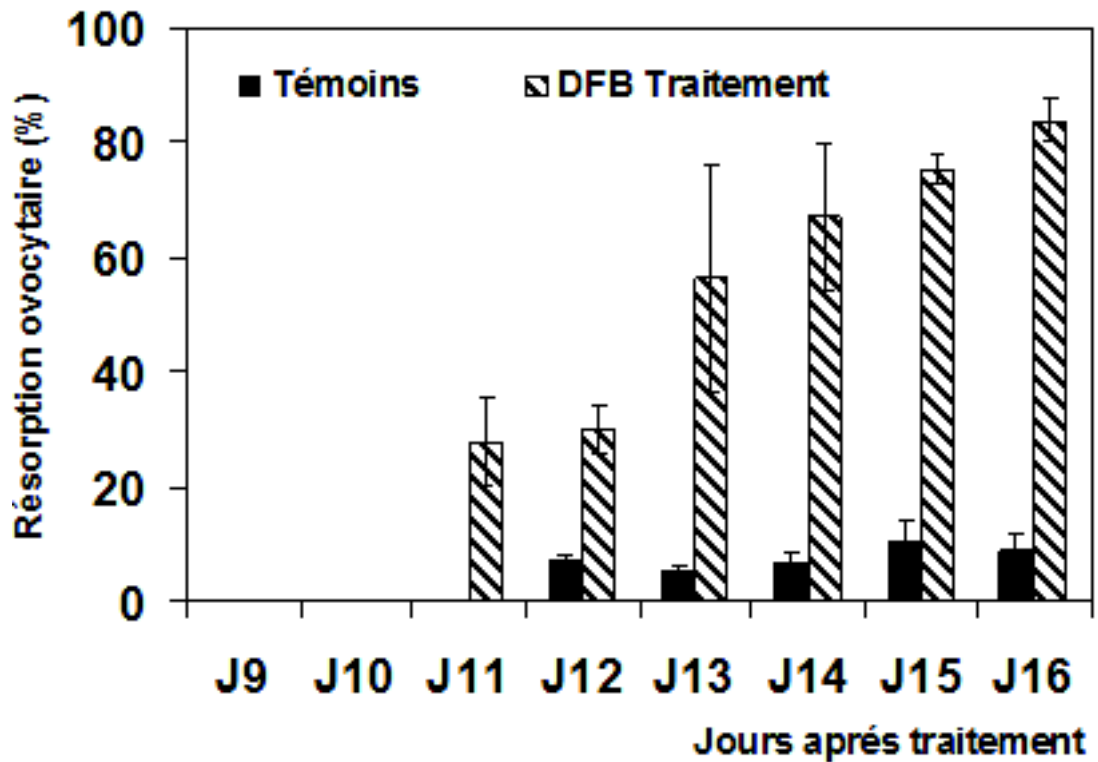


Fig.33: Pourcentage de la résorption ovocytaire chez les femelles de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB durant le premier cycle ovarien (moyenne \pm Ecart-type, $n=10$). Le jour 9 correspond au premier jour après traitement.

Chapitre V : effets du diflubenzuron sur l'évolution des taux écdystéroïdes du criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria*

I- Effets du DFB sur les taux hormonaux larvaires

La régulation de la synthèse et la dégradation de la cuticule chez les insectes est dépendante de l'hormone de mue. Afin de vérifier un éventuel effet spécifique de cet insecticide sur l'évolution des taux des ecdystéroïdes, nous avons mesuré la teneur en ecdystéroïdes chez les larves du dernier stade de *S. gregaria*.

Les ecdystéroïdes sont dosés par une méthode immuno-enzymatique (EIA) sur des extraits méthanoliques d'hémolymphe prélevée chaque jour du stade sur des larves nouvellement exuviées du 5^e stade de *S. gregaria* témoins et traités au DFB. Les résultats sont reportés sur la figure 34.

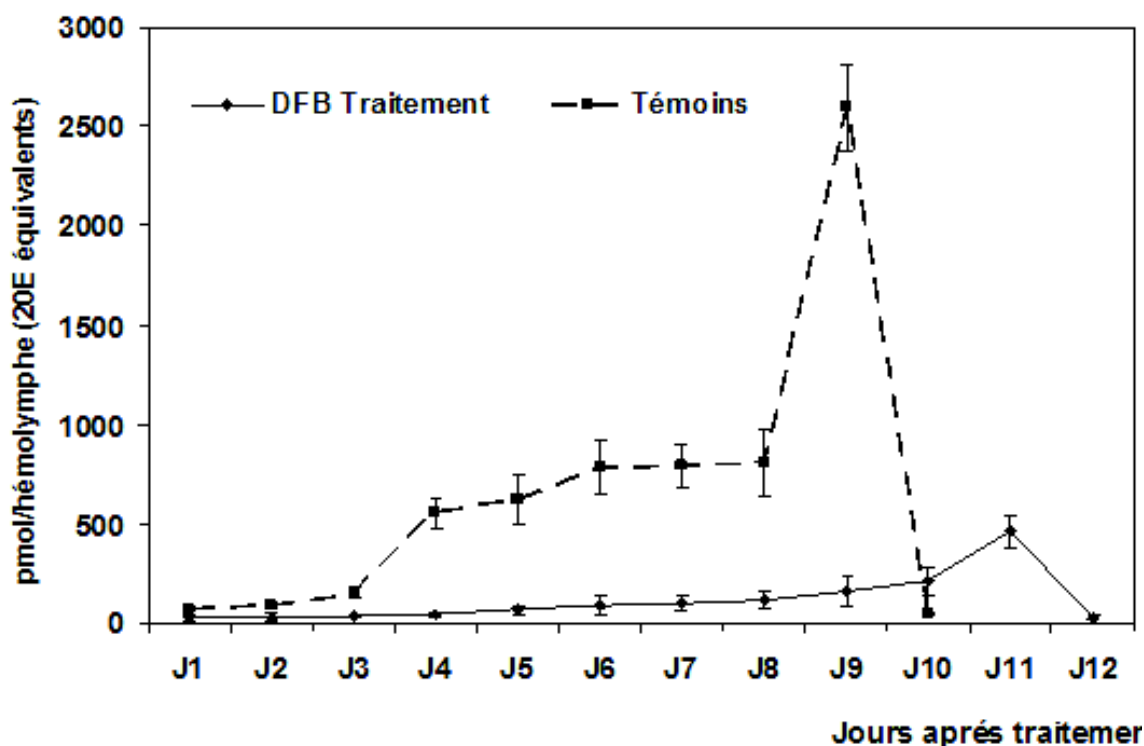


Fig.34 : Evolution des taux des ecdystéroïdes hémolympatiques chez les larves du dernier stade de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB (Moyenne \pm Ecart type, $n=5-10$). Les concentrations sont exprimées en pmoles équivalents de 20-hydroxyecdysone par ml d'hémolymphe.

Chez les témoins, après une première partie de la vie larvaire (J1-J3) où le taux demeure faible (de l'ordre de 75- 155 pmoles/ml d'hémolymphe), une augmentation brusque (559 pmoles/ml d'hémolymphe) survient vers le J4 et se poursuit à progresser au cours des quatre jours suivants pour atteindre 812 pmoles/ml d'hémolymphe au J8. Au cours du jour suivant (J9), nous mettons en évidence une augmentation spectaculaire des hormonaux avec un pic de 2596 pmoles. Ce pic se caractérise par sa brièveté, le taux redescendant à 43 pmoles le jour précédent la mue imaginale.

Chez les larves traitées par contre, les taux hormonaux sont nettement inférieurs à ceux des témoins avec un allongement dans la durée du stade. Les concentrations sont faibles au cours des cinq premiers jours (23-67 pmoles), augmentent progressivement au cours des cinq jours suivants (88-210 pmoles) pour atteindre un maximum avec 460 pmoles et elles diminuent dès l'entrée en mue. Le DFB réduit d'une manière significative ($p < 0,01$) par le test de Mann-Whitney les titres des écdystéroïdes hémolympatiques des larves du dernier stade de *S. gregaria*.

II- Effet du DFB sur les taux hormonaux des femelles adultes

A- Ecdystéroïdes hémolympatiques

L'évolution des taux hormonaux d'écdystéroïdes au niveau de l'hémolymphe, ont été déterminé à partir des échantillons prélevés du 9^e au 16^e jour après la mue imaginale des femelles utilisées aussi pour tester les effets du DFB sur la croissance ovocytaire.

Chez les femelles témoins, ces taux augmentent progressivement le 9^e et le 10^e jour de la vie imaginale, pour atteindre un pic avec 169,8 pmol/ml le 11^e jour de la vie adulte puis diminuent par la suite dès l'ovulation. Chez les traitées par contre, les taux d'écdystéroïdes varient peu et restent extrêmement bas. Ils atteignent un maximum le 12^e jour suivant le traitement avec 23,2 pmol/ml pour diminuer et se stabiliser par la suite (Fig. 35).

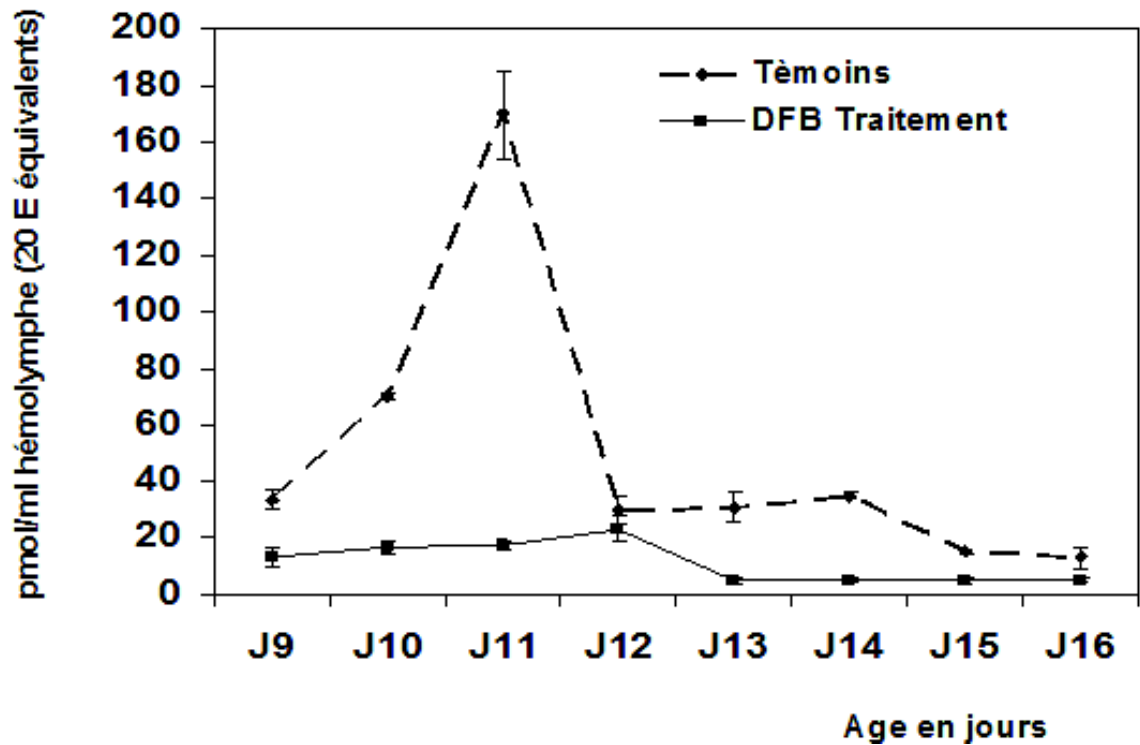


Fig. 35: Evolution des taux des ecdystéroïdes hémolympatiques (pmol de 20 E équivalent/ml hémolymphe) chez les femelles adultes de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB durant le premier cycle ovarien (moyenne \pm Ecart-type, $n=10$). L'âge est exprimé en jours après traitement (J9 correspond en 1^{er} jour après traitement).

Il existe en effet une corrélation positive entre l'évolution des taux des ecdystéroïdes et la croissance ovocytaire durant le premier cycle ovarien (Fig. 36 A et B). Chez les femelles témoins, les titres des ecdystéroïdes hémolympatiques varient en fonction du cycle de vitellogenèse. Ces taux augmentent progressivement le 9^e et le 10^e jours après la mue imaginaire, correspondant à la phase de pré-vitellogenèse, pour atteindre un pic le 11^e jour coïncidant avec la taille maximale de l'ovocyte basale. Ils diminuent dès l'ovulation. Dans les séries traitées au DFB, les titres des ecdystéroïdes restent bas et sont corrélés avec la réduction de la taille de l'ovocyte terminal enregistré le 13^e jour, c'est-à-dire, 5 jours après traitement et se stabiliser par la suite. Le DFB réduit significativement ($p < 0,01$) par le test de Mann Whitney les taux des ecdystéroïdes au niveau de l'hémolymphe des femelles.

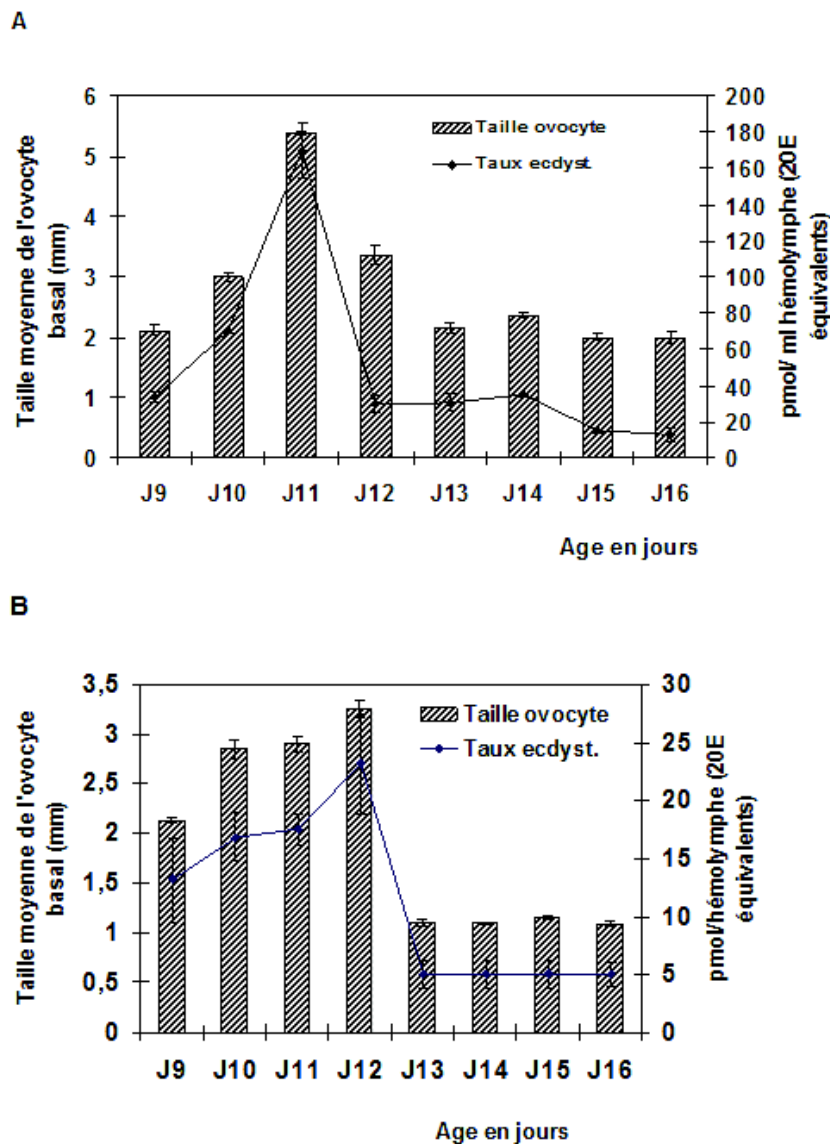


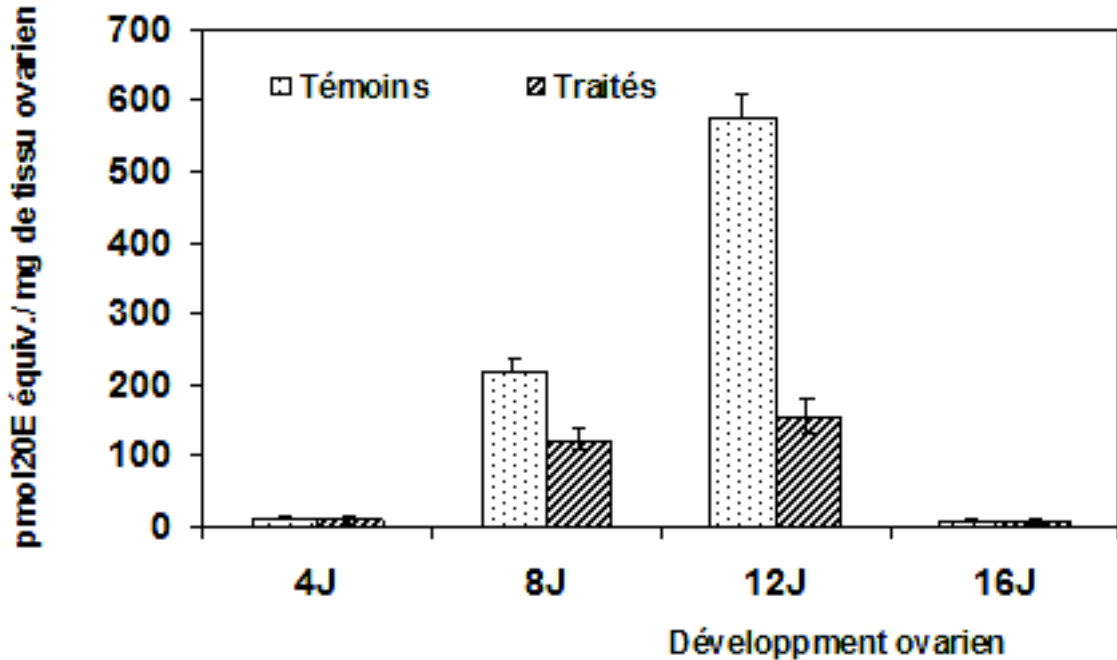
Fig. 36 A et B : Evolution comparée des titres des écdystéroïdes hémolymphatiques (courbes) et de la taille de l'ovocyte de base des ovarioles de *S. gregaria* (histogrammes) témoins (A) et traitées (B) au DFB (moyenne \pm Ecart-type, $n=10$).

