

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة

UNIVERSITE 20 AOUT 1955- SKIKDA



Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Ecotoxicologie Animal

Intitulé :

Impact de l'exposition pré-imaginale à l'azadirachtine sur le
comportement alimentaire chez un modèle de référence
de *Drosophila melanogaster* (Diptera).

Présenté Par :

- ✓ Melle Gheriouedj Ilhem
- ✓ Melle Fradj Boutheina
- ✓ Melle Bouras Bochra
- ✓ Melle Bouaita Nour Elhouda

Membre de Jury :

Mme. Naji Safia (MCB)	Président	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Bezzar-Bendjazia Radia (MCA)	Promoteur	Université du 20 Août 1955 – Skikda
Mme. Benjdide Madiha (MAB)	Examineur	Université du 20 Août 1955 – Skikda

Année universitaire 2022/2023

Remerciements

Tout d'abord, nous remercions le bon dieu le tout puissant pour son aide et pour nous avoir guidé pour mener à bien ce travail.

*Nous tenons à exprimer notre profonde reconnaissance à **Mme Radia Bezzar-Bendjazia** pour l'excellent encadrement fourni, son soutien, sa disponibilité et sa patience malgré ses nombreuses tâches. Grâce à ses conseils judicieux et son enthousiasme motivant, j'ai pu réaliser ce travail et j'espère avoir été à la hauteur de ses attentes. Merci d'avoir en toutes occasions pris le temps de m'écouter et de me comprendre. Pour tout cela mais aussi pour votre humanisme, votre bonté et votre gentillesse.*

*Nous remercie infiniment **Dr. Naji S** (Université de Skikda) pour avoir accepté de présider ce jury.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à **Dr. Benjdid M** (Université de Skikda) pour avoir accepté de faire partie de ce jury et de juger ce travail.*

Je tiens à remercier tous mes collègues qui m'ont aidé toute au long de la réalisation de ce travail.

Dédicace

Avant tout c'est grâce à Dieu que nous sommes là.

A mes chers parents Nadia, Chabaane pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien tout au long de mes études.

A mon cher frère Rabah Adlane.

A ma chère tante Fouzia. Mes tantes paternelles et mes oncles.

Surtout mon cher oncle Kamel pour son aide et ses encouragements depuis l'enfance. Merci ma chère amie

*Ines d'être toujours à mes côtés. Merci de votre **compréhension** et de votre coopération. Boutheina, Bochra et Nour A tous les gens que j'aime.*

ILHem ...

Dédicace

*Avant tout c'est grâce à Dieu que nous sommes là
À cette grande personne qui souhaitait que ses yeux se
réjouissent de me voir le jour de ma remise des diplômes, à
celle qui nous embrasse dans la poussière avant que son
souhait ne soit exaucé, au secret de ma force et de ma
détermination, à ma mère, que Dieu ayez pitié d'elle, je lui
dédie mon diplôme et ma réussite.*

A mon très cher père ABD Alouaheb

*Tu as toujours été pour moi un exemple de père respectueux,
honnête et de personne ponctuelle, je tiens à honorer
l'homme que tu es, Merci papa*

A mes chers frères et ma chère sœur.

A mon grand-père que Dieu ayez pitié d'il,

A ma famille.

A mes collègues pour leur compréhension et leur coopération.

Ilhem, Bochra et Nour

Boutheina ...

Dédicaces

*Avant tout c'est grâce à Dieu que nous sommes là.
A mes chers parents Abd el-Hamid & Noura, merci pour tous
ses sacrifices, votre amour, vos tendresses, votre soutien et vos
prières tout au long de mes études, que ce travail soit
l'accomplissement de vos désirs et le fruit de vos efforts. Je
vous aime.*

*A ma Chère sœur Hanna pour son encouragement permanent,
et son soutien moral, au mari de ma sœur et à ces enfants
Tadj-Eddine et Moundir que Dieu les protège.*

*A mon cher frère Ammar et sa femme Zineb pour leur soutien
et leurs encouragements.*

*A mon cher fiancé Salah Eddine merci d'être toujours là pour
moi, de me soutenir, de m'encourager, et de me donner des
conseils.*

*A mes grands – parents que Dieu leur fasse miséricorde et ma
grande - mère que Dieu prolonge sa vie,
A mes oncles et mes tantes.*

*A mes chères amies. A tous ceux qui m'ont encouragé
Merci à tous pour votre amour et vos encouragements que
Dieu les protégés et leurs offre la chance et le bonheur.
A Mes collègues pour leurs patiences et leurs compréhensions
tout au long de ce projet, Ilhem, Boutheina Nour Elhouda.*

Bohra ...

Dédicace

Avant tout c'est grâce à Dieu que nous sommes là

À mon paradis sur terre, ma mère,

À au sommet de ma tête, mon père,

Aux mes parents qui sont sacrifiés et ont souffert pour

*arriver à ce que je suis aujourd'hui, que Dieu vous
protège pour moi et vous accorde santé et bien-être.*

À ma chère sœur Rania et mon frère Islam.

Dans ces situations, je ne peux pas oublier mon frère

Oussama, que Dieu lui fasse miséricorde.

À tous mes oncles et tantes et à tous ceux qui ont prié

pour moi et m'ont souhaité du succès un jour.

A mes chères cousines.

A mes chères collègues " Bochra, Bouteina, Ilhem "

Je souhaite que Dieu vous accorde le succès dans la vie.

Nour...

SOMMAIRE

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Résumés	
1. Introduction	1
1.2. Intérêt de l'étude	3
1.3. Objectifs de l'étude	4
Chapitre 01 : Recherches bibliographiques	4
1. Généralité sur les pesticides	5
1.1. Utilisations intensives de pesticides à large spectre	5
1.2. Les biopesticides	7
1.3. L'arbre de Neem.....	7
1.3.1. Propriétés du Neem (<i>Azadirachta indica</i>).....	8
1.3.2. L'azadirachtine.....	9
1.4. Toxicité et risque écotoxicologique de l'azadirachtine.....	11
1.5. Potentiel insecticide de l'azadirachtine	12
1.5.1. Effets régulateurs de croissance	12
1.5.2. Effets sur le système nerveux.....	13
1.5.3. Effets sur la reproduction.....	13
1.5.4. Effets moléculaires	13
1.5.5. Effets anti-appétant	14
1.6. Le système chimiosensoriel et locomoteur comme cible potentielle des pesticides.....	14
2. Présentation de l'espèce biologique	16
2.1. <i>La drosophile</i> : organisme modèle	16
2.2. Taxonomie.....	16
2.3. Principales caractéristiques de <i>Drosophila melanogaster</i>	18
2.4. Cycle biologique	19
2.5. Le système olfactif chez <i>D. melanogaster</i>	21
2.6. Le système gustatif chez <i>D. melanogaster</i>	22
2.6.1. L'architecture du système gustatif	23

<i>Chapitre 02 : Matériel et Méthodes</i>	23
3. Matériel et Méthodes	23
3.1. Élevage en laboratoire	23
3.2. Présentation de l'insecticide et traitement.....	24
3.3. Présentation de l'insecticide.....	24
3.4. Traitement	25
3.5. Effet de l'azadirachtine	26
3.5.1. Test de préférence larvaire	26
3.5.2. Test de préférence alimentaire chez l'adulte.....	27
3.6. Analyse statistique.....	28
<i>Chapitre 03: Résultats Et Discussion</i>	23
4. Résultats	29
4.1. Effets de l'azadirachtine sur la préférence larvaire	29
4.2. Effets de l'azadirachtine sur la préférence alimentaire	30
5. Discussion	32
<i>Chapitre 04: Conclusion ET Perspectives</i>	29
6. Conclusion et perspectives	35
<i>Chapitre 05: Références Bibliographiques</i>	35
Références bibliographiques	35

LISTE DES FIGURES

Figure 01 : L'arbre de Neem et ses composants.....	07
Figure 02: Structure de l'azadirachtine A.....	10
Figure 03: Taxonomie de <i>Drosophila melanogaster</i>	17
Figure 04: Phylogénie de <i>Drosophila melanogaster</i>	18
Figure 05: Principales caractéristiques de différenciation entre les deux sexes de <i>Drosophila melanogaster</i>	19
Figure 06: Cycle de vie de <i>D. Melanogaster</i>	21
Figure 07: Les différents types des sensilles olfactives chez <i>D. melanogastr</i>	22
Figure 08: Organisation du système gustatif chez <i>Drosophila melanogaster</i>	24
Figure 09: Élevage au laboratoire de <i>D. melanogaster</i>	26
Figure 10: Structure chimique de l'azadirachtine A.....	27
Figure 11: Traitement des larves L3.....	27
Figure 12: Test de préférence larvaire.....	29
Figure 13: Test de préférence alimentaire.....	30
Figure 14: Effets de l'azadirachtine (DL ₂₅ , DL ₅₀)	31
Figure 15: Indice de préférence larvaire (IPL) des larves de <i>D. melanogaster</i>	32
Figure 16: Indice de préférence alimentaire (IPA) des adultes de <i>D. melanogaster</i>	33
Figure 17: (A): Schéma du cerveau de la drosophile, (B): Schéma des corps pédonculés.....	36

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 01: Principaux constituants chimiques d' <i>Azadirachta indica</i>	09
---	----

LISTE DES ABREVIATIONS

D:	Drosophila
IGDs:	Perturbateurs de croissance des insectes
JH:	Hormone juvénile
20E:	20-hydroxyecdysone
L1:	Stade larvaire 1
L2:	Stade larvaire 2
L3:	Stade larvaire 3
G:	Gramme
°C:	Degré Celsius
µg / ml:	Microgramme par Millilitre
FAO:	Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture
SEM:	Erreur standard de la mesure
H:	Heure
IPL:	Indice de Préférence Larvaire
IPA:	Indice de Préférence Alimentaire
XX ème:	Vingtième
DL:	Dose Létale
DDT:	dichlorodiphényltrichloroethane

Résumé

Les effets d'une formulation commerciale d'azadirachtine ; le Neem-Azal, administré par application topique aux larves du début du dernier stade larvaire (L3) ont été évalués sur le choix larvaire et la préférence alimentaire de *D. melanogaster*. Deux doses ont été utilisées, la première correspond à une dose sublétales (DL₂₅ : 0,28 ug) et la deuxième est une dose létale (DL₅₀ : 0,67ug) des stades immatures.

Les résultats révèlent que l'azadirachtine affect le choix larvaire et la préférence alimentaire de *D. melanogaster*. En effet, un évitement de l'azadirachtine a été enregistré au cours de nos expérimentations, aussi bien pour les larves que pour les adultes, traduisant une aversion pour cette molécule. De plus l'aversion à l'azadiractine semble être plus importante chez les insectes ayant été préalablement exposés à l'insecticide (stade L3), en comparaison aux insectes "naïves", suggérant une mémorabilité de l'aversion à cette molécule.

Mots clés : Azadirachtine, *D. melanogaster*, Préférence larvaire, Préférence alimentaire.

Abstract

The effects of a commercial formulation of azadirachtin ; the Neem-Azal topically applied to early third instars larvae (L3) were evaluated on the development of *D. melanogaster*. Two doses were tested, the first corresponds to a sublethal dose (LD₂₅ : 0.28 µg) and the second one is a lethal dose (LD₅₀ : 0.67 µg).

The results revealed that azadirachtin affects larval and food preference of *D. melanogaster*. In fact, ovoidance of azadirachtin was recorded during our experiments, both larvae and adults, reflecting an aversion to this molecule. Moreover, aversion to azadirachtine appears to be greater in insects having been previously exposed to the insecticide (L3 stage) compared to control insects, suggesting the memorability of aversion to this compound.

Keywords: Azadirachtin, *D. melanogaster*, Larval preference, Food preference.

ملخص :

تم تقييم تأثير صيغة تجارية من Neem-Azal azadirachtin، على تطور *D. melanogaster* التي تدار موضعيا على يرقات في بداية الطور الثالث، (L3). تم استخدام جرعتين، الأولى هي جرعة مميتة (LD_{25}): $0.28 \mu g$ والثانية جرعة مميتة (LD_{50}): $0.67 \mu g$ من المراحل غير الناضجة.

تكشف النتائج أن المبيد الحشري azadirachtin يؤثر على تفضيل اليرقات وتفضيل الغذاء عند *Melanogaster*. في الواقع سجلت تجنب للـ *azadirachtin* خلال تجاربنا، لكل من اليرقات والبالغين يعكس النفور من هذه المادة. وعلاوة على ذلك، النفور من azadirachtin يبدو أكبر عند الحشرات المتعرضة سابقا للمبيد الحشري (الطور الثالث)، مقارنة مع الحشرات الشاهدة، مما يشير إلى بروز النفور من هذه المادة.

الكلمات المفتاحية: Azadirachtin، *D. melanogaster* تفضيل اليرقات، تفضيل الغذاء.

INTRODUCTION

1. Introduction

La population mondiale s'accroît rapidement suscitant la crainte de la surpopulation et l'insuffisance des réserves alimentaires (Pison, 2011). En effet, les taux de croissance de la production agricole et du rendement des cultures, au niveau mondial, sont en continuelle baisse (Sharifzadeh, 2018).

En effet l'industrialisation des cultures, qui a permis à de nombreux pays d'accéder à une autosuffisance alimentaire et qui a contribué au cours des dernières décennies à faire reculer les famines et la malnutrition dans le monde, s'est essentiellement basée sur une amélioration de la lutte contre les insectes ravageurs via l'utilisation des produits phytosanitaires (Deravel *et al.*, 2014), notamment les pesticides chimiques qui représentent un enjeu économique mais aussi sanitaire majeur, vu leur importance dans l'optimisation des productions agricoles et la lutte contre les maladies vectorielles (Casida *et al.*, 2013).