B- Ecdystéroïdes ovariens

Des dosages EIA d'extraits d'ovaires ont été réalisés les jours : 4, 8, 12 et 16 du premier cycle de maturation ovarienne. Les résultats sont donnés dans la figure 37. D'après les résultats, on remarque que les écdystéroïdes sont présents chez les témoins pendant toute la durée du premier cycle ovarien. Les ovocytes immatures ou ceux dont la maturation est peu avancée ne renferment que peu d'écdystéroïdes (11pmol 20 E équivalents / mg d'ovaires).

Par contre, des quantités plus importantes sont présentes dans les ovaires en vitellogenèse (216 à 576 pmol 20 E équivalents /mg d'ovaires) respectivement pour les jours 8 et 12. Au 16^e jour les taux hormonaux diminuent dès l'ovulation. Le DFB a réduit les taux

hormonaux d'ecdystéroïdes ovariens. L'évolution journalière durant la période considérée indique que les taux d'ecdystéroïdes sont relativement faibles et constant durant les 4 premiers jours augmentent légèrement pour atteindre 156 pmol/mg d'ovaires le jour 12, puis chutent par la suite, dès l'ovulation (Fig. 37).



*Fig. 37 : Evolution du taux des ecdystéroïdes dans les ovaires des femelles de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB au cours du premier cycle ovarien. Les résultats sont exprimés en pmol 20 E équivalents par mg de tissu ovarien.*

C- Ecdystéroïdes embryonnaires

Les ecdystéroïdes, ont été dosés dans les œufs fraîchement pondus puis tous les deux jours tout au long du développement embryonnaire jusqu'à l'éclosion. L'évolution des taux d'ecdystéroïdes natifs au cours du développement d'embryons témoins et traités au DFB est présentée sur la figure 38.

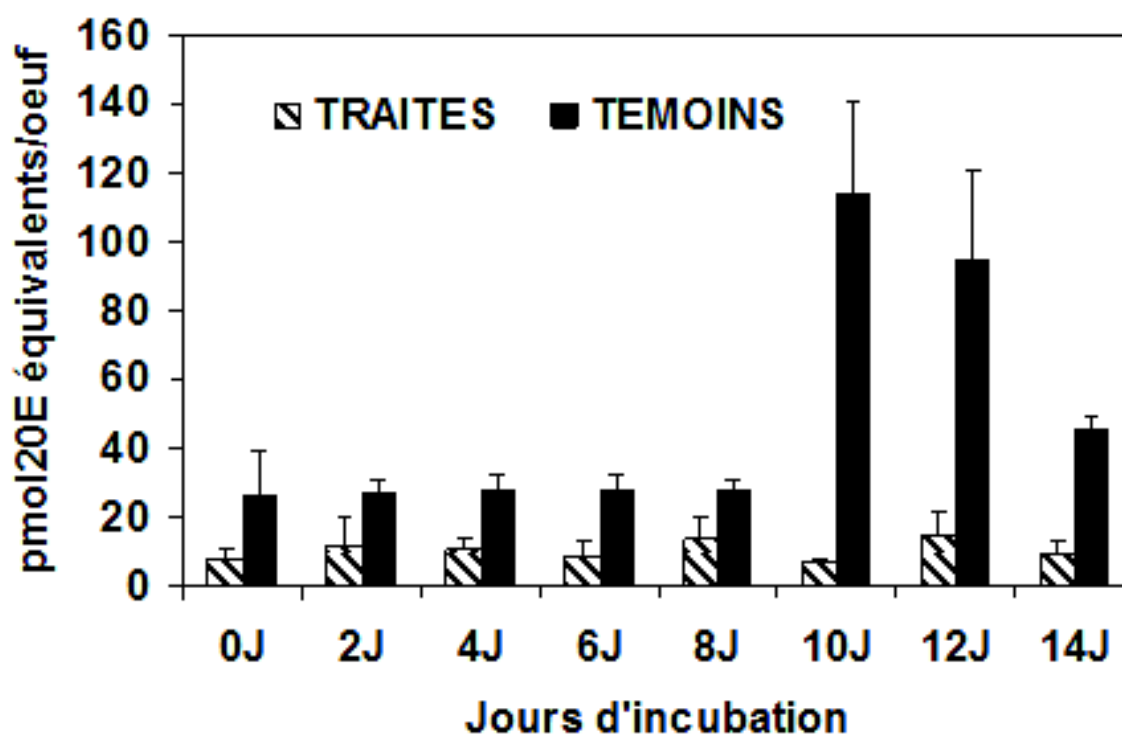


Fig. 38: Evolution au cours du développement embryonnaire du taux des écdystéroïdes libres (avant hydrolyse) présents dans les extraits d'œufs de *S. gregaria* témoins et traités au DFB ($m \pm s$, $N=40$). Les résultats sont exprimés en pmol-équivalents de 20 E par œuf.

Chez les témoins, les œufs fraîchement pondus (J0) renferment de faibles quantités d'ecdystéroïdes avec 26,2 pmol/œuf, puis augmentent progressivement durant les huit premiers jours du développement embryonnaire. Le 10^e jour, on remarque une augmentation spectaculaire des taux hormonaux avec un pic de 113,4 pmol/œuf (soit facteur 6), puis diminuent à l'approche de l'éclosion.

Chez les traités, par contre, les œufs contiennent des quantités beaucoup très réduites et fluctuantes d'ecdystéroïdes durant toute la période de l'embryogenèse avec un maximum de 14,5 pmol/œuf seulement enregistré le jour 12.

Dans les œufs, une grande quantité d'ecdystéroïdes peut exister sous forme de conjugués non décelables par les anticorps dans l'EIA. Afin de détecter leur présence, nous avons procédé à une hydrolyse enzymatique des écdystéroïdes conjugués pour libérer des écdystéroïdes libres détectables par EIA.

L'hydrolyse des écdystéroïdes conjugués est réalisée en reprenant chaque aliquote d'échantillon dans du tampon acétate de sodium contenant une enzyme lytique la β -glucuronidase, puis incubation en agitation une nuit à 37°C. Les échantillons sont ensuite purifiés par passage sur une colonne de silice Sep-pak C18. L'hydrolyse est réalisée aussi bien pour les œufs pondus par les femelles témoins que pour ceux déposés par les femelles traitées par le DFB et les résultats sont reportés sur la figure 39.

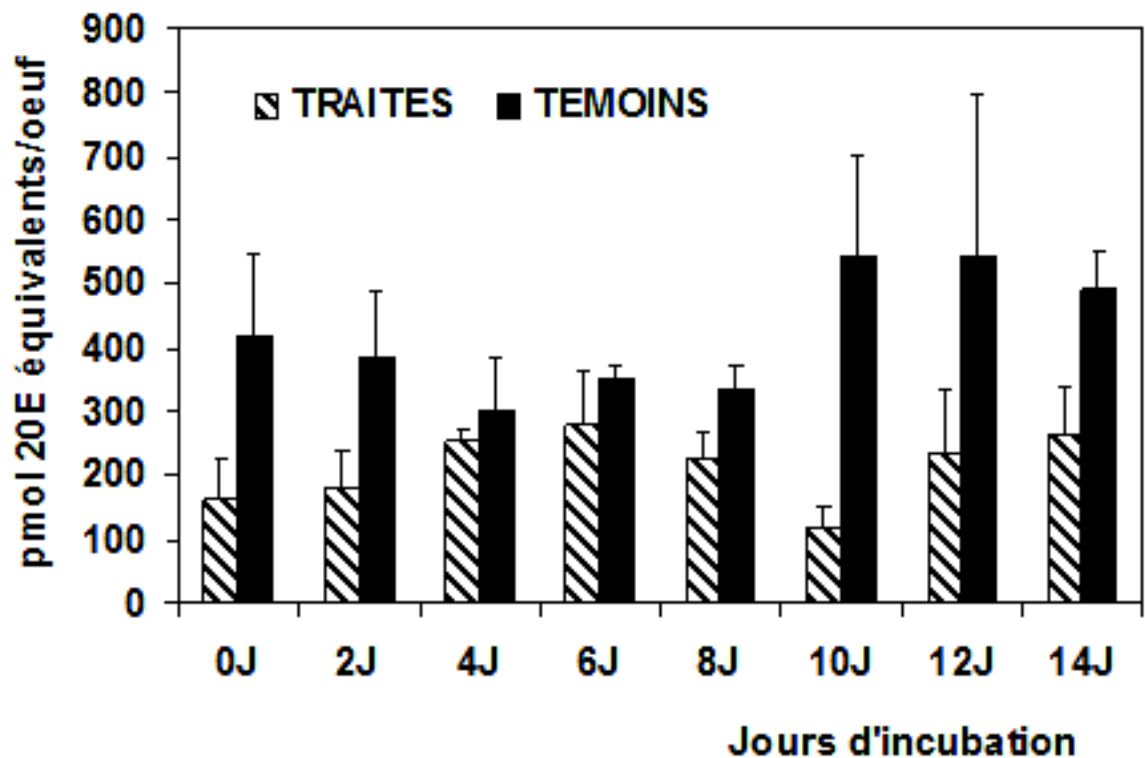


Fig. 39: Evolution au cours du développement embryonnaire du taux des ecdystéroïdes conjugués de *S. gregaria* témoins et traités au DFB. Les résultats sont exprimés en pmol 20 E équivalents par œuf.

Après hydrolyse, les œufs fraîchement pondus (J0) par les femelles témoins renferment des taux très élevés d'ecdystéroïdes sous forme de conjugués avec 419,2 pmol/œuf, puis diminuent au cours des huit premiers jours de l'embryogenèse. Au jour 10, ces taux augmentent à nouveaux pour atteindre un pic avec 581 pmol/œuf puis redescendent en fin du développement embryonnaire

Chez les traités en revanche, les résultats indiquent une perturbation de l'évolution de la teneur en ecdystéroïdes au cours du développement embryonnaire comparativement aux témoins. Les œufs nouvellement (J0) déposés contiennent des taux beaucoup plus faibles d'ecdystéroïdes avec 161 pmol/œuf. Ces taux fluctuent et restent faibles au cours de l'embryogenèse.

Bien que préliminaire, cette étude permet de dégager plusieurs hypothèses de mode d'action du diflubenzuron et révèle la complexité de la régulation endocrine au cours du développement embryonnaire et pos-embryonnaire de *S. gregaria*.

Chapitre VI : Discussion

Les régulateurs de croissance sont des molécules de synthèse qui agissent sur la physiologie des insectes en perturbant leur développement.

Il apparaît clairement que toute intervention sur l'action des hormones de mue perturbe le développement et la reproduction de l'insecte. Bien que plusieurs familles d'inhibiteurs de la synthèse de chitine soient connues, seuls les Benzoylphenylurées sont commercialisés comme pesticide (Spindler-Barth et Spindler, 2001).

Les dérivés de la benzoylphenyl urée interfèrent avec le processus de mue en perturbant le dépôt de la cuticule et ils sont considérés comme des inhibiteurs de la biosynthèse de la chitine (Ishaaya, 1990). Depuis, des effets pléiotropes de ces molécules ont été décrits. Ces résultats nous ont conduits à analyser l'action du DFB sur la croissance et la reproduction de *S. gregaria*.

I-Effets du DFB sur le développement larvaire

A-Activité insecticide

Le diflubenzuron (DFB), un dérivé de la diphényl benzoyl urée (BPU), a été testé sur

S. gregaria. Les traitements ont été réalisés par ingestion sur les larves nouvellement exuviées du quatrième et cinquième stades et par injection sur les larves du dernier stade seulement.

L'utilisation du DFB a permis d'obtenir une mortalité de 100% selon les doses appliquées, pour toutes les populations testées, L4 comme L5. Le taux de mortalité larvaire augmente linéairement avec la dose du produit et diffère avec le mode de traitement et le stade de l'insecte. La mortalité a lieu après une inhibition précoce du développement ou par une inhibition des exuviations au cours de la mue, la larve étant incapable de s'extraire de l'exuvie (Photo 1). Le mode d'administration le plus efficace occasionnant des TL50 court < 2 à 2,5 jours pour tuer les larves L4 et L5 consiste en l'ingestion du produit, en particulier à la dose la plus élevée (60 mg/ml).

Des variations dans l'activité insecticide de cet inhibiteur de croissance ont été également rapportées par d'autres auteurs. Le DFB s'est révélé très toxique à l'égard des larves du second stade *S. gregaria* par ingestion (Coppin et Jepson, 1996; Waggari, 1997). Azam et Al-Seegh (1993), signalent une mortalité de 87 % au bout de 14 jours chez les larves du second stade de *S. gregaria* traitées au DFB par ingestion. Le Téflubenzuron (Nomolt) a provoqué une mortalité de 50 % au bout de six jours, l'Alsystin (Triflumuron) au bout de quatre à cinq jours environ chez les larves de *S. gregaria* (Wilps et Diop, 1997).

Les Benzoyl urées (BPU_s), sont des composés plus lents, qui ont besoin d'une semaine ou plus pour provoquer la mort. Pour s'assurer qu'une quantité suffisante du produit soit

ingérée et accumulée, Coppen et Jepson (1996) et récemment Wilps (2004) réaffirment qu'avec les benzoylurées, les stades larvaires doivent être ciblés d'une façon optimale .

Bien que l'action du DFB semble être lente et la mortalité commence à se manifester 3 jours après traitement, cet insecticide par contre, a réduit la mobilité et la prise de nourriture des criquets traités. Cette prise de nourriture réduite se manifeste par une perte de poids significative chez les L5 comparativement aux témoins.

Nos résultats obtenus sur *S. gregaria* montrent également que le DFB à une concentration de 5mg/ml appliquée pendant 24h aux larves du quatrième stade nouvellement exuviées cause une inhibition de mue de l'ordre de 35%. Ce produit a provoqué aussi des anomalies morphologiques et comportementales chez 65% des individus traités. Les défauts se manifestaient au niveau des pattes, des ailes et des extrémités abdominales.