Parmi ces pesticides, nous pouvons citer en particulier les insecticides ont également permis de lutter contre les insectes vecteurs de maladies humaines et vétérinaires (moustiques, blattes, punaises...). L'utilisation des insecticides reste d'une importance capitale dans la lutte anti vectorielle sachant que, par exemple, le paludisme a été responsable de la mort de 655 000 personnes dans le monde en 2010 (OMS, rapport 2011).

Néanmoins, ces produits sont très toxiques et leur non spécificité ainsi que leur forte rémanence peuvent provoquer d'énormes perturbations dans l'écosystème (Ishaaya & Horowitz, 1998). Aujourd'hui, en plus des effets pervers des pesticides sur l'environnement, sa biodiversité et la santé humaine, l'utilisation intensive et répétée de ces molécules a conduit à la multiplication des cas de résistance limitant ainsi leur efficacité (Nauen *et al.*, 2012 ; Harrop *et al.*, 2014 ; Sparck et Nauen, 2015).

Ainsi, et suite à la chute de popularité des insecticides chimiques classiques après l'intérêt grandissant pour la protection de l'environnement, il est devenu important de proposer de nouvelles options respectueuses des écosystèmes et toutes aussi efficaces.

Le développement de la biotechnologie a permis de mettre au point des composés alternatifs tels que les biopesticides qui sont des pesticides d'origine naturelle. Ces molécules sont souvent efficaces en faibles quantités et leurs activités peuvent relever de mécanismes multiples et déclenchent donc rarement des phénomènes de résistance. Les biopesticides sont moins rémanentes que leurs homologues chimiques et possèdent une toxicité plus faible vis-à-

vis des espèces non ciblées, ce qui supporte une utilisation compatible dans les programmes de lutte intégrée (Deravel *et al.*, 2014).

La popularité des biopesticides comme alternatives à faible impact environnementale et le retour vers des molécules d'origine végétale a permis aux scientifiques de découvrir une plante remarquable qui a retenu l'attention et a fait l'objet d'innombrables recherches et publications; on retrouve l'azadirachtine, dérivée de l'arbre de Neem ou *Azadirachta indica* qui agit comme un régulateur de croissance avec une action antagoniste de l'hormone juvénile et des écdystéroïdes, les deux principales hormones contrôlant la reproduction et le développement chez les insectes (Mordue *et al.*, 2005; Tomé *et al.*, 2013). De plus, l'effet anti-appétant de l'azadirachtine a été largement rapporté (Mordue *et al.*, 2005).

1.2. Intérêt de l'étude

Les nouvelles connaissances en écotoxicologie modifient la manière dont les pesticides et autres substances toxiques sont évalués. Les effets des pesticides et autres substances toxiques sur les organismes ont été traditionnellement évalués en utilisant des mesures de la mortalité aiguë, en tant que paramètre unique, s'appuyant sur la détermination de la dose/concentration létale, ou encore par l'évaluation de la mortalité induite par les doses recommandées sur le terrain (Croft, 1990 ; Desneux *et al.*, 2007).

Cependant, en plus de l'effet direct sur la létalité, ces composés peuvent également altérer diverses caractéristiques biologiques essentielles des individus qui survivent à l'exposition, par des effets physiologiques et comportementaux (Desneux, 2007 ; Müller, 2018). Cette toxicité indirecte est associée à des effets sublétaux sur la physiologie de l'insecte (ex : développement, reproduction, longévité...) ou encore sur son comportement (ex : mobilité, recherche de nourriture, communication sexuelle, capacité d'apprentissage, mémorisation.) (Xavier *et al.*, 2015 ; Kilani-Morakchi *et al.*, 2017 ; Oulhaci *et al.*, 2018).

L'analyse toxicologique qui permet d'estimer l'effet total des insecticides sur les populations, est de plus en plus importante lors du choix de nouveaux pesticides à utiliser pour la lutte intégrée (Banks *et al.*, 2005). La plupart des études concernant les effets sublétaux des insecticides sont liées à une exposition continue ou répétée. Cette exposition provoque un stress généralisé et active une réponse de détoxification telle que la surexpression des gènes du cytochrome P450, qui conduit à long terme à la résistance à l'insecticide (Akhtar *et al.*, 2003). Des études récentes ont révélé que les insectes peuvent moduler leur comportement sur la base d'expériences antérieures en début de vie et que divers changements induits par les insecticides chez la génération directement exposée peuvent persister chez les générations suivantes, non exposées (Da Costa *et al.*, 2014 ; Müller *et al.*, 2017). Chez *D. melanogaster*, l'exposition des larves à des doses sublétales d'azadirachtine affecte divers aspects de leur physiologie. Cette exposition préimaginale augmente l'aversion à ce composé chez les adultes survivant à l'exposition larvaire (Kilani-Morakchi *et al.*, 2017 ; Bezzar-Bendjazia *et al.*, 2016) traduisant un effet à long terme de sensibilisation (Minoli *et al.*, 2012 ; Crook *et al.*, 2014), induisant un évitement des composés nocifs (Walters *et al.*, 2001).

Dans ce contexte, une évaluation précise des effets physiologiques et comportementaux, induits par les insecticides, est essentielle pour acquérir des connaissances sur leur efficacité globale pour la gestion à long terme des populations d'insectes nuisibles, ainsi que sur leur sélectivité vis-à-vis des espèces non visées (Kilani-Morakchi *et al.*, 2017). Aujourd'hui, les

processus impliqués dans les prises de décisions chez les insectes restent très mal connus (Yang *et al.*, 2008) et *D. melanogaster* est utilisé comme modèle pour comprendre ce type de comportement (Dukas, 2008).

1.3. Objectifs de l'étude

Dans ce sens, ce travail a pour objet, d'évaluer les effets sublétaux et létaux (DL₂₅, DL₅₀) de l'azadirachtine sur un modèle de référence *Drosophila melanogaster* en étudiant l'impact de l'expérience pré-imaginale sur :

- La préférence larvaire.
- La préférence alimentaire.

*Chapitre 01 : Recherches
bibliographiques*

I. Recherches bibliographiques

1. Généralité sur les pesticides

1.1. Utilisations intensives de pesticides à large spectre

Le terme pesticide dérive de « Pest », mot anglais désignant tout organisme vivant (virus, bactéries, champignons, herbes, vers, mollusques, insectes, rongeurs, mammifères, oiseaux) susceptible d'être nuisible à l'homme et/ou à son environnement (Periquet, 1986). Selon la FAO un pesticide est une substance ou association de substances destinées à repousser, détruire ou combattre les maladies et les ravageurs, y compris les vecteurs de maladies humaines et animales, et les espèces indésirables de champignons, de plantes ou d'animaux (FAO, 2002). Les pesticides à usage agricole peuvent être désignés de différentes façons : produits phytopharmaceutiques, produits agro-pharmaceutiques ou encore produits phytosanitaires.

La deuxième moitié du XX^{ème} siècle a été marquée par une intensification et une modernisation de l'agriculture qui ont abouti à une utilisation massive des pesticides afin d'obtenir un résultat rapide, avec un maximum d'efficacité.

En effet, une transformation majeure dans la lutte contre les insectes nuisibles a commencé dans les années 1930 – 1950, suite au développement de la chimie de synthèse, avec l'introduction d'insecticides organiques synthétiques tels que le dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), les organophosphates (OP), les cyclodiènes et les N-méthylcarbamates. La fin des années 1940 à 1960 ont été qualifiées d'âge d'or de la découverte des insecticides, car une lutte contre les insectes nuisibles très efficace, fiable et abordable est devenue courante (Casida et Quistad, 1998).

Bien que les pesticides de synthèse aient joué un rôle majeur dans la sécurisation des ressources alimentaire, leur usage répété et intensif a mis en évidence leur limite d'application, avec l'apparition de phénomènes de résistance (Georghiou, 1972 ; Boyer *et al.*, 2012) et une forte contamination des écosystèmes due à leur persistance dans l'environnement (Bilal *et al.*, 2019).

Dès 1962, la biologiste américaine Rachel Carson alerte l'opinion publique sur les effets nocifs des pesticides, en particulier ceux du DDT, sur l'environnement et les espèces non cibles telles que les oiseaux, les abeilles et les invertébrés aquatiques (Carson, 1962 ; Rose, 2001). Le DDT, un pesticide organochloré, largement utilisé pour ses puissantes

propriétés insecticides et acaricides, induit également des effets toxiques pour la santé et l'environnement, accentués par sa forte rémanence. En effet, les produits organochlorés, très lentement dégradés, sont caractérisés par une rémanence ou une persistance forte dans l'environnement. La parution de l'ouvrage de Rachel Carson marque le point de départ du mouvement écologiste et provoquera, en 1973, l'interdiction du DDT aux Etats-Unis, puis un peu partout dans le monde pour son usage dans les cultures (Mehdi *et al.*, 2018).

L'industrie chimique et l'essor de l'agriculture intensive ont permis le développement d'une deuxième génération d'insecticides, représentée par trois grandes familles : organophosphorés, carbamates et pyréthrinoïdes de synthèse. Ces insecticides à action neurotoxique agissent tous au niveau du système nerveux des insectes, soit en bloquant l'acétylcholinestérase (organophosphorés et carbamates) soit en perturbant le fonctionnement des canaux sodium (pyréthrinoïdes) (Haubruge et Amichot, 1998). D'autres molécules ont permis d'enrichir la famille des pesticides telles que les phénylpyrazoles comme le fipronil (Bonmatin *et al.*, 2014) ou encore les néonicotinoïdes comme l'imidaclopride ou le thiaméthoxame, qui sont également des molécules à actions neurotoxique (Christen *et al.*, 2018).

En dépit de leurs effets secondaires sur la santé publique et l'environnement et la multiplication des espèces résistantes (Nasirian, 2010 ; Nauen *et al.*, 2012 ; Harrop *et al.*, 2014), les pesticides considérés comme les plus à risques pour la santé et l'environnement, dits « extrêmement à risque » et classés dans la catégorie HHP (Highly Hazardous Pesticides), par l'organisation mondiale de la santé, dominent encore les ventes au niveau mondial. Les néonicotinoïdes continuent à être largement utilisés et leur impact potentiel sur les organismes non ciblés continue à faire l'objet de recherches très actives (Bass et Field, 2018).

Toutefois, les impératifs environnementaux et les effets nocifs sur les espèces non visées ont conduit à la mise en place de plan d'action visant une réduction de la consommation des pesticides chimiques et leur utilisation de manière compatible avec le développement durable. Dans ce sens, des efforts considérables ont été déployés pour mettre au point des substances alternatives moins persistantes et plus spécifiques comme les perturbateurs de croissance des insectes (IGDs: InsectGrowthDisruptors) qui interfèrent avec des processus physiologiques et biochimiques spécifiques aux organismes cibles, soit en mimant l'action des principales hormones contrôlant le développement et la reproduction des insectes, l'hormone juvénile (JH) et l'ecdysone, soit en inhibant la synthèse du composé majeur de la cuticule, la chitine (Dhadialla *et al.*, 2010; Pener et Dhadialla, 2012). De plus, un

regain d'intérêt pour les substances naturelles susceptibles d'avoir une activité phytosanitaire (biopesticides) a été observé ces dernières années (Chaudhary *et al.*, 2017).

1.2. Les biopesticides

Les pesticides bio-rationnels ou biopesticides, sont des organismes vivants ou produits issus de ces organismes ayant la particularité de limiter ou de supprimer les ennemis des cultures (Deravel *et al.*, 2014). Ils peuvent être classés en trois grandes catégories, selon leur nature : les biopesticides microbiens, les biopesticides végétaux et les biopesticides animaux (Chandler *et al.*, 2011 ; Leng *et al.*, 2011).

Aujourd'hui, les molécules naturelles prennent progressivement des parts plus importantes sur le marché des pesticides. Avec un taux de croissance annuel estimé à 14,7%, ce segment de l'industrie continue à croître pour passer d'une valeur de 4,3 billions de dollars en 2020 et atteindre les 8,5 billion de dollars en 2025 (markets and markets, 2020). On estime que le marché mondial des biopesticides dépassera les 7% des ventes d'ici 2023 (Olson, 2015).

Les biopesticides sont généralement moins toxiques que les pesticides conventionnels, efficaces en faible quantités et possèdent une spécificité accrue vis-à-vis des espèces contre lesquelles ils sont dirigés (Deravel *et al.*, 2014). Ils sont composés généralement d'un mélange de principes actifs avec un large spectre d'activité et des cibles d'action multiples réduisant le développement de résistance. De plus, ils sont biodégradables et donc non persistants dans l'environnement (Deravel *et al.*, 2014).

Les plantes représentent la source la plus importante de biopesticides, en produisant de nombreux métabolites secondaires biologiquement actifs potentiellement applicables dans les programmes de lutte intégrée. Parmi les pesticides d'origines végétales qui ont eu beaucoup de succès sont ceux qui proviennent de l'arbre du Neem, *Azadirachtaindica* A. Juss. (Meliaceae) (Isman et Grieneisen, 2014). En effet, la possibilité d'obtenir des composés actifs variés à partir des feuilles et des graines, évitant ainsi la destruction de la plante entière, représente un avantage majeur (Barrek et Paise, 2004 ; Maity *et al.*, 2009).

1.3. L'arbre de Neem

Azadirachtaindica A. Juss (Synonymes : *Antelaeazadirachta* L. ou *Melia azadirachta* L.), plus communément de son nom vernaculaire margousier ou, en anglais, Neem (Aribi *et al.*, 2020) est un arbre à croissance rapide et à feuilles persistantes. Originaire

de l'Inde et du sud-est de l'Asie, sa présence est aujourd'hui répandue dans le monde entier, en particulier dans les pays tropicaux et subtropicaux (Schmutterer, 2002 ; Morgan, 2009 ; Paes *et al.*, 2011 ; Koriem, 2013 ; Chattopadhyay *et al.*, 2014).