En pratique cet aspect peut revêtir une grande importance, étant donné que les jeunes larves déformées sont souvent rapidement éliminées du champ par les prédateurs, au fur et à mesure qu'elles deviennent moins mobiles par suite des effets de l'insecticide.

D'après Smaghe *et al.*(1997) ainsi que Schneider *et al.*(2003), les BPU sont plus efficaces par ingestion que par contact ou encore par application topique, dû à une absorption cuticulaire faible (Smaghe *et al.*, 1997 ; Medina *et al.*, 2003 ; Dhadialla *et al.*, 2005)(Medina *et al.*, 2003; Smaghe *et al.*, 1997). Selon Smaghe *et al.*(1997), le pourcentage de pénétration du diflubenzuron, son métabolisme par le corps gras ainsi que par d'autres enzymes de l'hémocoel sont considérés comme des facteurs déterminants de sa toxicité.

B- Effet sur la morphogenèse cuticulaire

Après l'exuviation, le poids de la cuticule des insectes correspond à celui de l'exocuticule (Nøhr et Andersen, 1993).

Chez les témoins, le poids sec de la cuticule sternale abdominale des larves des deux derniers stades de *S. gregaria* croît progressivement au cours des quatre premiers jours suivant la mue. Cette augmentation du poids qui se produit au cours du stade correspond au dépôt de nouvelles couches endocuticulaires. Vers la fin du stade, le poids de la cuticule diminue, dû à une dégradation graduelle des protéines et de la chitine pour préparer la mue suivante (Nøhr et Andersen, 1993).

Après traitement au DFB, on assiste à une diminution du poids sec de la cuticule chez les séries L4 et L5 expérimentées. Ceci peut s'expliquer par le fait que le DFB empêche le dépôt de nouvelles couches endocuticulaires chez les traités. Par conséquent, la cuticule formée chez les individus traités n'est pas suffisamment résistante pour s'opposer aux tensions musculaires de la mue, et sa rupture prématurée entraîne la mort de la larve (Photo3 A et B).



Photo 3 : Inhibition du dépôt de couches endocuticulaires chez L5 traitées au DFB.

Des résultats similaires ont été rapportés chez d'autres espèces d'insectes suite au traitement par le DFB : chez *Cydia pomonella* (Soltani et Soltani-Mazouni, 1992) et chez *Spodoptera littoralis* et *S. exigua* (Smaghe *et al.*, 1997).

Nos expérimentations sur *S. gregaria* montrent également que la proportion des protéines et de la chitine évolue au cours de leur synthèse immédiatement après l'apolyse, la cuticule néoformée est essentiellement constituée de protéines. Par la suite, la sécrétion protéinique suit une allure décroissante et tend vers 70%, inversement la teneur en chitine augmente et tend vers 30%.

De même, les travaux de Cassier *et al.*(1980) sur *L. migratoria*, montrent que les premières sécrétions cuticulaires sont essentiellement protéiques ; les strates précédysiales sont plus riches en protéines que les strates post-ecdysiales ; ce qui traduit un ralentissement de la protéosynthèse.

Les teneurs en chitine et en protéines cuticulaires diffèrent d'une espèce à une autre. Les fémurs d'imagos de *L. migratoria* contiennent respectivement 22% et 67% de chitine et

de protéines (Vincent et Clarke, 1985) ; les larves de *T. molitor* renferment 21,7% de chitine et 65 % de protéines (Andersen, 2002), 12% et 72% du poids sec de la cuticule chez *Rhodnius prolixus* et *Triatoma phyllosoma pallidipensis* (Hillerton et Purslow, 1981).

Le DFB a réduit également d'une manière significative la teneur en chitine de la cuticule sternale abdominale chez les larves des deux derniers stades de *S. gregaria*.

Nos résultats confirment et complètent les études antérieures. Zhang et Zhu (2006), notent que le diflubenzuron a réduit significativement le contenu en chitine chez les larves de *Anopheles quadrimaculatus* en fonction de la dose. De même, Salokhe *et al.* (2006), signalent une réduction significative en chitine et une augmentation en protéines totales chez les larves de *Tribolium castaneum* contaminées par des doses sublétales de Flufenoxuron. Vincent et Clarke (1985), notent que le DFB réduit significativement la teneur en chitine de la membrane intersegmentaire chez les adultes de *L. migratoria*. Rao et Mehrotra (1987), ont montré également une réduction significative de la teneur en chitine au niveau des ailes de *S. gregaria* injectées avec une dose de 5 µg de DFB. Dix ans plus tard, ces derniers auteurs, signalent également une réduction significative de la teneur en chitine de la cuticule chez les individus de *S. gregaria* traités au DFB (Rao et Mehrotra, 1997).

Lim et Lee (1982), supposent qu'une des causes de la mortalité élevée observée chez les individus traités d'*Oxya japonica* (Orthoptera), est le résultat de la perturbation des fonctions de la membrane péritrophique, en raison de l'inhibition de la synthèse de chitine par le DFB.

La chitine, un haut polymère du N-acétyl glucosamine est le composé majeur des cuticules des arthropodes. Les investigations faites pour élucider le mode d'action du diflubenzuron tendent à montrer qu'ils entrent en compétition avec l'UDP-N-Acétyl-glucosamine (Delorme et Mauchamp, 1996). La cuticule des insectes traités apparaît comme une juxtaposition de matériel amorphe et de globules denses, au lieu de sa structure fibrillaire classique. Les granules denses correspondent à des structures protéiques sans chitine (Delorme et Mauchamp, 1996).

La chitine complexée à des protéines confère des propriétés de rigidité ou de souplesse aux structures exosquelettiques: cuticule, trachées, tube digestif (proctodeum, stomodeum et membrane péritrophique) (Merzendorfer, 2006). Sa synthèse ou sa dégradation constituent donc des cibles privilégiées dans la lutte contre les ravageurs des cultures. De ce fait, l'excès ou la carence en chitine au cours d'un cycle morphogénétique peut produire des effets néfastes et mortels pour les insectes (Kramer *et al.*, 1985). Il modifie la structure de la cuticule et provoque des mues abortives et la mort chez les stades immatures d'insectes ((Dhadialla *et al.*, 2005; Mommaerts *et al.*, 2006; Tunaz et Uygun, 2004).

Nos essais menés sur les larves des deux derniers stades de *S. gregaria* indiquent par contre que le DFB a augmenté la teneur en protéines cuticulaires chez les larves des deux derniers stades de *S. gregaria* durant les quatre premiers jours de la vie larvaire comparativement aux témoins.

En revanche, les travaux consacrés aux protéines cuticulaires démontrent qu'elles ne sont pas affectées par le DFB ou ses analogues (Retnakaran *et al.*, 1985). Les nymphes de *T. molitor* bloquées par le DFB, présentent une bande protéique supplémentaire (Soltani *et al.*, 1984).

La sclérisation est un processus qui intéresse les protéines. Il a été montré que le dépôt des protéines dans les zones cuticulaires sclérisées est légèrement affecté par le diflubenzuron (Hillerton et Vincent, 1979). L'hypothèse retenue est que les protéines n'étant pas stabilisées par le tannage, l'incorporation de nouvelles protéines est inhibée. Plus

précisément Clarke *et al.* (1977), en étudiant les effets du diflubenzuron sur la production de la membrane péritrophique chez *L. migratoria*, ont observé tout d'abord une augmentation de l'apparence fibreuse de cette membrane chez les individus traités et ensuite une réduction en poids. Ils expliquent cette production réduite de la membrane péritrophique par les insectes traités par une incapacité de cette structure cuticulaire à stabiliser les protéines. Il apparaît, en conclusion, que les effets du diflubenzuron sur la cuticule des insectes ne peuvent être ramenés à une action directe et isolée de l'insecticide sur la synthèse de la chitine.

Du point de vue biochimique, on a longtemps pensé que le DFB bloquait la chaîne de synthèse de la chitine en agissant probablement sur la biosynthèse de la chitine synthase (CS), enzyme chargée de la formation de la chitine (Reynolds, 1987; Zimoch *et al.*, 2005).

Cependant, cette hypothèse n'ayant pas été confirmée *in vitro* (Abo-Elghar *et al.*, 2004; Cohen, 2001; Merzendorfer, 2006). Des modes d'actions alternatifs ont été proposés : induction de la chitinase (enzyme dégradant la chitine) ou encore inhibition du transport des précurseurs de la chitine de leur site de production (cellules épidermiques) à celui de leur réaction de polycondensation (Cohen, 2001; Nakagawa et Matsumura, 1994; Reynolds, 1987).

II- Effet du DFB sur la reproduction

A- Effets du DFB sur le potentiel reproducteur des femelles

Dans nos conditions expérimentales, la ponte, chez les femelles témoins de *S. gregaria*, débute généralement dès le 13^{ème} jour après l'émergence. Le DFB affecte la reproduction des femelles de cette espèce à différents niveaux :

- Le DFB retarde le moment de la première oviposition : les femelles traitées déposent leur première ponte avec un retard de quatre jours par rapport aux femelles témoins. La première ponte est déposée le 17^{ème} jour par les femelles traitées, cependant chez les femelles témoins la première oviposition a eu lieu le 13^e de la vie imaginaire.
- Le produit rallonge également l'intervalle de temps séparant les deux pontes successives émises par la même femelle comparativement aux témoins : la deuxième ponte est émise $26,5 \pm 3,1$ jours chez les femelles traitées, alors que chez les femelles témoins la seconde ponte a lieu $14,5 \pm 2,1$ jours après la première ponte.
- Les femelles traitées pondent en moyenne deux oothèques seulement par femelle contre cinq oothèques en moyennes par femelle émises par les témoins. Le DFB réduit à trois fois la fécondité des femelles, c'est-à-dire le nombre d'œufs par oothèque chez les femelles traitées (26 ± 6 œufs /oothèque) comparativement aux témoins (80 ± 2 œufs /oothèque).
- Le DFB présente une activité ovicide absolue : aucun œuf déposé par les femelles traitées n'éclosent pas. L'éclosion des œufs déposés par les femelles témoins se fait au bout de 15 jours d'incubation à 32°C.

Soltani (1987), note un retard de 1 à 3 jours de la ponte chez *T. molitor* traités au DFB. Des réductions de la fécondité sont aussi observées chez plusieurs espèces d'insectes

traitées au DFB: chez *Oxya japonica* (Lim et Lee, 1982); *Cydia pomonella* (Soltani et Soltani-Mazouni, 1992); *Sitophilus orysae* et *Rhyzopertha dominica* (Daglisha et Wallbank, 2005); ou avec ses analogues *Nilaparvata lugens* (Uchida et al., 1987); *Micromus tasmaniae* (Rumpf et al., 1988); *Spodoptera litura* (Perveen, 2006; Perveen et Miyata, 2000); *Tribolium castaneum* (Salokhe et al., 2003); *T. molitor* (Hami et al., 2004); *Callosobruchus maculatus* (Kellouche et Soltani, 2006). Aux fortes concentrations, le diflubenzuron inhibe complètement la reproduction de nombreuses espèces (Mouret, 1983).

D'autres études ont également rapporté que cet insecticide affectait le développement des œufs chez plusieurs espèces d'insectes (Boiteau et Noronha, 2007; Charmillot et al., 2007; Dhadialla et al., 2005; Grosscurt, 1978; Perveen et Miyata, 2000).

B- Effets sur le développement génésique des femelles

Chez les imagos de *S. gregaria*, comme chez la plupart des insectes, la vitellogenèse a lieu après l'émergence et le vitellus est formé presque exclusivement grâce aux aliments ingérés pendant la vie imaginale.

La croissance ovocytaire a été examinée pendant le premier cycle ovarien de *S. gregaria*. Aux jours 9 et 10 de la vie imaginale, la taille de l'ovocyte terminal est > 2mm avec un dépôt d'aspect blanchâtre chez les femelles des deux séries, témoins comme traitées.

Le 11^e jour la taille des ovocytes est maximale : > 5 mm chez les femelles témoins, à aspect jaunâtre dû au dépôt du vitellus, alors que chez les femelles traitées, la taille des ovocytes est < 3mm avec un dépôt toujours d'aspect blanchâtre. L'ovulation a lieu respectivement le 12^e et le 13^e jour chez les témoins et les traitées. Cependant il peut y avoir une rétention des ovocytes dans les conduits génitaux, jusqu'à 72 heures chez le Criquet pèlerin (Popov et al., 1990).

Parmi les perturbations les plus importantes occasionnées par le diflubenzuron, on note un retard dans la maturation ovarienne chez *S. gregaria*. Le DFB a réduit d'une manière significative la taille des ovocytes terminaux des femelles. Des effets similaires sont observés chez d'autres espèces d'insectes traitées par le DFB : chez *Oxya japonica* (Lim et Lee, 1982), chez *T. molitor* (Soltani, 1987); ou avec d'autres BPU : chez *Spodoptera litura* (Perveen et Miyata, 2000); *T. molitor* (Hami et al., 2004).

La maturation des ovocytes dépend, entre autres, des métabolites prélevés de l'hémolymphe et de matériel *in situ* par l'ovaire (Raikhel et Dhadialla, 1992).

Chez les insectes, la vitellogenèse est régulée par les hormones gonadotropiques : l'hormone juvénile et les ecdystéroïdes (Bellès, 2004). Chez la femelle adulte de la plupart des insectes, la vitellogénine est principalement synthétisée par le corps gras, libérée dans l'hémolymphe puis incorporé dans les ovocytes par endocytose (Cho et Raikhel, 2001; Ciudad et al., 2006; Peel et Akam, 2006; Raikhel et Dhadialla, 1992).

Le DFB a affecté également le développement des ovocytes basaux chez *S. gregaria*. En effet, chez les criquets traités, la plupart des ovocytes terminaux n'achèvent pas leur croissance et dégénèrent précocement donnant lieu ainsi à des corps de résorption plus petits et plus abondants.

Le DFB a réduit le contenu ovarien respectivement en ADN, ARN et protéines et a perturbe l'incorporation ovarienne de divers précurseurs tritiés chez *T. molitor* (Soltani-Mazouni and Soltani, 1994). Selon ces derniers auteurs, cette réduction peut avoir plusieurs causes telles une perturbation de leur incorporation dans l'ovocyte et/ou enfin, une

interférence de l'insecticide avec le système endocrine contrôlant la vitellogenèse. En revanche, le DFB n'a pas affecté la structure fine des cellules folliculaire de l'ovocyte basal chez *T. molitor* (Soltani-Mazouni, 1994). Chebira *et al.* (2006), expliquent que les anomalies de reproductions observées chez *T. molitor* sont dues à l'accumulation du DFB et d'autres régulateurs de croissance dans les organes reproducteurs mâles et femelles de cette espèce.

Les effets observés au cours de notre étude chez les femelles de *S. gregaria* traitées, sont probablement dus à l'interférence du DFB avec la vitellogenèse et l'ovogenèse.

En effet les BUP_S, ne sont pas accumulés dans l'organisme de *S. gregaria*; le Diflubenzuron a une demi-vie d'environ 24 h chez les adultes de *S. gregaria* (Coppen et Jepson, 1996). Clarcke *et al.* (1977), signalent que le DFB perturbe mais n'inhibe pas la production de la membrane péritrophique chez *L. migratoria*.

De même, les dérivés des BPU_S, réduisent uniquement les protéines d'origines ovariennes (Perveen et Miyata, 2000). Dans le corps gras, le principal siège de production de la vitellogénines, le DFB est sans effet significatif sur la synthèse protéique durant la maturation sexuelle de *T. molitor* (Soltani-Mazouni et Soltani, 1995).

Nous avons cherché à savoir par la suite si ces anomalies de la croissance des larves et de la reproduction et la croissance ovocytaire chez les adultes provoquées par le DFB chez *S. gregaria*, pouvaient cependant être corrélées à un déséquilibre hormonal via les ecdystéroïdes.

III- Effets du DFB sur le contrôle endocrine de la croissance et de la reproduction

A- Effet du DFB sur le contrôle endocrine de la croissance larvaire

Le tégument est l'organe-cible privilégié des hormones morphogénétiques et leurs actions sont d'ordre qualitatif et quantitatif. Ainsi, chez le Criquet, l'activité sécrétrice des cellules épidermiques est *in vitro* et *in vivo* stimulée et entretenue par la présence d'ecdystéroïdes (Cassier *et al.*, 1980). Les glandes prothoraciques sécrètent au cours d'un stade larvaire des quantités fluctuantes d'ecdysone (Gilbert *et al.*, 2002; Lafont *et al.*, 2005; Vandersmissen *et al.*, 2007).