Cet arbre est caractérisé par un tronc solide dur, brun foncé avec une croûte brune fissurée de 75 à 150 cm, les feuilles, qui mesurent jusqu'à 25 cm de long, sont constituées de cinq à huit paires de folioles. L'inflorescence en forme de panicules axillaires est constituée de nombreuses fleurs (Fig. 01). La fleur est aromatique et blanche, et le fruit peut atteindre un centimètre de long. Il est vert et devient jaune lorsqu'il mûrit, et a un goût amer de graine (Ketkar, 1976, Radwanski et Wickens, 1981).

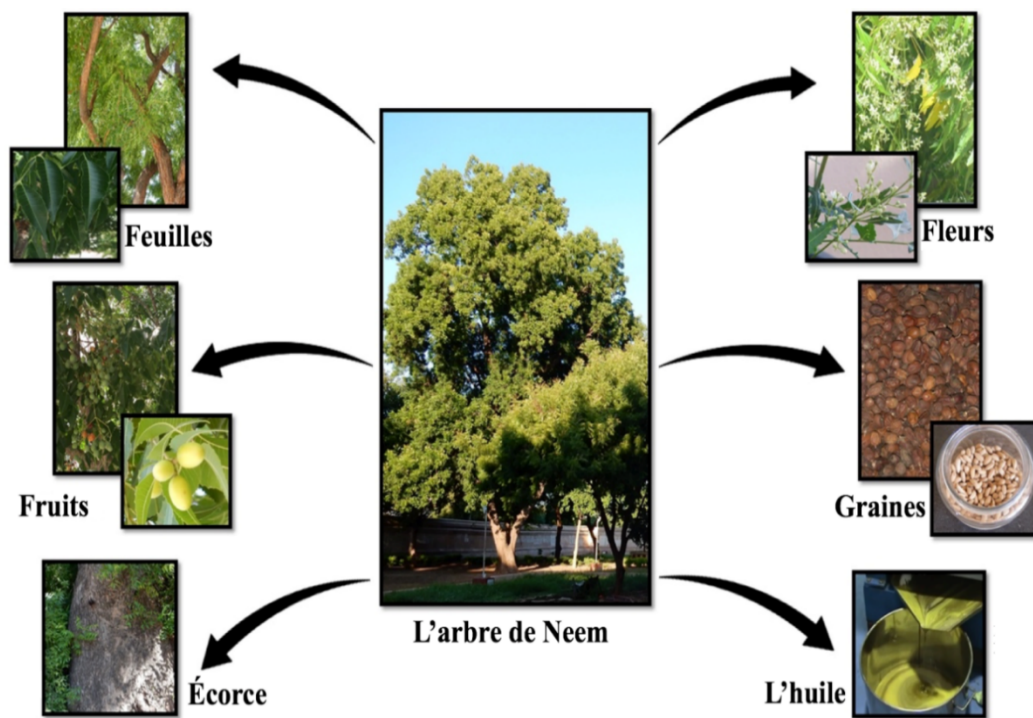


Figure 02 : L'arbre de Neem et ses composants (Fernandes et al., 2019).

1.3.1. Propriétés du Neem (*Azadirachta indica*)

En Asie, l'arbre de Neem est l'une des principales sources de médicaments naturels, utilisé dans la médecine ayurvédique comme l'un des plus anciens remèdes pour traiter diverses maladies humaines telles que la malaria, le diabète et les infections de la peau (Biswas *et al.*, 2002 ; Pasquoto-Stigliani *et al.*, 2017). Les extraits de Neem auraient

également des effets inhibiteurs sur plusieurs lignées cellulaires cancéreuses (Patel *et al.*, 2016). De plus, les extraits aqueux de la poudre de graines de Neem ont été utilisés comme insecticide en Inde depuis des millénaires pour contrôler les insectes nuisibles (Campos *et al.*, 2016).

Les connaissances empiriques sur les propriétés du Neem ont reçu une validation scientifique dès 1942 grâce aux travaux du chimiste pakistanais Salimuzzaman Siddiqui (1897– 1994) qui ont permis d'isoler trois composés amers dans l'huile extraite des graines, respectivement nimbin, nimbinin et nimbidin (Ghedira et Goetz, 2014).

Plus de 300 composés phytochimiques différents structurellement complexes est appartenant à différentes familles chimiques (Tableau 01) ont été isolés (Biswas *et al.*, 2002 ; Gupta *et al.*, 2017) dont plus de 130 sont des limonoïdes dotés de propriétés médicinales et insecticides (Chen *et al.*, 2018).

Familles de constituants chimiques principaux	Constituants chimiques principaux
Limonoïdes (C-seco-tétranortiterpènes)	Azadirachtine (azadirachtine A), 3-tigloylazadirachtol (azadirachtine B), 1-tigloyl-3-acétyl-11-hydroxy-méliacarpine (azadirachtine D), 11-déméthoxycarbonyl azadirachtine (azadirachtine H), 1-tigloyl-3-acétyl-11-hydroxy-11-déméthoxycarbonyl méliacarpine (azadirachtine I), azadiriadione, azadirachtanine, époxyazadiradione
Protolimonoïdes du groupe gédunine	Nimbine, déacetylnimbine, salannine, azadirachtolide, isoazadirolide, margosinolide, nimbandiol, nimbinène, nimboline A, nimboconone, nimboconolide, nimbolide, nimocine, nimocinol
Flavonoïdes	Hyperoside, nimbaflavone, quercitrine, quercétine, rutine
Autres constituants	Tanins β-sitostérol, vilasanine Ca, Mg, P

Tableau 02: Principaux constituants chimiques d'*Azadirachta indica* (Gherida et Goetz, 2014)

1.3.2. L'azadirachtine

L'azadirachtine, est un tetranortriterpénoïde naturel hautement oxydé, apparenté à la limonine, et appartenant à la famille des limonoïdes ; il est considéré comme le plus puissant

extrait des graines de Neem (Bennuzzi et Ladurner, 2018). L'azadirachtine est un mélange de différents isomères (A, B, D, E, F, H, I, K, L) contenus dans l'huile de Neem (Bennuzzi&Ladurner, 2017). L'azadirachtine A, est la principale substance active responsable de 72 à 90 % de l'activité biologique du Neem, (Schmutterer, 1990 ; Mordue *et al.*, 2010 ; Wang *et al.*, 2016 ; Gehlot *et al.*, 2017).

L'azadirachtine A possède une structure complexe, et suite à la détermination de sa structure correcte en 1985 (Kraus *et al.*, 1985), la première synthèse totale de cette molécule a été publiée deux décennies après la découverte du composé (Ley *et al.*, 2007). En plus de son extraction à partir d'*Azadirachta indica*, l'azadirachtine peut également être isolée à partir de deux autres espèces d'*Azadirachta* : *A. excelsa* et *A. siamensis* (Morgan, 2009; Brandyopadhyay *et al.*, 2011).