Notre étude de l'évolution des taux des ecdystéroïdes hémolympatiques chez les témoins au cours du dernier stade larvaire (stade V) de *S. gregaria* montre que les taux restent faibles (75 pmol/ml d'hémolymphe) pendant toute la première moitié du stade. Puis, les taux augmentent rapidement pour atteindre un pic (2596 pmol/ml d'hémolymphe) au moment où les insectes ont accompli le 2/3 du stade. Enfin, avant la mue imaginale les taux des ecdystéroïdes chutent brutalement (43 pmol/ml d'hémolymphe).

De même, Cassier *et al.* (1980) mentionnent que les quantités hormonales circulantes sont peu élevées pendant le premier tiers du dernier stade chez *L. migratoria*. Elles s'élèvent ensuite jusqu'à maximum atteint environ 48 heures avant l'exuviation.

Les taux des ecdystéroïdes présentent des fluctuations importantes au cours du cycle de mue. La cuticulogénèse peut être corrélée à l'évolution du titre des ecdystéroïdes. Les

valeurs les plus élevées sont atteintes quelques jours avant l'exuviation au moment de la digestion de l'ancienne cuticule et la mise en place d'une nouvelle cuticule dont les assises préecdysiales sont particulièrement riches en protéines. L'exuviation se déroule en présence de faibles taux des ecdystéroïdes. En fin de stade, une synthèse accélérée des protéines cuticulaires est associée à une diminution du taux des ecdystéroïdes donc de l'activité protéosynthétique du corps gras (Cassier *et al.*, 1980).

Chez les larves traitées en revanche, le DFB inhibe la production d'hormones et réduit d'une manière spectaculaire les taux des ecdystéroïdes dans l'hémolymphe tout au long du dernier larvaire. Les taux passent de 23 pmol/ml d'hémolymphe au début du stade à 210 pmol/ml d'hémolymphe le 11^e jour puis diminuent le jour précédent la mue imaginale.

Ce déséquilibre hormonal provoqué par le DFB explique les différentes anomalies morphologiques et biologiques observées au cours de notre étude. Le déchirement de l'ancienne cuticule ou l'exuviation observée chez les larves traitées au DFB indique selon Retnakaran *et al.* (1997) que l'hormone de mue est sécrétée. Les taux hormonaux faibles, affectent la synthèse de la chitine et par conséquent perturbent la sécrétion cuticulaire et l'exuviation normale chez les traités. D'autre part, l'accumulation des protéines dans la cuticule des larves bloquées par le DFB; serait due probablement à une diminution de l'utilisation des protéines par les tissus, notamment l'épiderme, par suite de l'interférence du DFB avec la sécrétion de la cuticule post-exuviale qui est contrôlé dans son origine par les ecdystéroïdes.

De même, l'incapacité d'exuviation chez les larves traitées, suggère que l'action du DFB, se fait par effet primaire sur la glande prothoracique et qu'elle est donc le tissu-cible de l'insecticide.

B- Effet du DFB sur le contrôle endocrine de la reproduction des adultes

Parallèlement à l'étude du potentiel reproducteur et la morphométrie de l'ovaire des femelles, nous avons dosé les titres des ecdystéroïdes dans l'hémolymphe, dans les ovaires et dans les œufs de *S. gregaria*.

Chez *S. gregaria*, les ecdystéroïdes sont présents de façon concomitante dans l'hémolymphe et dans les ovaires de la femelle adulte pendant le premier cycle ovarien.

Chez les témoins, les ecdystéroïdes hémolymphatiques augmentent progressivement les 10 premiers jours de la vie imaginale pour atteindre un pic (environ 0.17 μ M) noté le 11^{ème}, jour coïncidant avec la fin de la vitellogenèse, puis diminuent avec l'ovulation.

Les taux d'ecdystéroïdes produits *in vivo* par les ovaires sont relativement bas durant la période de prévitellogenèse, augmentent durant la vitellogenèse pour atteindre un pic à 12 jours de la vie adulte coïncidant avec la fin de vitellogenèse, et diminuent dès la ponte.

Ces fluctuations des taux d'ecdystéroïdes hémolymphatiques et ovariens sont corrélées avec la croissance et le développement des ovocytes au cours du premier cycle ovarien.

De ce fait, des changements cycliques dans le niveau des ecdystéroïdes dans l'hémolymphe et dans les ovaires sont observés pendant le premier cycle reproductif de *S. gregaria*.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Tawfik *et al.* (1997) au sujet de la synchronisation pendant le premier cycle ovarien et des valeurs maximales des ecdystéroïdes dans l'hémolymphe (environ 0.5 μ M équivalents 20E) de *S. gregaria*. Une forte synthèse d'ecdystéroïdes est notée pendant la dernière phase de la maturation des ovocytes terminaux chez *S. gregaria* (Tawfik *et al.*, 1999) et chez *L. migratoria* (Goltzené *et al.*, 1978; Lagueux *et al.*, 1977; Tawfik *et al.*, 2002). Chez les locustes femelles, il est admis que les ovaires, et plus spécialement les cellules folliculaires sont le siège de la production d'ecdystéroïdes (Goltzené *et al.*, 1978; Tawfik *et al.*, 2002).

Les taux hémolymphatiques et ovariens pourrait être mis en relation avec un rôle éventuel des ecdystéroïdes dans la reproduction et le processus de vitellogenèse (Raikhel *et al.*, 2005).

Chez les femelles adultes de *Gryllus bimaculatus*, l'ovogenèse et la vitellogenèse sont accomplies avec les changements caractéristiques dans les titres d'ecdystéroïdes dans l'hémolymphe (Lorenz *et al.*, 1995). Le contrôle de la production de vitellogénines par les ecdystéroïdes a été étudié chez *L. migratoria* (Girardie et Girardie, 1996).

Chez *L. migratoria* et *S. gregaria*, l'hormone juvénile et la neurohormone OMP (Ovary Maturing Parsin), stimulent la croissance des ovocytes et la vitellogenèse (Girardie et Girardie, 1996; Girardie *et al.*, 1998). Cependant, des injections quotidiennes de la 20E stimulent l'apparition précoce de la vitellogenèse chez *L. migratoria* suggérant que les ecdystéroïdes joue également un rôle gonadotropique chez les locustes (Girardie et Girardie, 1996). De plus, l'injection de la Lom-OMP provoque une augmentation précoce des ecdystéroïdes circulants (Girardie *et al.*, 1998). La neurohormone ne semble pas agir directement sur le corps gras pour induire la synthèse de la vitellogénine comme le fait l'hormone juvénile mais elle stimule la production de l'ecdysone par l'ovaire (De Loof *et al.*, 2001; Girardie *et al.*, 1998).

Une étude chez *Choristoneura fumiferana* et *C. rosaceana* (Lépidoptera, Tortricidae), réalisée par Delisle et Cusson (1999), semble suggérer que l'hormone juvénile augmente l'incorporation de la vitellogénine par les œufs en développement, sans toutefois être à l'origine de la production de cette protéine.

À ce titre, l'ecdysone pourrait être un candidat potentiel, puisque cette hormone est connue pour contrôler la synthèse de la vitellogénine chez plusieurs espèces d'insectes.

L'intervention de la 20E dans le métabolisme lipidique est également probable ; elle stimulerait la mobilisation des lipides du tissu adipeux pendant la vitellogenèse (Sayah, 1993).

Actuellement, les ecdystéroïdes ovariens représentent plus de 95% de tous les ecdystéroïdes de corps (Tawfik *et al.*, 1999). L'activité exocrine (choriogenèse) des cellules folliculaires est précédée par une phase endocrine. En effet, les cellules élaborent, à partir du cholestérol, de l'ecdysone, des précurseurs ou des dérivés qui, liés aux vitellogénines, s'accumulent en majeure partie dans l'ovocyte ou passent dans l'hémolymphe. Ces réserves hormonales d'origine maternelle, contrôleraient divers aspects de l'ovogenèse (réinitiation méiotique) et de l'embryogenèse (Synthèse cuticulaire) (Hagedorn, 1985; Lanot *et al.*, 1987)

Le DFB a réduit les taux d'ecdystéroïdes dans l'hémolymphe de *S. gregaria* ; les taux varient peu et sont restés extrêmement bas tout au long du premier cycle ovarien.

Cette réduction des taux hormonaux hémolymphatiques est concomitante d'une production ovarienne réduite. Les taux d'ecdystéroïdes ovariens sont faibles les quatre

premiers jours du premier cycle ovarien, augmentent légèrement aux jours 8 et 12 puis rechutent à la ponte.

De même, cette production d'ecdystéroïdes faibles est corrélée avec la perturbation de la croissance ovocytaire chez les femelles traitées comparativement aux témoins.

Chez *Cydia pomonella*, une application topique d'une dose sub létale de DFB, perturbe le développement des ovocytes et inhibe le second pic d'ecdystéroïdes d'origine ovarienne (Soltani and Soltani, 1988). Le DFB a également réduit significativement la production d'ecdystéroïdes ovariens *in vitro* chez les femelles adultes de *Gryllus bimaculatus* (Lorenz *et al.*, 1995).

C- effets du DFB sur le controle endocrine du développement embryonnaire

L'observation d'une activité ovicide du DFB sur les œufs de *S. gregaria* a orienté notre étude vers la recherche de son action sur le développement embryonnaire en recherchant d'éventuelles corrélations avec l'évolution des taux des ecdystéroïdes. Pour confirmer notre hypothèse, nous avons mesuré les quantités des ecdystéroïdes dans les œufs pondus par les femelles de *S. gregaria* témoins et traitées au DFB avant et après hydrolyse enzymatique.

La femelle fournit à l'œuf des molécules hormonales sous forme de conjugués inactifs (Lagueux *et al.*, 1979; Tawfik *et al.*, 1999). L'embryon hydrolyserait ces conjugués et aurait à sa disposition les ecdystéroïdes libres nécessaires à son développement embryonnaire (Hagedorn, 1985; Hägele *et al.*, 2004; Hoffmann *et al.*, 1980).

Chez les témoins, les œufs fraîchement pondus, renferment des taux de 419,2 pmol 20E équivalents /œuf sous forme de conjugués, puis les taux diminuent pendant les neuf premiers jours du développement embryonnaire.

Au 10^e jour de l'embryogenèse, nous avons enregistré non seulement une augmentation des ecdystéroïdes libres mais également des quantités élevées de conjugués chez les témoins. Cela résulte probablement d'une synthèse *de novo* de ces hormones par la glande prothoracique de l'embryon qui est devenu fonctionnelle à ce stade.

Le dépôt ainsi que le métabolisme des ecdystéroïdes maternels dans les œufs des locustes et la synthèse de *de novo* ecdystéroïdes par l'embryon précisément le 10^e jour a été déjà démontré par d'autres auteurs (Hägele *et al.*, 2004; Lagueux *et al.*, 1979; Sall *et al.*, 1983; Scalia et Morgan, 1982; Tawfik *et al.*, 1999).

Le DFB a réduit à trois fois la teneur en ecdystéroïdes libres et conjugués dans les œufs traités comparativement aux témoins. Les œufs nouvellement pondus par les femelles traitées contiennent uniquement 161 pmol 20 E équivalents/ œuf qui sont restés relativement bas durant tout le développement embryonnaire.

Ceci peut être expliqué par le fait que les ovaires des femelles traitées produisent des taux très réduits d'ecdystéroïdes, qui sont transférés par la suite dans les œufs durant la ponte. Par conséquent, les œufs contiendraient des niveaux relativement bas et insuffisant pour soutenir le développement embryonnaire de *S. gregaria*.

Nos résultats rejoignent ceux obtenus par Costet *et al.* (1987) qui en alimentant des femelles de *L. migratoria* avec des stéroïdes modifiés ont montré qu'ils étaient incapables de les transformer en ecdystéroïdes.

De même, l'incapacité d'éclosion des embryons issus de femelles traitées, suggère que l'action du DFB se fait par effet primaire sur la glande prothoracique de l'embryon et qu'elle est donc le tissu-cible du DFB.

Neumann et Guyer (1987) parlent d'activité transovarienne des inhibiteurs de croissance d'insectes.

Appliquée sur des œufs ou des femelles gravides de Névroptères, le DFB empêche l'émergence de la larve qui se développe normalement à l'intérieur de l'œuf mais ne peut en sortir, bien que parfois elle parvienne à en briser la paroi (Medina *et al.*, 2002). L'inhibition de dépôt de chitine chez l'embryon pourrait expliquer selon Grosscurt (1978) et Medina *et al.* (2002) cet effet ovicide. Royer (1992), confirme que les embryons de la punaise du cotonnier *Dysdercus fasciatus* bloqués par le DFB, sont arrivés au terme de leur constitution et ne révèlent aucune aberration morphologique : les appendices (céphaliques : mandibules, antennes et thoraciques : pattes) sont d'aspects normaux, la différenciation des yeux s'est produite et la segmentation dorsale est complète et concomitantes à celles des témoins.

La présence d'ecdystéroïdes dans les œufs de diverses espèces d'insectes a amené à envisager un contrôle des mues embryonnaires comparable à celui qui règle les mues larvaires. Effectivement des corrélations ont été établies entre les taux des ecdystéroïdes et la formation des cuticules embryonnaires chez différentes espèces telles *S. gregaria* (Sbrenna, 1974) et *L. migratoria* (Lagueux *et al.*, 1979). Chez les locustes, la quasi-totalité (98%) des ecdystéroïdes synthétisés dans les cellules folliculaires (Glass *et al.*, 1978; Goltzené *et al.*, 1978; Tawfik et Sehna, 2003; Tawfik *et al.*, 1999) passent dans l'ovocyte et s'y accumulent sous forme de conjugués. Une fraction mineure des ecdystéroïdes au sein de l'ovocyte est représentée par de l'ecdysone libre (Tawfik *et al.*, 1999). Les fluctuations des concentrations des ecdystéroïdes pendant l'embryogenèse indiquent qu'ils sont impliqués dans le contrôle du développement embryonnaire (Tawfik *et al.*, 1999). Au cours du développement embryonnaire apparaissent dans les œufs plusieurs pics de concentration d'ecdysone et de 20-hydroxyecdysone libres. Chez *Locusta*, deux de ces pics apparaissent avant la différenciation des glandes prothoraciques et il est suggéré que les tissus embryonnaires sont responsables de cette libération d'hormones libres en hydrolysant les conjugués d'origine maternelle. Deux arguments plaident en faveur de cette idée chez les témoins : les conjugués maternelles d'ecdysone sont effectivement métabolisés au cours du développement embryonnaire, et, d'autre part, la présence d'enzymes dans les œufs, est capables d'hydrolyser les conjugués et de faire réapparaître ainsi l'hormone libre. Des études précises de corrélations ont montré que l'apparition de chacun des pics d'ecdysone (ou de 20-hydroxyecdysone) libres correspond à une période de cuticulogenèse. Et il est tout à fait probable qu'au cours du développement embryonnaire l'ecdysone contrôle la cuticulogenèse comme elle le fait pendant le développement post-embryonnaire : cuticule sérosale et les deux cuticules embryonnaires et la cuticule larvaire. Dans le cas des deux derniers pics l'ecdysone est convertie en 20 E (Hoffmann *et al.*, 1980; Lagueux *et al.*, 1979). Cependant Dinan et Rees (1981) ainsi que Scalia et Morgan (1982) notent par contre un grand pic d'E libre dans vers la fin du développement embryonnaire de *S. gregaria*.

Selon Scalia *et al.* (1987), l'E libre présente un pic coïncidant avec la fermeture dorsale et la prolifération cellulaire, alors que le taux maximum de la 20 E coïncide avec la troisième mue embryonnaire durant laquelle la cuticule type larvaire est déposée.

Dans le cas des embryons de *S. gregaria* bloqués par le DFB, les taux d'ecdystéroïdes faibles, peuvent être la conséquence soit de la non activation directe ou indirecte de la glande prothoracique, soit de la désactivation des systèmes enzymatiques impliqués dans

l'hydrolyse des conjugués maternels. De ce fait les taux hormonaux n'augmentent et par conséquent empêchent une sécrétion cuticulaire normale et l'éclosion.

Les résultats de notre étude démontrent clairement que le diflubenzuron affecte les développements embryonnaire et larvaire et le succès reproducteur des femelles chez *S. gregaria* en interférant avec le contrôle endocrine de ces processus physiologiques. Quoique nos connaissances portant sur la diversité des modes d'action du diflubenzuron lors du développement larvaire progressent, les mécanismes moléculaires de son activité nécessitent d'être davantage étudiés.

conclusion générale

Notre travail représente, pour l'étude de l'effet du Diflubenzuron une approche originale par plusieurs aspects :

- d'une part, nous avons étudié son effet sur quelques aspects biologiques et physiologiques chez un redoutable ravageur, le Criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria*
- d'autres part, nous avons recherché à voir l'effet de ce produit sur l'évolution endocrine durant les trois stades de son cycle de vie, c'est-à-dire, le stade embryonnaire, le stade larvaire et le stade imaginal

Cette étude nous permet de dégager plusieurs hypothèses sur le mode d'action de cet inhibiteur de croissance et révèle sa complexité de la régulation endocrine du développement embryonnaire et post-embryonnaire chez *Schistocerca gregaria*. L'utilisation du diflubenzuron dans la lutte contre le Criquet pèlerin semble prometteuse, et il est fortement préconisé pour contrôler les différents états biologiques de ce locuste. Ce choix n'en devenait que plus attrayant car :

- il présente un effet direct sur les larves : larvicide
- il présente un effet indirect sur les adultes, en perturbant leur reproduction, donc il compromet leurs descendance
- il présente une activité ovicide, l'insecte est éliminé avant l'éclosion, c'est-à-dire avant qu'il commence à se nourrir

En effet, une séquence de tests de laboratoire, révèle une forte toxicité de ce produit sur les larves des deux derniers stades de *S. gregaria*, et les quatre doses testées étaient létales. En plus de la mortalité, plusieurs effets sont observés : anomalies morphologiques, rallongement de la durée larvaire et réduction de la croissance pondérale.

Résultat inattendu pour un inhibiteur de dépôt de chitine : une mortalité qui se manifeste chez plus de 50% d'individus dans les 48h à 72h suivant l'exposition au produit, avant la mise en place du processus de mue. Par ailleurs, les effets du DFB sur l'apparition des atteintes morphogénétiques notées avec la faible dose pourraient favoriser le risque de parasitisme et de prédation et ainsi augmenter indirectement la mortalité au sein des populations de *S. gregaria*.

L'étude de l'effet du DFB sur la cuticule des L5 traitées par ingestion avec la dose moyenne : 30mg/ml, révèle une réduction significative dans le poids sec de la cuticule. Il en est de même pour son contenu en chitine, mais augmente par contre son contenu en protéines.

Un tel produit est particulièrement indiqué pour jouer un rôle proactif au sein d'une zone d'invasion acridienne où les traitements en barrières sont recommandés (Wilps, 2004). L'objectif est qu'en traversant une zone traitée, les larves accumulent une dose létale. Des barrières consistent en des bandes de terrain traitées (en alternance avec des étendues non traitées plus grandes) disposées de telle sorte que les larves les traversent en s'alimentant de plantes traitées. La largeur des barrières et celle des zones entre deux barrières dépendront de : la mobilité des larves, de la rémanence de l'insecticide, du terrain / végétation (densité végétale), de la vitesse et la direction du vent au cours de l'application

et de la hauteur de l'application. La lutte contre les larves très mobiles peut se faire avec une grande distance entre les barrières, tandis que la lutte contre les larves moins mobiles nécessite des distances plus petites et dans certains cas, les barrières devront être en treillis (quadrillage) en prévision des changements de direction des larves (Holt et Cooper, 2006). Par ailleurs, la rémanence du diflubenzuron étant de plusieurs semaines, il se peut également que suivant l'éclosion, les jeunes larves de 1^{er} et 2^{ème} stades soient affectées par la présence de résidus sur le feuillage, ce qui réduirait encore davantage les niveaux de populations.

Le diflubenzuron ne présente pour les mammifères aucun effet toxique, pas de pouvoir mutagène ni d'effets tératogènes ; il ne présente pas de toxicité pour les oiseaux, poissons, mollusques et crustacés. Les coléoptères adultes ne sont généralement pas affectés, de même, les araignées sont très tolérantes.

Par ailleurs, cette étude nous permet non seulement de connaître la mortalité engendrée par le DFB chez les stades immatures de *S. gregaria*, mais également de déterminer le niveau de population de la génération subséquente et ce, en connaissant les effets de ce produit sur le succès reproducteur des parents et sur la survie de la progéniture en perturbant la régulation endocrine via les ecdystéroïdes.

Au niveau fondamental, ces recherches permettent entre autre d'augmenter nos connaissances des multiples rôles de l'ecdysone dans le développement, la métamorphose et la physiologie de la reproduction. Chez les femelles cet insecticide affecte la croissance ovocytaire, réduit la fécondité et provoque une suppression totale des éclosions.

En ce qui concerne l'effet du DFB sur le contrôle endocrine du développement de *S. gregaria*, nous remarquons que cet insecticide a inhibé la production hormonale et a réduit les quantités des ecdystéroïdes dans l'hémolymphe (des L5 et des femelles), dans les ovaires des femelles et dans les œufs (après avoir mis en évidence l'activité ovicide de ce produit) de *S. gregaria*.

Ces observations nous permettent d'envisager des hypothèses sur le mécanisme d'action de cet insecticide :

- Le DFB réduit la production des ecdystéroïdes par les ovaires ou en interférant par exemple avec le système de transfert vers l'hémolymphe ;
- le DFB réduit les taux hormonaux par action directe ou indirecte sur la glande prothoracique ou/et affecte les systèmes enzymatiques impliqués dans l'hydrolyse d'éventuels conjugués d'ecdystéroïdes maternels dans les oeufs.
- le DFB induirait une inhibition de la production des ecdystéroïdes pouvant résulter d'un effet inhibiteur direct ou indirect sur la glande prothoracique chez les L5 Dans ces derniers cas une faible synthèse des ecdystéroïdes serait à l'origine peut-être d'une non - synthèse de la cuticule (embryonnaire et imaginale).

En soi, ces résultats ne sont pas si surprenants étant donné les multiples fonctions de l'ecdysone dans le développement embryonnaire, post-embryonnaire et au niveau du système reproducteur femelle. Sur le plan pratique, ce retardement de la croissance et de la maturité sexuelle obtenu sur toutes les populations après traitement au DFB constitue un résultat extrêmement important. En effet, un développement larvaire retardé d'une à deux semaines, peut entraîner, par exemple, au cours des trois à quatre générations suivantes, une pénurie de ressources alimentaires, dans la mesure où la plante servant principalement de nourriture à ces criquets, *Schouwia thebaica*, ne se maintient que temporairement dans les aires de rémission, puisque sa période végétative se limite à quatre à six mois par an.

Mais ce qui devrait surtout diminuer le développement des populations de *S. gregaria* est le retardement de la fertilité des femelles observé au cours de notre étude.

L'étude des effets du DFB confère plusieurs avantages tant au niveau de la recherche appliquée que de la recherche fondamentale. Puisque ce produit est employé dans le but de contrôler les populations de plusieurs ravageurs, il est important de déterminer la vulnérabilité des différentes espèces ciblées afin d'optimiser les traitements et de réduire les impacts négatifs sur les espèces bénéfiques ou non-visées. En effet, la toxicité du DFB peut varier grandement d'une espèce à l'autre, certaines espèces étant capables d'éliminer ou de détoxifier davantage cet insecticide.

L'intérêt qui ressort de l'étude des régulateurs de croissance ou des inhibiteurs de synthèse de la chitine ne doit pas amoindrir les efforts à faire pour la promotion d'autres méthodes de lutte. On n'évitera pas l'apparition d'effets secondaires néfastes en substituant un insecticide par un autre, mais en raisonnant leur utilisation quitte à leur préférer d'autres moyens de lutte dont l'efficacité dans des conditions précises a pu être établie. Les méthodes aléatoires de recherches des matières actives doivent laisser la place à une approche plus raisonnée fondée sur la connaissance des mécanismes physiologiques de l'insecte. Il est certain que la compréhension des mécanismes physiologiques à partir de recherches fondamentales, aboutira à l'orientation des recherches appliquées en améliorant leur efficacité (Mauchamp, 1979).

La lutte chimique continuera d'être un élément important dans la lutte contre le Criquet pèlerin. Il faut cependant que les molécules utilisées à cette fin soient non seulement performantes mais aussi compatibles avec les autres éléments vivants de l'environnement.

Une lutte menée assez tôt dans les aires de rémission ne doit pas obligatoirement se traduire par des taux de mortalité élevés. En effet, si l'on parvient, à ce stade, à immobiliser les insectes et à les empêcher de quitter les aires de rémission tout en employant de moindres quantités d'insecticides et donc sans payer un trop lourd tribut écologique et économique, on dispose alors d'une stratégie tout aussi efficace (Huis *et al.*, 2007).

En perspectives, ces résultats originaux nécessitent d'être complétés. Une étude plus approfondie du contrôle endocrine impose des approches *in vivo* et *in vitro* incluant des expériences métaboliques utilisant des molécules marquées, des applications d'hormones, des cultures d'organes (ovaires, embryons). Ces expériences associées aux dosages immunoenzymatiques, devraient nous apporter des renseignements précieux pour une meilleure connaissance du réseau de régulation endocrine et pour aborder avec le plus de chances de succès le mode d'action précis du Diflubenzuron.

Cette démarche est indispensable si l'on veut envisager dans l'avenir un contrôle efficace de ce ravageur par le Diflubenzuron.

Références bibliographiques

- Abbaci S, Hamza Z. 2004. Action d'un nouveau régulateur de croissance le triflumuron chez les nymphes de *Tenebrio molitor* (L.) (Coleoptera, Tenebrionidae). Toxicologie, histologie et biochimie. Mémoire de fin d'étude, Université d'Annaba, 52p.
- Abbott WB. 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18: 265-267.
- Abo-Elghar GE, Fujiyoshi P, Matsumura F. 2004. Significance of the sulfonylurea receptor (SUR) as the target of diflubenzuron in chitin synthesis inhibition in *Drosophila melanogaster* and *Blattella germanica*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 34:743-752.
- Andersen SO. 1998. Amino acid sequence studies on endocuticular proteins from the desert, *Schistocerca gregaria*. *Insect Biochemistry and molecular biology* 28:421-434.
- Andersen SO. 2002. Characteristic properties of proteins from pre-ecdysial cuticle of larvae and pupae of mealworm *Tenebrio molitor*. *Insect Biochemistry and molecular biology* 32:1077-1087.
- Andersen SO, Roepstorff P. 2007. Aspects of cuticular sclerotization in the locust, *Schistocerca gregaria*, and the beetle, *Tenebrio molitor*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 37:223-234.
- Azam KM, Al-Seegh AAA. 1993. Effect of diflubenzuron on second instar nymphs of desert locust, *Schistocerca gregaria* Forskal. *Journal of Research APAU* 21(1/2):48-50.
- Baernholdt D, Andersen SO. 1998. Sequence studies on post-ecdysial cuticular proteins from pupae of the yellow mealworm, *Tenebrio molitor*. *Insect Biochemistry and molecular biology* 28:517-526.
- Barker RJ, Taber S. 1977. Effects of diflubenzuron fed to caged honey bees. *Environmental Entomology* 6:167-168.
- Bayoumi AE, Pérez-Pertejo Y, Zidan HZ, Balana-Fouce R, Ordonez C, Ordonez D. 2003. Cytotoxic effects of two antmolting insecticides in mammalian CHO-K1 cells. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 55:19-23.
- Beckemeyer EF, Lea AO. 1980. Induction of follicle separation in the mosquito to physiological amounts of ecdysterone. *Science* 209:819-821.
- Bellès X. 1995. Interactions between corpora allata, fat body and ovary in insect reproduction: which controls which? *Netherlands J Zool* 45:152-156.
- Bellès X. 1998. Endocrine effectors in insect vitellogenesis. In: Coast GM, Webster SG, editors. *Recent advances in Arthropod Endocrinology*. Cambridge Press: Cambridge. p 71-90.
- Bellès X. 2004. Vitellogenesis directed by juvenile hormone. In: Raikhel AS, Sappington TW, editors. *Reproductive Biology of Invertebrates*. p 157-198.

- Berghiche H, Smagghe G, Van De Velde S, Soltani N. 2007. In vitro cultures of pupal integumental explants to bioassay insect growth regulators with ecdysteroid activity for ecdysteroid amounts and cuticle secretion. *African Journal of Agricultural Research* 2(5):208-213.
- Blais C, Lafont R. 1984. Ecdysteroid metabolism by soluble enzymes from an insect-metabolic relationship between 3- beta-hydroxyecdysteroids, 3-alpha-hydroxyecdysteroids and 3-oxoecdysteroid. *Hoppe-Seyler's Z Physio Chem* 365:809-817.
- Boiteau G, Noronha C. 2007. Topical, residual and ovicidal contact toxicity of three reduced-risk insecticides against the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae), on potato. *Pest Management Science* 63:1230-1238.
- Bordereau C, Hirn M, Delbecq JP, De Reggi M. 1976. Présence d'ecdysone chez un insecte adulte: la reine de Termite. *Compte rendu de l'académie des sciences* 282:885-888.
- Breuer M, Hoste B, De Loof A. 2003. The endocrine control of phase transition: some new aspects. ²
- Buszczak M, Freeman MR, Carlson JR, Bender M, Cooley L, Segraves WA. 1999. Ecdysone response genes govern egg chamber development during mid-oogenesis in *Drosophila*. *Development* 126:4581-4589.
- Butenandt A, Karlson P. 1954. Über die Isolierung eines metamorphose-hormons des insekten in Kristallisierter Form. *Z Naturforsch* 9:389-391.
- Campiche S, Becker-van Slooten K, Ridreau C, Tarradellas J. 2006. Effects of insect growth regulators on the nontarget soil arthropod *Folsomia candida* (Collembola). *Ecotoxicology and Environmental Safety* 63:216-225.
- Carlisle DB, Ellis PE. 1959. La persistance des glandes ventrales cephaliques chez les Criquet solitaires. *Compte rendu de l'académie des sciences, Paris, série D* 249:1059-1060.
- Cassier P, Porcheron P, Papillon M, Lensky Y. 1980. Contribution à l'étude des protéines cuticulaires du criquet migrateur, *Locusta migratoria migratoroides* (R. et F.) données quantitatives. *Annales de Sciences Naturelles, Zoologie, Paris* 2:51-65.
- Cassier P, Lafont R, Descamps M, Porchet M, Soyez D. 1997. La reproduction des invertébrés. Stratégies, modalités et régulation. Intérêt fondamental et appliqué. (Ed.) Masson, 354 p.
- Cavelier A. 1976. Cours Phytopharmacie. Institut National Agronomique, 514p.
- Chandel RS, Gupta PR. 1992. Toxicity of diflubenzuron and penfluron to immature stages of *Apis cerana indica* F. and *Apis mellifera* L., *Apidologie* 23:465-473.
- Chapman RF. 1972. The insects: Structure and function. The English Universities Press, New York. 819p.
- Chara B. 1988. Organisation de la lutte antiacridienne en Algérie. Historique et évolution des moyens. CLCPANO: Alger.
- Charmillot PJ, Pasquier D, Salamin C, Ter-Hovannesyanyan A. 2007. Ovicidal and larvicidal effectiveness of insecticides applied by dipping apples on the small fruit tortrix *Grapholita lobarzewskii*. *Pest Management Science* 63:677-681.