L'analyse cristallographique aux rayons X a permis de connaître la structure chimique de l'azadirachtine (Fig.02). L'azadirachtine est un composé hautement oxydé qui présente une structure extrêmement complexe avec une formation rigide due à la présence de liaisons hydrogène intramoléculaires et d'un grand nombre de groupes fonctionnels réactifs en positions extrêmement proches (Mordue et Nisbet, 2000 ; Prakash et Bhojwani, 2002 ; Veitch *et al.*, 2007). L'azadirachtine dérive de la voie de biosynthèse de l'acide mévalonique dans l'arbre de Neem (Aarthy *et al.*, 2018).

L'intérêt croissant pour l'azadirachtine est principalement dû aux propriétés uniques et particulières de ce composé, notamment son large spectre d'activité, même lorsqu'il est présent à l'état de traces. L'azadirachtine possède de nombreuses activités biologiques exploitables aussi bien en tant que bio-pesticide qu'en tant qu'agent thérapeutique (Prakash *et al.*, 2002 ; Morgan, 2009 ; Paul *et al.*, 2011 ; Hashmat *et al.*, 2012).

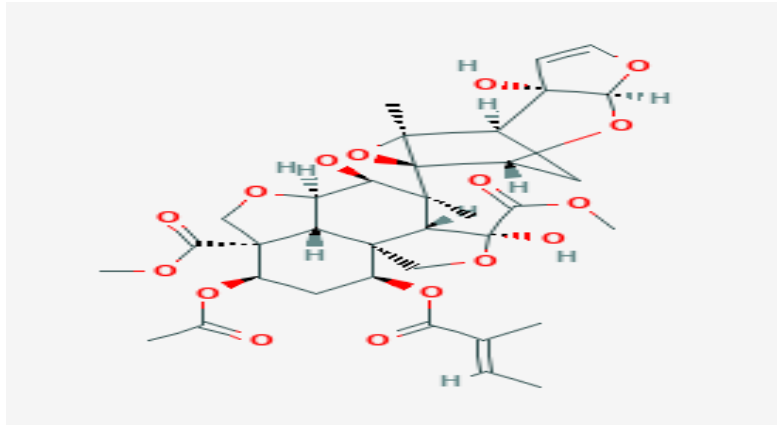


Figure 02 : Structure de l'azadirachtine A (PubChem, 2019).

1.4. Toxicité et risque écotoxicologique de l'azadirachtine

L'azadirachtine est un composé biodégradable qui potentialise son application comme pesticide et présente une très faible toxicité pour les mammifères (Johnson et Morgan, 1997 ; Morgan 2009 ; Prakash *et al.*, 2002 ; Mordue *et al.*, 2010) ainsi que pour les organismes non cibles (Boeke *et al.*, 2004), avec une DL₅₀ de 5000 mg/kg chez le rat, ce qui le classe dans la catégorie des produits "peu susceptibles de provoquer un danger aigu" selon la classification établie par l'OMS (OMS, 2009). La toxicité chronique de l'azadirachtine pour la consommation humaine est de 15 mg/kg (Raizada *et al.*, 2001 ; Boeke *et al.*, 2004).

L'utilisation de fortes doses d'azadirachtine pendant la gestation induit de légères variations du squelette fœtal chez les rats (Braga *et al.*, 2021). Néanmoins, à faibles doses, l'azadirachtine, n'induit aucune modification morphologique, viscérale ou squelettique chez les fœtus du rat (Srivastava, 2000). L'azadirachtine est toxique pour les organismes aquatiques, en particulier lorsque des doses élevées sont administrées (Winkaler *et al.*, 2007 ; Stalin et Kiruba, 2008).

Chez les prédateurs et les parasitoïdes, l'azadirachtine présente des effets toxiques faibles à modérés notamment chez les stades juvéniles (larves, nymphes) et semble être relativement sûr et sélectif pour les adultes (Raguraman et Kannan, 2014).

Néanmoins, des effets toxiques ont été rapportés chez les pollinisateurs des cultures après exposition chronique, notamment sur le comportement du bourdon *Bombus terrestris* sous condition de laboratoire (Barbosa *et al.*, 2015). Une réduction de la survie, de la croissance ainsi que du temps de développement a été rapportée chez

Partamonahelleri toujours dans les mêmes conditions (Bernardes *et al.*, 2018). Cependant, l'instabilité de l'azadirachtine et sa faible persistance rendent ces conditions chroniques improbables dans des situations de terrain.

L'azadirachtine est une molécule faiblement persistante dans les sols en condition aérobie avec une demi-vie de 1,9 à 9,9 jours (EFSA, 2011). Elle est faiblement persistante dans l'eau en condition aérobie avec une demi-vie de 10,6 jours (BPDB, 2013). Selon l'ARLA, l'hydrolyse est l'une des principales voies de transformation à pH neutre et basique (demi-vie de 19 jours, 13 jours et 2 heures à pH 4, 7 et 10 respectivement). La photolyse au sol est également une voie de transformation importante de l'azadirachtine (demi-vie de 3 à 4 jours) (ARLA, 2012).

1.5. Potentiel insecticide de l'azadirachtine

L'azadirachtine possède une activité insecticide contre les insectes de différents ordres (Mordue *et al.*, 2005 ; Tomé *et al.*, 2013 ; Abedi *et al.*, 2014 ; Poland *et al.*, 2016) avec un mode d'action multiple interférant avec différents processus physiologiques et biochimiques de l'insecte.

1.5.1. Effets régulateurs de croissance

La croissance et le développement des insectes sont régulés par diverses hormones dont les deux principales sont : la 20-hydroxyecdysone (20E), forme active de l'ecdysone, et l'hormone juvénile (JH). L'équilibre de ces deux hormones définit le résultat de chaque transition de développement (Dubrovsky, 2005) et toute interférence avec l'équilibre hormonal entraîne une interruption du développement et est considérée comme une cible spécifique potentielle pour la lutte contre les insectes nuisibles (Penner et Dhadialla, 2012). Chez le stade adulte, ces hormones sont également impliquées dans la régulation de la maturation reproductive (Goodman et Granger, 2005).

L'azadirachtine agit comme antagoniste de ces deux hormones; son action principale est sa capacité à modifier ou supprimer les taux d'ecdystéroïdes hémolymphatiques et d'hormones juvéniles en inhibant la libération de neurohormones prothoracicotrope (PTTH) et allatotropine à partir des *corporacardiaca*, induisant ainsi son effet perturbateur de croissance des insectes principalement représenté par une réduction de la nymphose, des malformations et un échec de l'émergence des adultes (Mordue et Blackwel 1993; Bezzar-Bendjazia *et al.*, 2017).

1.5.2. Effets sur le système nerveux

L'azadirachtine interfère avec le système nerveux central (SNC) par inhibition de la transmission cholinergique excitatrice *via* les canaux calciques (Qiao *et al.*, 2014) mais aussi sur la voie de signalisation de l'insuline (Shao *et al.*, 2016). Cependant, les mécanismes d'action de l'azadirachtine restent encore inconnus.

Les amines biogènes comme la sérotonine (5-HT), l'octopamine (OA) et la dopamine (DA) sont d'importants neuromodulateurs du SNC de *D. melanogaster* (Monastirioti, 1999) qui peuvent influencer l'apprentissage, la mémorisation, l'activité locomotrices ainsi que le comportement sexuelle (Majeed *et al.*, 2016). L'azadirachtine réduit significativement les taux hémolymphatique et cérébrale de OA, 5-HT et DA (Awad *et al.*, 1997; Banerjee et Rembold, 1992) impactant ainsi différents processus cognitifs et comportementaux.

1.5.3. Effets sur la reproduction

Les effets de l'azadirachtine sur les différents paramètres reproducteurs ont été rapportés chez plusieurs espèces d'insectes (Pineda *et al.*, 2009 ; Tine *et al.*, 2011 ; Tomé *et al.*, 2013 ; Boulahbel *et al.*, 2015 ; Er *et al.*, 2017 ; Oulhaci *et al.*, 2018). Une réduction de la fécondité et de la fertilité a été enregistrée chez de nombreux insectes et pourrait être due à l'interférence de l'azadirachtine avec la synthèse des protéines du vitellus et/ou son incorporation dans les ovocytes (Boulahbel *et al.*, 2015).

L'azadirachtine inhibe également l'ovogenèse et la spermatogénèse et induit une stérilité des insectes (Chaudhary *et al.*, 2017). En effet, pour un déroulement normal de l'ovogenèse et de la spermatogénèse, un équilibre adéquat entre l'JH et 20E est nécessaire ; l'action antagoniste de l'azadirachtine sur ces deux principales hormones explique les effets délétères sur les paramètres de la reproduction. L'azadirachtine interfère également avec le comportement d'oviposition des insectes et le choix du site de ponte (Bezzar-Bendjazia *et al.*, 2016).

1.5.4. Effets moléculaires

L'azadirachtine impact la transcription et/ou l'expression génique de plusieurs protéines. Aussi, l'azadirachtine est connue pour réprimer l'expression des gènes des protéines cuticulaires et de l'amylase chez *D. melanogaster* (Lai *et al.*, 2014). L'azadirachtine est responsable d'une altération structurale de l'intestin moyen chez les larves de

Spodopteralitura due à une apoptose caspases-dépendante (Shu *et al.*, 2018). Chez *D. melanogaster*, une dépolarisation de l'actine conduisant à un arrêt du cycle cellulaire et une apoptose caspase-indépendante a également été rapportée après traitement à l'azadirachtine (Anuradha *et al.*, 2007 ; Anuradha et Annadurai 2008).

Le traitement à l'azadirachtine augmente l'activité de la SOD et la teneur en MDA chez *D. melanogaster* et induit l'expression génique des enzymes antioxydantes telles que la SOD, la CAT et la GST (Zhang *et al.*, 2018). L'azadirachtine inhibe également l'expression des gènes de la ferritine et de la thiorédoxine peroxydase ayant des rôles protecteurs contre le stress oxydatif (Asaduzzaman *et al.*, 2016).

1.5.5. Effets anti-appétant

Parmi les différentes propriétés attribuées à l'azadirachtine, l'activité anti-appétante est la plus documentée (Schmutterer et Singh, 1995 ; Senthil-Nathan *et al.*, 2007). L'azadirachtine stimule les cellules chimioréceptrices, responsables du comportement d'aversion, au niveau des pièces buccales de l'insecte et bloque les sites des récepteurs glucidiques responsables de la stimulation de l'alimentation conduisant ainsi à une inhibition de l'alimentation (Blaney *et al.*, 1990 ; Simmonds *et al.*, 1990 ; Mordue (Luntz) *et al.*, 1999). Cette activité représente, l'effet anti-appétant primaire de l'azadirachtine.

Un effet anti-appétant secondaire lié à l'action de l'azadirachtine sur la physiologie de la digestion, notamment en affectant l'activité des enzymes impliquées dans le processus de digestion a également été rapporté et inclut un effet à plus long terme sur la réduction de la consommation de la nourriture (Rharrabe *et al.*, 2008 ; Khosravi et Sendi, 2013 ; Kilani-Morakchi *et al.*, 2017).

1.6. Le système chimiosensoriel et locomoteur comme cible potentielle des pesticides

Les insectes évoluent dans un environnement où ils sont en contact permanent avec des molécules volatiles ou solubles pouvant se révéler nocives. Ils ont développé des systèmes de communication sophistiqués, sensibles, efficaces et adaptés à leur environnement, indispensables à leur survie et leur reproduction. Les systèmes chimiosensoriels gustatifs et olfactifs détectent et transmettent au niveau central les informations chimiques de l'environnement (Hallem *et al.*, 2006 ; Wicher et Marion-poll, 2018) afin que l'insecte

distingue les sources alimentaires des substances toxiques, reconnaisse ses proies de ses congénères et de ses partenaires sexuels (Ebbs et Amrein, 2007).

La plupart des insectes utilisent l'olfaction pour localiser leur nourriture, leur hôte et trouver leur partenaire sexuel. Le système gustatif permet aux insectes d'identifier les sources de nourriture appropriées et d'éviter les substances toxiques et amères en contrôlant le comportement de choix alimentaire conduisant à l'acceptation ou le rejet de l'aliment (Scott, 2018).

En plus des signaux olfactifs et gustatifs, la locomotion fait partie intégrante du comportement des insectes, vu son importance pour la recherche de nourriture, l'accouplement et la réaction de fuite (Zhu *et al.*, 2020). Chez *D. melanogaster*, l'activité locomotrice, est un trait de forme physique qui intervient dans une série de comportements associés à des fonctions de base telles que la réponse au stress, la capacité de recherche de nourriture, l'accouplement, la ponte et la reproduction (Baumler et Potter, 2007 ; Khosravi *et al.*, 2010 ; Khosravi et Sendi, 2013).

Chez la drosophile, l'activité locomotrice est classée en deux types (Connolly, 1967), l'activité locomotrice spontanée, qui est indicative d'un état de locomotion à long terme et correspond à l'activité observable présentée par l'insecte sans activation spécifique par des stimuli externes (Zhu *et al.*, 2020) et la réactivité locomotrice qui correspond à une réponse d'activité à court terme qui suit immédiatement un stimulus externe et est déclenchée pour faire face aux changements environnementaux (Zhu *et al.*, 2020; Sun *et al.*, 2018).

Si la locomotion et les signaux chimiosensoriels des insectes sont essentiels à leur forme physique et à leur survie, en leur permettant de trouver leur partenaire sexuel et de localiser les plantes hôtes et les sources de nourriture, les insecticides, même à faible dose, agissent comme des perturbateurs de l'information provoquant des réactions inadaptées qui peuvent être exploitées comme stratégies comportementales pour lutter contre les espèces nuisibles (Tricoire-Leignel *et al.*, 2012).