- Chebira S, Soltani N, Muylle S, Smaghe G. 2006. Uptake and distribution of three insect growth regulators -Diflubenzuron, Flucycloxuron and Halofenozide- in pupae and adults of *Tenebrio molitor*. *Phytoparasitica* 34:187-196.
- Cho KY, Raikhel AS. 2001. Organisation and developmental expression of the mosquito vitellogenin receptor gene. *Insect Molecular Biology* 10:465-474.
- Ciudad L, Piulachs MD, Bellè s X. 2006. Systemic RNAi of the cockroach vitellogenin receptor results in a phenotype similar to that of the *Drosophila* *yolkless* mutant. *FEBS Journal* 373:325-335.
- Clarke L, Temple GH, Vincent JFV. 1977. The effects of a chitin inhibitor -Dimilin- on the production of peritrophic membrane in the locust, *Locusta migratoria*. *Journal of Insect Physiology* 23:241-246.
- Cohen E. 1987. Chitin biochemistry and inhibition. *Annual Review of Entomology* 32:71-93.
- Cohen E. 2001. Chitin synthesis and inhibition. *Pest Management Science* 57:946-950.
- Combes A, Saada M. 1968. Exercices et problèmes de probabilité et statistique. Ed. Vuibert, Paris, 733p.
- Cooper JF, Copper GDA, Dobson HM, Rakotonandrasana A, Scherer R. 1995. Sprayed barriers of diflubenzuron (ULV) as a control technique against marching hopper bands of migratory locust *Locusta migratoria capito* (Sauss.) (Orthoptera: Acrididae) in Southern Madagascar. *Crop Protection* 14(2):137-143.
- Coppen GDA. 1999. A simple model to estimate the optimal separation and swath width of ULV- sprayed barriers of Chitin Synthesis Inhibitors (CSI) to control locust hopper bands. *Crop Protection* 18:151-158.
- Coppen GDA, Jepson PC. 1996. The effects of the duration exposure on the toxicity of diflubenzuron, hexaflumuron and teflubenzuron to various stages of II instar *Schistocerca gregaria*. *Pesticide Science* 46:191-197.
- Costet MF, El Achouri M, Charlet M, Lanot R, Benveniste P, Hoffmann JA. 1987. Ecdysteroid biosynthesis and embryonic development are disturbed in insects (*Locusta migratoria*) reared on plant diet (*Triticum sativum*) with a selectively modified sterol profile. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 84:643-647.
- Cutler GC, Scott-Dupree CD, Tolman JH, Harris CR. 2005. Acute and sublethal toxicity of novaluron, a novel chitin synthesis inhibitor, to *Leptinotarsa decemlineata* (Coleoptera: Chrysomelidae). *Pest Management Science* 61:1060-1068.
- Daglish GJ, Wallbank BE. 2005. Efficacy of diflubenzuron plus methoprene against *Sitophilus oryzae* and *Rhyzopertha dominica* in stored sorghum. *Journal of Stored Products Research* 41:353-360.
- Dallaire R, Labrecque A, Marcotte M, Bauce E, Delisle J. 2004. The sublethal effects of tebufenozide on the precopulatory and copulatory activities of *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 112:169-181.
- De Loof A, Baggerman G, Breuer M, Claeys I, Cerstiaens A, Clynen E, Janssen T, Schoofs L, Vanden Broeck J. 2001. Gonadotropins in Insects: an overview. *Advances in Insect Biochemistry and Physiology* 47:129-138.

- De Loof A, Claeys I, Simonet G, Verleyen P, Vandersmissen T, Sas P, Huybrechts J. 2006. Molecular markers of phase transition in locusts. *Insect Science* 13:3-12.
- Delassus MH, Pasquier R. 1929. La lutte contre les sauterelles en Algérie. Publication du gouvernement général, Alger. 72 p.
- Delbecq JP, Weidner K, Hoffmann KH. 1990. Alternative sites for ecdysteroid production in insects. *Invertebrate. Reproduction and Development* 18:29-42.
- Delisle J, Cusson M. 1999. Juvenile hormone biosynthesis, oocyte growth and vitellogenin accumulation in *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana* : a comparative study. *Journal of Insect Physiology* 45:515-523.
- Delorme R, Mauchamp B. 1996. Mode d'action des insecticides. ACTA, Service lutte antiparasitaire, 23 p.
- Dhadialla TS, Carlson GR, Le DP. 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annual Review of Entomology* 43:545-569.
- Dhadialla TS, Retnakaran A, Smagghe G. 2005. Insect growth- and development-disrupting insecticides. In: Gilbert L.I., Iatrou K., S.S G, editors. *Comprehensive Molecular Insect Science*. Oxford: Elsevier. p 55-115.
- Dhouibi MH, Jarraya A. 1990. L'invasion acridienne en Tunisie et son impact sur l'environnement. *Journée internationale de l'environnement, Tunisie*. 12 p.
- Dinan L. 1989. Ecdysteroid structure and hormonal activity. In: Koolman J, editor. *Ecdysone: From Chemistry to Mode of Action*. Stuttgart.: Thieme Verlag. p 345-354.
- Dinan L, Rees H. 1981. The identification and titres of conjugated and free ecdysteroids in developing ovaries and newly-laid eggs of *Schistocerca gregaria*. *Journal of Insect Physiology* 27:51-58.
- Dorow E. 1996. Alsystin - An environmentally friendly insecticide for the control of plagues of locusts. *Pflanzenschutznachrichten Bayer* 49(2):145-180.
- Durant J-F, Launois M, Launois-Luong MH, Lecoq M. 1982. Manuel de prospection acridienne en zone tropicale sèche. Groupement d'Étude et des Recherches pour le Développement de l'Agronomie Tropicale. Vol. 1-2, Paris, 1496 p.
- Durant J-F, Launois M, Launois-Luong MH, Lecoq M. 1987. Guide anti-acridien du sahel. Montpellier: CIRAD-PRIFAS, Montpellier, 344 p.
- Durant J-F, Lecoq M. 1990. Le criquet pèlerin au Sahel. Collection Acridologie opérationnelle. La Hague/Montpellier ed. Pays-Bas. p 183.
- Elek JA. 1998. Interaction of treatment of both adult and immature Coleoptera with a chitin synthesis inhibitor affects mortality and development time of their progeny. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 89:125-136.
- Everts JW. 1990. Environmental Effects of Chemical Locust and Grasshopper Control: A pilot study. Food and Agriculture Organisation of the United Nations, Rome.
- Faure JC. 1932. The phases of locusts in south Africa. *Bulletin of Entomological Research* 23:293-405.
- Fournet F, Sannier C, Moriniere M, Porcheron P, Monteny N. 1995. Effects of two insect growth regulators on ecdysteroid production in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal Medical and Entomology* 32:588-593.

- Fuzeau-Braesch S. 1991. Polymorphisme phasaire des criquets migrateurs: déterminismes et différences géographiques. La lutte anti-acridienne. AUPELF-UREF ed. Paris: John Libbey Eurotext. p 135-139.
- Gäde G, Hoffmann KH, Spring JH. 1997. Hormonal regulation in insects: facts, gaps, and future directions. *Physiological Review* 77:963-1032.
- Gadenne C, Grenier S, Mauchamp B, Plantevin G. 1990. Effects of a juvenile hormone mimetic, fenoxycarb, on post-embryonic development of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. *Experientia* 46:744-747.
- Gande AR, Morgan ED. 1979. Ecdysteroids in the developing eggs of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Journal of Insect Physiology* 25:289-293.
- Ghaout S. 1990. Contribution à l'étude des ressources trophiques de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) solitaire en Mauritanie occidentale et télédétection de ses biotopes par satellite. Thèse de Doctorat d'état en Sciences Université Paris-sud, Orsay, 241 p.
- Gilbert LI, Rybczynski R, Warren JT. 2002. Control and biochemical nature of the ecdysteroidogenic pathway. *Annual Review of Entomology* 47:883-916.
- Girardie A. 1991. Régulation endocrinienne du développement, de la reproduction et du polymorphisme phasaire. La lutte anti-acridienne. AUPELF-UREF ed. Paris. p 119-127.
- Girardie J, Girardie A. 1996. Lom OMP, a putative ecdysiotropic factor for the ovary in *Locusta migratoria*. *Journal of Insect Physiology* 42:215-221.
- Girardie J, Huet JC, Atay-Kadiri Z, Ettaouil S, Delbecque JP, Fournier B, Pernollet JC, Girardie A. 1998. Isolation, sequence determination, physical and physiological characterization of the neuroparsins and ovary maturing parsins of *Schistocerca gregaria*. *Insect Biochemistry Molecular Biology* 28:641-650.
- Glass H, Emmerich H, Spindler K. 1978. Immunohistochemical localisation of ecdysteroids in the follicular epithelium of locust oocyt. *Cell Tissue Res* 194:237-244.
- Goltzené F, Lagueux M, Charlet M, Hoffmann JA. 1978. The follicle cell epithelium of maturing ovaries of locusta migratoria: a new biosynthetic tissue for ecdysone. *Hoppe-Seyler's Zeitschrift fur Physiologische Chemie* 359:1427-1434.
- Grasse PP. 1949. *Traité de zoologie. Anatomie, Systématique, Biologie.* (Ed.) Masson, Vol. IX, Paris, 1117p.
- Grenier S, Grenier AM. 1993. Fenoxycarb, a fairly new insect growth regulators: a review of its effects in insects. *Annals of Applied Biology* 122:369-403.
- Grieneisen ML, Warren JT, Gilbert LI. 1993. Early steps in ecdysteroid biosynthesis: evidence for the involvement of cytochrome p-450 enzymes. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 23:13-23.
- Grosscurt AC. 1978. Diflubenzuron: Some aspects of its ovicidal and larvicidal mode of action and an evaluation of its practical possibilities. *Pesticide science* 9:373-386.
- Guendouz-Benrima A. 2005. *Ecophysiologie et biogéographie du Criquet pèlerin Schistocerca*

- gregaria (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae) dans le sud Algérien. Thèse Doctorat d'Etat, Institut National Agronomique EL-Harrach, Alger, 210p.
- Gunn DL, Hunter-Jones P. 1952. Laboratory experiments on phase differences in locusts. *Anti-Locust Bulletin* 12:1-29.
- Hagedorn HH. 1985. The role of ecdysteroids in reproduction. In: Kerkut G, Gilbert Li, editors. *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*. Oxford: Pergamon press. p 205-262.
- Hagedorn HH, O'Connor JD, Fuchs MS, Sage B, Schlaeger DA, Bohm MK. 1975. The ovary as a source of α -ecdysone in an adult mosquito. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 72:3255-3259.
- Hägele BF, Simpson SJ. 2000. The influence of mechanical visual and contact chemical stimulation on the behavioural phase state of solitary desert locusts (*Schistocerca gregaria*). *Journal of Insect Physiology* 46:1295-1301.
- Hägele BF, Wang FH, Sehnal F, Simpson SJ. 2004. Effects of crowding, isolation, and transfer from isolation to crowding on total ecdysteroid content of eggs in *Schistocerca gregaria*. *Journal of Insect Physiology*. p 621-628.
- Hajjar NP, Casida JE. 1979. Structure-activity relationships of benzoylphenyl ureas as toxicants and chitin synthesis inhibitors in *Oncopeltus fasciatus*. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 11:33-45.
- Hami M, Taibi F, Soltani-Mazouni N. 2004. Effects of flucyclohexuron, a chitin synthesis inhibitor, on reproductive events and thickness of chorion in mealworms. *Communications in agricultural and applied biological sciences* 69:244-255.
- Harmatha J, Laurence D, Lafont R. 2002. Biological activities of a specific ecdysteroid dimer and of selected monomeric structural analogues in the BII bioassay. *Insect Biochemistry and molecular biology* 32:181-185.
- Hillerton JE, Purslow PP. 1981. An investigation of some matrix protein components critical to the extensible properties of insect cuticle. *Journal Materials Science* 16:1673-1679.
- Hillerton JE, Vincent JFV. 1979. The stabilisation of insects cuticles. *Journal of Insect Physiology* 25:957-963.
- Hoffman KH, Sorge D. 1996. Vitellogenin levels in allatectomized female crickets *Gryllus bimaculatus* de Geer (Ensifera, Gryllidae). *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 32:549-558.
- Hoffmann JA, Koolman J. 1974. Prothoracic glands in the regulation of ecdysone titres and metabolic fate of injected labelled ecdysone in *Locusta migratoria*. *Journal of Insect Physiology* 20:1593- 1601.
- Hoffmann JA, Lagueux M, Hetru C, Charlet M, Goltzené F. 1980. Ecdysone in reproduction competent female adults and embryos of insects. In: Hoffmann JA, editor. *Progress in ecdysone research*. Amsterdam: Elsevier/North Holland. p 431-465.
- Holt J, Cooper JF. 2006. A model to compare the suitability of locust hopper targets for control by insecticide barriers. *Ecological Modelling* 195:273-280.

- Huis AV, Cressman K, Magor JI. 2007. Preventing desert locust plagues: optimizing management interventions: Mini review. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 122:191-214.
- Hunter-Jones P. 1958. Laboratory studies on the inheritance of phase characters in locusts. *Anti-Locust Bulletin* 29:1-32.
- Ishaaya I. 1990. Benzoylphenyl ureas and other selective control agents, mechanism and application. *Pesticides and Alternatives*. Elsevier ed. Amsterdam: Casida, J. p 365-376.
- Ishaaya I. 1993. Insect detoxifying enzymes: their importance in pesticide synergism and resistance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 22:263–276.
- Ishaaya I, Casida JE. 1974. Dietary TH-6040 alters cuticle composition and enzyme activity of housefly larval cuticle. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 4:484-490.
- Ishaaya I, Horowitz AR. 1998. Insecticides with novel modes of action: an overview. In: Ishaaya I, Degeele D, editors. *Insecticides with novel modes of action: Heidelberg:Springer*. p 1-24.
- Kalume DE, Kieffer S, Rafn K, Skou L, Andersen SO, Roepstorff P. 2003. Sequence determination of three cuticular proteins and isoforms from the migratory locust, *Locusta migratoria*, using a combination of Edman degradation and mass spectrometric techniques. *Biochimica et Biophysica Acta* 1645:152-163.
- Karlson P. 1963. New concepts on the mode of action of steroid hormones. *Perspectives in Biology and Medicine* 6:203–214.
- Kellouche A, Soltani N. 2006. Impact of hexaflumuron, a chitin synthesis inhibitor, on growth, development and reproductive performance of the progeny in *Callosobruchus maculatus* after adult treatments. *African Journal of Agricultural Research* 1:57-64.
- Kemabonta KA, Odebiyi JA. 2005. Susceptibility of the life stages of *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Bruchidae) to diflubenzuron in cowpea seeds. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* 112(2):193-199.
- Kim GH, Ahn YJ, Cho KY. 1992. Effects of diflubenzuron on longevity and reproduction of *Riptortus clavatus* (Hemiptera: Alydidae). *Journal of Economic Entomology*.
- Klowden MJ. 1997. Endocrine aspects of mosquito reproduction. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 35:491-512.
- Koller CN, Raikhel AS. 1991. Initiation of vitellogenin uptake and protein synthesis in the mosquito (*Aedes aegypti*) ovary in response to a blood meal. *Journal of Insect Physiology* 37:703-711.
- Koolman J. 1990. Ecdysteroids. *Zoological Science* 7:563–580.
- Kostyukovsky M, Trostanetsky A. 2006. The effect of a new chitin synthesis inhibitor, novaluron, on various developmental stages of *Tribolium castaneum* (Herbst). *Journal of Stored Products Research* 42:136-148.
- Kramer KJ, Dziadik-Turner C, Koga D. 1985. Chitin metabolism in insects. In: Kerkut GaG, L.I., editor. *Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology, Integument, Respiration and Circulation*. Pergamon Press ed. Oxford. p 75-115.

-
- Kumpun S, Yingyongnarongkul B, Lafont R, Girault JP, Suksamrarn A. 2007. Stereoselective synthesis and moulting activity of integristerone A and Analogues. *Tetrahedron* 63:1093-1099.
- Lafont R. 1997. Ecdysteroids and related molecules in animals and plants. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 35:3-20.
- Lafont R. 2000. Understanding insect endocrine systems: molecular approaches: Mini review. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 97:123-136.
- Lafont R, Dauphin-Villemant D, Warren JT, Rees HH. 2005. Ecdysteroid Chemistry and Biochemistry. In: Gilbert L.I. IK, Gill S.S., editor. *Comprehensive Molecular Insect Science*. Oxford.: Elsevier. p 125-195.
- Lafont R, Pennetier J-L, Andrianjafintrimo M, Claret J, Modde J-F, Blais C. 1982. Sample processing for high-performance liquid chromatography of ecdysteroids. *Journal of Chromatography* 263:137-149.
- Lagueux M, Hirn M, Hoffmann JA. 1977. Ecdysone during ovarian development in *Locusta migratoria*. *Journal of Insect Physiology* 23:109-119.
- Lagueux M, Harry P, Hoffmann JA. 1981. Ecdysteroids are bound to vitellin in newly laid eggs of *Locusta*. *Molecular and Cellular Endocrinology* 24:325-338.
- Lagueux M, Hetru C, Goltzené F, Kappler C, Hoffmann JA. 1979. Ecdysone titre and metabolism in relation to cuticulogenesis in embryos of *Locusta migratoria*. *Journal of Insect Physiology* 25:709-723.
- Lahr J, Badji A, Marquenie S, Schuiling E, Ndour kB, Diallo AO, Everts JW. 2001. Acute Toxicity of Locust Insecticides to Two Indigenous Invertebrates from Sahelian Temporary Ponds. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 48:66-75.
- Lanot R, Thiebold J, Lagueux M, Goltzené F, Hoffmann JA. 1987. Involvement of ecdysone in the control of meiotic reinitiation in oocytes of *Locusta migratoria* (Insecta, Orthoptera). *Developmental Biology* 121:174-181.
- Launois-Luong MA. 1978. Méthode pratique d'interprétation de l'état des ovaires des acridiens du Sahel. *Annales de Zoologie Ecologie Animale* 10:569-587.
- Launois-Luong MA, Launois M, Rachadi T. 1988. La lutte chimique contre les criquets du Sahel. *Collection acridologie opérationnelle*. CIRAD/PRIFAS, Montpellier. p 125.
- Launois-Luong MA, Lecoq M. 1989. Vade-mecum des criquets du Sahel. *Collection acridologie opérationnelle*. CIRAD-PRIFAS ed. Montpellier, France, p 125.
- Launois-Luong MA, Lecoq M. 1993. Manuel explicatif du code OMM de transmission des informations sur les criquets ravageurs. Ed. CIRAD/PRIFAS, Genève. 31 p.
- Launois-Luong MA, Popov GB. 1992. *Schistocerca gregaria* (Forsk. 1775) (Acrididae, Cyrtacanthacridinae). Ed. CIRAD/PRIFAS. 4 p.
- Laurence D, Savchenko T, Whiting P. 2001. Phytoecdysteroids in the genus *Asparagus* (Asparagaceae). *Phytochemistry* 56:569-576.
- Lea AO. 1972. Regulation of egg maturation in the mosquito by the neurosecretory system: the role of the corpus cardiacum. *General and Comparative Endocrinology* 3 :602-608.
-

- Lecoq M. 1991. Le criquet migrateur en Afrique et à Madagascar. Guide des principaux locustes et criquets ravageurs du monde entier. Ed. CIRAD/PRIFAS, Montpellier, France. 131 p.
- Lecoq M. 2004. Vers une solution durable au problème du criquet pèlerin ? *Sécheresse* 15(3):1-8.
- Lecoq M, Mestre J. 1988. La surveillance des sauteriaux du Sahel. Collection d'Acridologie opérationnelle. CIRAD ed. Montpellier. p 62.
- Leighton TE, Marks D, Leighton F. 1981. Pesticides: Insecticides and fungicides are chitin synthesis inhibitors. *Science* 213(905-907).
- Li W, Verdova A, Sehna F. 1997. Humoral stimulation of the larval and adult prothoracic glands in *Schistocerca gregaria*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 36:85-93.
- Lim SJ, Lee SS. 1982. Toxicity of diflubenzuron to the grasshopper *Oxya japonica*: effects on reproduction. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 31:154-158.
- Lin Y, Hamblin MT, Edwards MJ, Barillas-Mury C, Kanost MR, Knipple DC, Wolfner MF, Hagedorn HH. 1993. Structure, expression, and hormonal control of genes from the mosquito, *Aedes aegypti*, which encode proteins similar to the vitellin membrane proteins of *Drosophila melanogaster*. *Developmental Biology* 155:558-568.
- Lorenz J, Lenz M, Hoffmann KH. 1995. Effects of pharmacological agents on ecdysteroid synthesis in vitro in ovaries and abdominal integument from female adult crickets, *Gryllus bimaculatus* de Geer (Ensifera, Gryllidae). *Zeitschrift für Naturforschung* 50c:286-293.
- Louveaux A, Benhalima T. 1986. Catalogue des Orthoptères Acridoidea d'Afrique du nord ouest. *Bulletin de la Société Entomologique de France* 91(3-4):73-86.
- Luong-Skormand MH, Rachadi T, Lecoq M. 2000. La lutte contre les criquets ravageurs : l'intérêt des mycopesticides. Dossier de l'environnement, CIRAD/PRIFAS, Montpellier, 3 p.
- Mahjoub N. 1988. Le problème du Criquet pèlerin et les perspectives de sa résolution. *Nature et faune* 4:16-20.
- Marco V, Pérez-farinós G, Castañera P. 1998. Effects of hexaflumuron on transovarial, ovicidal and progeny development of *Aubeonymus mariaefranciscæ* (Coleoptera: Curculionidae). *Environmental Entomology* 27:812-816.
- Marks EP, Leighton T, Leighton F. 1982. Modes of action of chitin synthesis inhibitors. In: Coats JR, editor. *Insecticide Mode of Action*: Academic Press, New York., p 281–313.
- Martin D, Wang S-F, Raikhel AS. 2001. The vitellogenin gene of the mosquito *Aedes aegypti* is a direct target of ecdysteroid receptor. *Molecular and Cellular Endocrinology* 173:75-86.
- Matthews GA. 2005. The Pesticide Referee Group of FAO and its contribution to locust control. *Journal of Orthoptera Research* 14:203-206.
- Mauchamp B. 1979. Aspects ultrastructuraux, biochimiques et endocrines de la différenciation des formations épidermiques. Thèse de Doctorat d'état, Université Pierre et Marie Curie, Paris VI 208 p.

-
- Mc Brayer Z, Ono H, Shimell M, Parvy JP, Beckstead RB, J;T; W, Thummel CS, Dauphin-Villemant D, L.I. G, O'Connor M. 2008. Prothoracicotropic Hormone Regulates Developmental Timing and Body Size in *Drosophila*. *Developmental Cell* 13:857-871.
- Medina P, Smagghe G, Budia F, Del Estal P, Tirry L, Vinuela E. 2003. Toxicity and Absorption of Azadirachtin, Diflubenzuron, Pyriproxyfen, and Tebufenozide after Topical Application in Predatory Larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera : Chrysopidae). *Environmental Entomology* 32(1):196-203.
- Medina P, Smagghe G, Budia F, Del Estal P, Tirry L, Viñuela E. 2002. Significance of penetration, excretion, and transvarial uptake to toxicity of three insect growth regulators in predatory lacewing adults. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 51:91-101.
- Merzendorfer H. 2006. Insect chitin synthases: a review. *Journal of Comparative Physiology B* 176:1-15.
- Merzendorfer H, Zimoch L. 2003. Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *Journal of Experimental Biology* 206:4393-4412.
- Missios S, Davidson HC, Linder D, Mortimer L, Okobi AO, Doctor JS. 2000. Characterisation of cuticular proteins in the red flour beetle, *Tribolium Castaneum*. *Insect Biochemistry and molecular biology* 30:47-56.
- Mommaerts V, Sterk G, Smagghe G. 2006. Hazards and uptake of chitin synthesis inhibitors in bumblebees *Bombus terrestris*. *Pest Management Science* 62:752-758.
- Mouret J. 1983. Effets démographique du diflubenzuron sur la mouche tsétsé. *Cahier ORSTOM, série Entomologie Médicale et Parasitologie XXI(1):19-27*.
- Muyle H, Gordon R. 1989. Effects of selected juvenile hormone analogs on sixth-instar larvae of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* Clemens (Lepidoptera: Tortricidae). *Canadian Entomologist* 121:1271-1272.
- Nakagawa Y, Matsumura F. 1994. Diflubenzuron affects gamma-thioGTP stimulated Ca^{2+} transport in vitro in intracellular vesicles from the integument of the newly molted American cockroach, *Periplaneta americana* L. *Insect Biochemistry and molecular biology* 24:1009-1015.
- Narayan D. 2004. Effects of diflubenzuron (moult inhibitor) on Bihar Hairy caterpillar, *Spilosoma obliqua* Walker. *Progressive Agriculture* 4(1):32-34.
- Nation JL. 2002. Hormones and development. In: JL N, editor. *Insect physiology and biochemistry*. New York: CRC publisher. p 119–155.
- Neumann R, Guyer W. 1987. Biochemical and toxicological differences in the modes of action of the benzoylureas. *Pesticide Science* 20:147-156.
- Nøhr C, Andersen SO. 1993. Cuticular proteins from fifth instar nymphs of migratory locust, *Locusta migratoria*. *Insect Biochemistry and molecular biology* 23(4):521-531.
- Noris MJ. 1954. Sexual maturation in the Desert Locust with special reference to the effects of grouping. *Anti-Locust Bulletin* 18: 1-44.
- Oberlander H, Silhacek DL. 1998. Mode of action of Insect Growth Regulators in Lepidopteran Tissue Culture. *Pesticide science* 54:300-322.
-

- OMS. 2001. The WHO recommended classification of pesticides by hazard and Guidelines to classification 2000-2002. Document WHO/PCS/015 International Programme on Chemical Safety, Organisation Mondiale de la santé, Genève.
- Park CG, Yoo JK, Lee JO. 1996. Toxicity of some pesticides to twospotted spider mite (Acari: tetranychidae) and its predator *Amblyseius womersleyi*. *Korean Journal of Applied Entomology* 35(3):232-237.
- Parlak O, Sakurai S, Kaya M, Ohtaki T. 1992. Content and possible role of ecdysteroids in the larval ovary of the silkworm, *Bombyx mori*. *Invertebrate Reproduction and Development* 21:1-6.
- Pascual N, Cerdá X, Benito B, Tomás J, Piulachs MD, Bellés X. 1992. Ovarian ecdysteroid levels and basal oöcyte development during maturation in the cockroach *Blattella germanica* (L.). *Journal of Insect Physiology* 38:339-348.
- Peel AD, Akam M. 2007. The dynamics of yolk deposition in the desert locust *Schistocerca gregaria*. *Journal of Insect Physiology* 53:436-443.
- Pener MP. 1991. Locust phase polymorphism and its endocrine relations. *Advances in Insect Physiology* 23:1-79.
- Perveen F. 2006. Reduction in egg hatch after a sublethal dose of Chlorfluazuron to larvae of the common cutworm, *Spodoptera litura*. *Physiological Entomology* 31:39-45.
- Perveen F, Miyata T. 2000. Effect of sublethal dose of chlorfluazuron on ovarian development and oogenesis in the common cutworm *Spodoptera litura* (Lepidoptera, Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America* 93:1131-1137.
- Popov GB. 1996. Quelques effets de la sécheresse sahélienne sur la dynamique des populations acridiennes. *Sécheresse* 7(2):91-97.
- Popov GB, Duranton J-F, Gigault J. 1991. Etude écologique des biotopes du Criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) en Afrique nord-occidentale. Mise en évidence et description des unités territoriales écologiquement homogène. Paris Mdlcedd, editor. Montpellier: Commission des communautés européennes, Bruxelles/FAO, Rome. 744 p.
- Popov GB, Launois-Luong MH, Van Der Weel J. 1990. Les oothèques des criquets du Sahel. *Collection Acridologie Opérationnelle*. Montpellier. p 153.
- Porcheron P, Morinière M, Grassi J, Pradelles P. 1989. Development of an enzyme immunoassay for ecdysteroids using acetylcholinesterase as label. *Insect Biochemistry* 19(117-122).
- Post LC, de Jong BJ, Vincent WR. 1974. 1-(2,6-Disubstituted benzoyl)-3-phenylurea insecticides: inhibitors of chitin synthesis. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 4:473-483.
- Quesada-Moraga E, Sanchez A, Santiago-Alvarez C. 2000. Diflubenzuron reduced biotic potential of the Mediterranean locust *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg, 1815). *Boletín de Sanidad Vegetal, Plagas* 26(1):113-118.
- Rachadi T. 1991. Promesses et limites de la lutte chimique dans la stratégie anti-acridienne. *La lutte antiacridienne*, Ed. AUPELF-UREF. Paris. p 151-165.

- Raikhel AS, Brown MR, Bellés X. 2005. Hormonal control of reproductive processes. In: Gilbert LI, Iatrou K, Gill SS, editors. *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier ed. San Diego. p 432-491.
- Raikhel AS, Dhadialla TS. 1992. Accumulation of yolk proteins in insect oocytes. *Annual Review of Entomology* 37:217-251.
- Ramaswamy SB, Shengqiang S, Yong IP, Fanrong Z. 1997. Dynamics of juvenile hormone-mediated gonadotropism in the Lepidoptera. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 35:539-558.
- Rao PJ, Mehrotra KN. 1987. Effect of diflubenzuron treatment on chitin deposition in the wings of *Schistocerca gregaria* Forskal. *Indian Journal of Experimental Biology* 49(1):76-80.
- Rao PJ, Mehrotra KN. 1997. Influence of diflubenzuron on chitin and its consequential effect on electrical resistance of the cuticle of *Schistocerca gregaria* Forskal. *Journal of Entomologia research* 21(3):253-257.
- Rees HH. 1989. Zooecdysteroids: structure and occurrence. In: Koolman J, editor. *Ecdysone*: G. Thieme Verlag, Stuttgart, p 28-38.
- Rees HH. 1995. Ecdysteroid biosynthesis and inactivation in relation to function. *European Journal of Entomology* 92:9-39.
- Rees HH, Isaac RE. 1984. Biosynthesis of ovarian ecdysteroid phosphatase and their metabolic fate during embryogenesis in *Schistocerca gregaria*. In: Hoffmann JA, Porchet M, editors. *Biosynthesis, metabolism and mode of action of Invertebrate Hormones*. Springer, Berlin. p 181-195.
- Retnakaran A, Granett J, Ennis T. 1985. Insect growth regulators. In: Kerkut G, L. G, editors. *Comprehensive Insect physiology, Biochemistry, and Pharmacology*. Pergamon ed. Oxford, UK. p 529-601.
- Retnakaran A, Smith LFR, Tomkins WL, Primavera MJ, Pallis SR, Payne N, Jobin L. 1997. Effect of RH-5992, a nonsteroidal ecdysone agonist, on the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae): laboratory greenhouse, and ground spray trials. *Canadian Entomologist* 129(5):871-885.
- Reynolds SE. 1987. The cuticle, growth and moulting in insects: the essential background to the action of acylurea insecticides. *Pesticide science* 20:131-146.
- Reynolds SE, Samuels RI. 1996. Physiology and biochemistry of insect moulting fluid. *Advances in Insect Physiology* 26:157-232.
- Riddiford LM. 1994. Cellular and molecular actions of juvenile hormone. I. General considerations and premetamorphic actions. *Advances in Insect Physiology* 24:213-274.
- Riddiford LM. 1996. Molecular aspects of juvenile hormone action in insect metamorphosis. In: Gilbert LIT, J. and Atkinson, B., editor. *Metamorphosis: Post-Embryonic Reprogramming of Gene Expression in Amphibian and Insect Cells*: Academic Press, Inc., San Diego. p 223-251.
- Roussel JP. 1992. La biosynthèse de l'ecdysone par les glandes prothoraciques de *Locusta migratoria* incubées in vitro. *Bulletin de la Société Zoologique de France* 117(1):37-43.

- Royer C. 1992. Dosage enzymoimmunologique de la Makistéron A. Application à l'étude de l'effet de deux régulateurs de croissance d'insectes sur le développement embryonnaire de la punaise du cotonnier *Dysdercus fasciatus* (Hémiptère). Thèse nouveau Doctorat. Institut national polytechnique de Toulouse, France, 108p.
- Rubenstein EC, Kelly TJ, Schwartz MB, Woods CW. 1982. In vitro synthesis and secretion of ecdysteroids by *Drosophila melanogaster* ovaries. *Journal of Experimental Zoology* 223:305-309.
- Rumpf S, Frampton C, Dietrich DR. 1988. Effects of conventional insecticides and insect growth regulators on fecundity and other life-table parameters of *Micromus tasmaniae* (Neuroptera: Hemerobiidae). *Journal of Economic Entomology* 91:34-40.
- Sall C, Tsoupars G, Kappler C, Lagueux M, Zachary D, Luu B, Hoffmann JA. 1983. Fate of maternal conjugated ecdysteroids during embryonic development in *Locusta migratoria*. *Journal of Insect Physiology* 29:491-507.
- Salokhe GS, Pal JK, mukherjee SN. 2003. Effect of sub lethal cocentrations of flufenoxuron o growth, development, and reproductive performance of *Tribolium castaneum* (Herst.). *Invertebrate Reproduction and Development* 43:141-150.
- Salokhe S, Sarkar A, Kulkarni A, Mukherjee S, Pal JK. 2006. Flufenoxuron, an acylurea insect growth regulator, alters development of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) by modulating levels of chitin, soluble protein content, and HSP70 and p34cdc2 in the larval tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 85:84-90.
- Satyanarayana K, Bradfield JY, Bhaskaran G, Dahm KH. 1994. Stimulation of vitellogenin production by methoprene in prepupae and pupae of *Manduca sexta*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 25:21-37.
- Satyanarayana K, Yu JH, Bhaskaran G, Dahm KH, Meola R. 1992. Regulation of vitellogenin synthesis by juvenile hormone in the corn earworm, *Helicoverpa zea*. *Invertebrate Reproduction and Development* 21:169-178.
- Sayah F. 1993. Rôles des ecdystéroïdes et des centres neuroendocrines dans les contrôles du métabolisme lipidique et du cycle reproducteur de *Labidura riparia* Insecte Dermaptère. Thèse de Doctorat, Université Pierre et Marie-Curie, Paris. 157 p.
- Sbrenna G. 1974. The fine structure and formation of the cuticles during the embryonic development of *Schistocerca gregaria* Forskal (Orthoptera: Acrididae). *J Submicr Cytol* 6:287- 295.
- Sbrenna G. 1991. Roles of morphogenetic hormones in embryonic cuticle deposition in arthropods. In: Gupta A, editor. *Morphogenetic hormones of arthropodes: roles in histogenesis, organogenesis and morphogenesis*. New Bruswich: Rutgers University Press. p 44-80.
- Scalia S, Morgan ED. 1982. A re-investigation on the ecdysteroids during embryogenesis in the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Journal of Insect Physiology* 28:647-654.
- Scalia S, Sbrenna-Micciarelli A, Sbrenna G, Morgan ED. 1987. Ecdysteroid titers and location in developing eggs of *Schistocerca gregaria*. *Insect Biochemistry* 17:227-236.

- Scherer R, Célestin H. 1997. Persistence of Benzoylphenylureas in the control of the migratory locust *Locusta migratoria capito* (Sauss.) in Madagascar. Berlin: Krall, S. Peveling, R. Ba Diallo, D. 129-136 p.
- Schneider M, Smagghe G, Gobbi A, Vinuela E. 2003. Toxicity and pharmacokinetics of seven novel insecticides on pupae of *Hyposoter didymator* (Hymenoptera, Ichneuminidae), a parasitoid of early larval instars of lepidopteran pests. *Journal of Economic Entomology* 96:1054-1065.
- Showler AT. 2002. A summary of control strategies for the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål). *Agriculture, Ecosystems and Environment* 90:97-103.
- Showler AT, Potter CS. 1991. Synopsis of the 1986-89 desert locust (Orthoptera: Acrididae) plague and the concept of strategic control. *American Entomology* 37:106-110.
- Slama K, Williams CM. 1966. "Paper Factor" as an inhibitor of the embryonic development of the european bug: *Pyrrhocoris apterus*. *Nature*, 210: 329-330.
- Smagghe G, Auda M, Van Laecke K, Degheele D. 1997. Significance of penetration and metabolism on topical toxicity of Diflubenzuron in *Spodoptera littoralis* and *Spodoptera exigua*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 82:255-260.
- Smagghe G, Salem H, Tirry L, Degheele D. 1996. Action of a novel insect growth regulator tebufenozide against different developmental stages of four stored product insects. *Parasitica* 52:61-69.
- Smith KE, Wall R. 1998. Effects of targets impregnated with the chitin synthesis inhibitor triflumuron on the blowfly *Lucilia sericata*. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 87:85-92.
- Socha R. 1971. The haemolymph and tissue proteins in relation to moulting and yolk formation in *Dixippus morosus* (Phasmoidae). *ACTA Ent* 68(5):289-299.
- Soltani N. 1987. Effets du diflubenzuron sur la reproduction chez *Tenebrio molitor* L. *Annales de l'Association nationale de la Protection des Plantes* III:471-475.
212. Soltani N, Besson MT, Delachambre J. 1984. Effect of diflubenzuron on the pupal-adult development of *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera: Tenebrionidae): growth and development, cuticle secretion, epidermal cell density and DNA synthesis. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 21:256-264.
- Soltani N, Soltani N. 1988. Interférence du diflubenzuron avec l'ovogenèse et les taux d'hormones chez *Cydia pomonella* L. (Lepidoptera, Tortricidae). *Annales de l'Institut National Agronomique* 12:235-250.
- Soltani N, Soltani-Mazouni N. 1992. Diflubenzuron and oogenesis in codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Pesticide Science* 32:257-261.
- Soltani-Mazouni N. 1994. Effects of ingested diflubenzuron on ovarian development during the sexual maturation of mealworms. *Tissue and Cell* 26:439-445.
- Soltani-Mazouni N, Soltani N. 1994. Diflubenzuron affected DNA synthesis in the ovaries of *Tenebrio molitor*. *Invertebrate Reproduction and Development* 25:19-21.
- Soltani-Mazouni N, Soltani N. 1995. The protein synthesis in the fat body of *Tenebrio molitor* (L.) during oocytes maturation: effect of diflubenzuron, cycloheximide and starvation. *Journal of Stored Products Research* 31:117-122.

- Spindler-Barth M, Spindler KD. 2001. Arthropoda-Insecta: larval development and metamorphosis-Molecular aspects. In: Adiyodi KGaA, R.G., editor. Reproductive biology of Invertebrates, Progress in developmental endocrinology. New york. 332 p.
- Steedman A. 1988. Manuel de lutte ant-acridienne. ODNRI. France. 71p.
- Stevenson JR, Hettick BP. 1980. Metabolism of chitin precursors by crayfish tissues during chitin synthesis. *Journal of Experimental Biology* 214(1):37-48.
- Strambi A, Strambi C, Cayre M. 1997. Hormonal control of reproduction and reproductive behavior in crickets. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 35:393-404.
- Takeuchi Y, Yoshizaki G, Kobayahi T, Takeushi T. 2002. Mass isolation of primordial germ cells from transgenic Rainbow trout carrying the green fluorescent protein gene driven by vasa gene promoter. *Biology reproductive* 67:1087-1092.
- Tanaka S, Maeno K. 2006. Phase-related body-color polyphenism in hatchlings of the desert locust, *Schistocerca gregaria*: Re-examination of the maternal and crowding effects. *Journal of Insect Physiology* 52:1054-1061.
- Tasei JN. 2001. Effects of insect growth regulators on honey bees and non-Apis bees. A review. *Apidologie* 32:527-545.
- Tawfik A, Sehna F. 2003. A role for ecdysteroids in the phase polymorphism of the desert locust. *Physiological Entomology* 28:19-24.
- Tawfik A, Verdova A, Li W, Sehna F, Obeng-Ofori D. 1997. Haemolymph ecdysteroids and the prothoracic glands in the solitary and gregarious adults of *Schistocerca gregaria*. *Journal of Insect Physiology* 43:485-493.
- Tawfik A, Verdova A, Sehna F. 1999. Ecdysteroids during Ovarian Development and Embryogenesis in Solitary and Gregarious *Schistocerca gregaria*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 41:134-143.
- Tawfik AI, Matho'vã A, Sehna F, Ismail SH. 1996. Haemolymph ecdysteroids in the solitary and gregarious larvae of *Schistocerca gregaria*. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology* 31:427-438.
- Tawfik AI, Yoshiaki T, Tanaka S. 2002. Involvement of ecdysteroids in embryonic diapause of *Locusta migratoria*. *Journal of Insect Physiology* 48:743-749.
- Thornill R, Alcock J. 1983. The evolution of insect mating systems. Ed. Cambridge M, Harvard University Press. 547 p.
- Tomic N, Popescovic D, Dujin N. 1985. Some larval and post-larval effects of diflubenzuron on honey bee (*Apis mellifera* L.). Proceedings of the 29th International Congress of Apiculture, Budapest, 1983, Apimondia Publishing House, Bucharest, Romania: 275-278.
- Tomlin CDS. 2003. The pesticide manual. British Crop Protection Council, Farnham.
- Truman JW, Riddifort LM. 2002. Endocrine insights into the evolution of metamorphosis in insects. *Annual Review of Entomology* 47:467-500.
- Tunaz H, Uygun N. 2004. Insect Growth Regulators for Insect Pest Control. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry Sciences* 28:377-387.

- Uchida M, Izawa Y, Sugimoto T. 1987. Inhibition of prostaglandin biosynthesis and oviposition by an insect growth regulator, buprofezin, in *Nilaparvata lugens* Stål. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 27:71-75.
- Uvarov BP. 1966. Grasshoppers and locusts. acridology. Anatomy, physiology, development, phase polymorphism, introduction to taxonomy. Ed. Cambridge, University Press, xi + 481 p.
- Van Eck WH. 1979. Mode of action of two benzoylphenyl ureas as inhibitors of chitin synthesis in insects. *Insect Biochemistry* 9:295-300.
- Vandersmissen A, De Loof A, Gu SH. 2007. Both prothoracicotropic hormone and an autocrine factor are involved in control of prothoracic gland ecdysteroidogenesis in *Locusta migratoria* and *Schistocerca gregaria*. *Peptides* 28:44-50.
- Verloop A, Ferrell CD. 1977. Benzoylphenyl ureas. A new group of larvicides interfering with chitin deposition. In: Plimmer J, editor. *Pesticide chemistry in the 20th Century Symposium Series American Chemical Society, Washington DC*. p 237-270.
- Vincent JFV. 2001. Cuticle. In: Busschow KHJ, Cahn RW, Flemings MC, Ilschner B, Kramer EJ, Mahajan S, editors. *Encyclopedia of materials: Science and technology*: Elsevier science, Ltd.
- Vincent JFV, Clarke L. 1985. Effects of diflubenzuron on the stabilisation of protein within the cuticular matrix of the locust (*Ensifera: Locustodae*). *Entomologia generalis* 11(1/2):15-24.
- Wakgari W. 1997. A comparison of efficacies of bran-based baits containing diflubenzuron, teflubenzuron, and fenitrothion against desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forsk.) (*Orthoptera: Acrididae*). *International Journal of Pest Management* 43(2):163-167.
- Warren JT, Petryk A, Marques G, Jarcho M, Parvy JP, Dauphin-Villemant C, O'Connor MB, Gilbert LI. 2002. Molecular and biochemical characterization of two P450 enzymes in the ecdysteroidogenic pathway of *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 99:11043-11048.
- Williams CM. 1956. The juvenile hormone of insects. *Nature*, 178, 212-213.
- Williams CM. 1967. The juvenile hormone II. Its role in the endocrine control of molting, pupation, and adult development in the cecropia silkworm. *Biological Bulletin Woods Hole* 121:572-585.
- Wilps H. 2004. Barrier treatment as a means of controlling migratory locusts. A literature review. *GTZ Emergency Prevention System for Transboundary Animal and Plant Pests and Diseases - Desert Locust Component - Central Region Programme (EMPRES/CR)*. p 64.
- Wilps H, Diop B. 1997. The effects of the insect growth regulator Triflumuron ("Alsystin") on hopper bands of *Schistocerca gregaria*. *International Journal of Pest Management* 43(1):19-25.
- Wing KD, Slawecki RA, Carlson GR. 1988. RH 5849, a nonsteroidal ecdysone agonist : effects on larval *Lepidoptera*. *Science* 241:470-472.

- Yu SJ, Terriere LC. 1975. Activity of hormone metabolizing enzymes in house fly with some substituted urea growth regulators. *Life Sciences* 17(619-625).
- Yu SJ, Terriere LC. 1977. Ecdysone metabolism by solubles enzymes from three species of diptera and its inhibition by the insect growth regulator TH-6040. *Pesticide Biochemistry and Physiology* 7(1):48-55.
- Zhang J, Zhu KY. 2006. Characterization of a chitin synthase cDNA and its increased mRNA level associated with decreased chitin synthesis in *Anopheles quadrimaculatus* exposed to diflubenzuron. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 36:712-725.
- Zimoch L, Hogenkamp D, KJ. K, Muthukrishnan S, Merzendorfer H. 2005. Regulation of chitin synthesis in the larval midgut of *Manduca sexta*. *Insect Biochemistry and molecular biology* 35:515-527.

Annexes

Jours	Témoins	Traités		M
		R1	R2	
1		0		0
2		0		0
3		0		0
4		0		0
5		10		5
6		10	30	20
7	MUE	30	40	35
8		30	50	40
9		50	60	55

Tableau a: Mortalités observées chez les L4 traitées par ingestion avec la dose 5 mg/ml

Jours	Témoins	Traitées		M
		R1	R2	
1		0		0
2		0		0
3		0		0
4		0	11,1	5,5
5		0	22,2	11,1
6		44,4	33,3	38,8
7	MUE	66,6	55,5	61,1
8		100	88,8	94,4
9		100	100	100

Tableau b : Mortalités observées chez les L4 traitées par ingestion avec la dose 10 mg/ml

Jours	Témoins	Traitées		M
		R1	R2	
1		0		0
2		0		0
3		0		0
4		30	10	20
5		44,4	33,3	38,8

Tableau c : Mortalités observées chez les L4 traitées par ingestion avec la dose 30 mg/ml

Action du Diflubenzuron sur la croissance, la reproduction et l'évolution des ecdystéroïdes hémolympatiques, ovariens et embryonnaires chez le Criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)

Jours	Témoins	Traitées		
		R1	R2	M
1			10	10 10
2			70	50 60
3			100	100 100
4				
5				
6				
7	MUE			

Tableau d : Mortalités observées chez les L4 traitées par ingestion avec la dose 60mg/ml

	TEMOINS	TRAITEES		
		R1	R2	M
1		0	0	0
2		0	0	0
3		0	0	0
4		0	0	0
5		0	0	0
6		0	0	0
7		0	0	0
8		10	10	10
9		10	20	15
10	MUE	20	30	25
11		40	50	45
12		50	70	60
13		70	70	70
14		70	80	75
15		80	80	80
16		80	90	85
17		100	100	100

Tableau e : Mortalités observées chez les L5 traitées par ingestion avec la dose 5mg/ml

	Témoins	Traitées		M
		R1	R2	
1		0	0	0
2		0	0	0
3		0	0	0
4		10	0	5
5		10	20	15
6		40	40	40
7		40	50	45
8		40	50	45
9		50	60	55
10	MUE	60	70	65
11		70	70	70
12		100	100	100

Tableau f : Mortalités observées chez les L5 traitées par ingestion avec la dose 10mg/ml

	Témoins	Traitées		M
		R1	R2	
1		0	0	0
2		0	0	0
3		0	10	5
4		10	30	20
5		40	30	35
6		40	50	45
7		60	50	55
8		60	50	55
9		60	60	60
10	MUE	60	80	70
11		90	80	85
12		100	100	100

Tableau g : Mortalités observées chez les L5 traitées par ingestion avec la dose 30mg/ml

Action du Diflubenzuron sur la croissance, la reproduction et l'évolution des ecdystéroïdes hémolympatiques, ovariens et embryonnaires chez le Criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)

	Témoins	Traitées		M
		R1	R2	
1		20	10	15
2		30	30	30
3		70	60	65
4		90	80	85
5		100	100	100
6				
7				
8				
9				
10	MUE			

Tableau h: Mortalités observées chez les L5 traitées par ingestion avec la dose 60mg/ml