Les perturbateurs de croissance des insectes (IGDs), agissent sur le contrôle endocrinien et la physiologie des insectes en perturbant leur développement et leur reproduction (Mordue *et al.*, 2010). De plus, de nombreux insecticides perturbent la neurotransmission et altèrent de ce fait, l'activité locomotrice, les systèmes sensoriels et les capacités cognitives des insectes (Tricoire-Leignel *et al.*, 2012 ; Benzidane *et al.*, 2010).

L'impact des doses sublétales d'insecticides sur les systèmes sensoriel et nerveux représente aujourd'hui un intérêt certain après la mise en évidence, chez les abeilles mellifères, des effets sublétaux sur le comportement guidé par l'olfaction, l'apprentissage et la mémoire (Desneux *et al.*, 2007 ; Goñalons et Farina, 2018; Chmiel *et al.*, 2020).

2. Présentation de l'espèce biologique

2.1. *La drosophile* : organisme modèle

La drosophile plus connue sous le nom de « mouche du vinaigre » est un insecte diptère brachycère holométabole. *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) est l'organisme de prédilection pour la recherche biologique, utilisé comme organisme modèle depuis plus d'un siècle. A l'origine, cet organisme était principalement étudié en génétique pour comprendre les règles de l'hérédité des caractères. Après Thomas Hunt Morgan en 1933 pour ces travaux sur le rôle des chromosomes dans l'hérédité, ce sont trois drosophilistes (E.B. Lewis, C. Nüsslein-Volhard et E. Wieschaus) qui furent récompensés en 1995 du prix Nobel de Médecine pour le contrôle génétique du développement embryonnaire précoce chez la drosophile. Récemment, un autre prix Nobel a été décerné à J.A Hoffman pour ces recherches en immunologie. Aujourd'hui, la drosophile est essentiellement utilisée en biologie du développement (Gilbert *et al.*, 2013), pour comprendre comment un organisme complexe se forme à partir d'un œuf fertilisé mais également en neurogénétique de l'apprentissage (Dukas, 2008). En plus de l'importance de la drosophile dans les différents domaines de la biologie, cette mouche possède de nombreux avantages, notamment un génome totalement séquencé depuis 2000 (Adams *et al.*, 2000) qui permet l'utilisation de nombreux outils moléculaires. De plus le maintien aisé des élevages en laboratoire associé à un cycle de vie court (10 jours à 25°C) et une progéniture abondante disponible à chaque génération, représente un avantage non négligeable.

2.2. Taxonomie

Les drosophiles sont des animaux faisant partie du phylum des arthropodes et plus précisément de la classe des insectes. Elles appartiennent à l'ordre des diptères (ou mouches vraies) caractérisés par la présence d'haltères sur le troisième segment thoracique indispensables à la stabilisation du vol. Cet ordre renferme les mouches, moucheron et moustiques. La famille des Drosophilidae, compte près de 3000 espèces (O'Grady et Markow,

2009) qui ont colonisé tous les types d'environnement (Fig. 03). La majorité des ses espèces appartiennent aux deux sous-genres : *Drosophila* (1450 espèces) et *Sophophora* (450 espèces) (Fig. 04). Suite à des études récentes, il semblerait que *D. melanogaster* soit plus proche phylogénétiquement du genre *Sophophora* que du genre *Drosophila* (O'Grady et Markow, 2009). L'intégration de *melanogaster* dans le genre *Sophophora* a été proposée à la commission internationale de nomenclature zoologique, ce qui a suscité un long débat et un mécontentement de beaucoup de drosophilistes qui considèrent *D. melanogaster* comme un label étant l'espèce la plus célèbre après *Homo Sapiens* (Dalton, 2010).

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Sous- embranchement	<i>Hexapoda</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Sous-classe	<i>Pterygota</i>
Infraclasse	<i>Neoptera</i>
Ordre	<i>Diptera</i>
Sous- ordre	<i>Brachycera</i>
Infra- ordre	<i>Muscomorpha</i>
Famille	<i>Drosophilidae</i>
Sous- famille	<i>Drosophilinae</i>
Genre	<i>Drosophila</i>
Espèce	<i>Drosophila melanogaster</i>
	Meigen, 1830

Figure 03 : Taxonomie de *Drosophila melanogaster*.

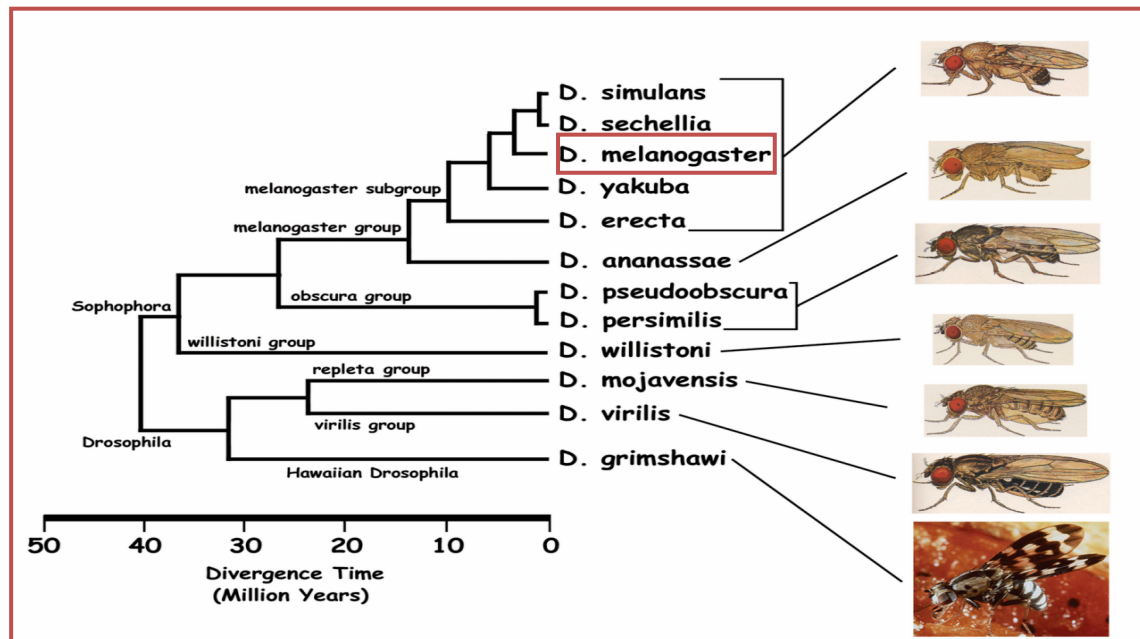


Figure 04 : Phylogénie de *Drosophila melanogaster* (O’Grady et Markow, 2009).

Schéma : (<http://hereditariedadgenetica.blogspot.com/2008/03/taxonomia.html>).

2.3. Principales caractéristiques de *Drosophila melanogaster*

Comme tous les insectes, le corps de la drosophile se compose de trois parties distinctes : la tête (région céphalique), la région thoracique et la région abdominale. Les trois paires de pattes sont localisées sur la partie ventrale des différents segments thoraciques (Fig. 05 A). La drosophile n’a qu’une seule paire d’ailes fonctionnelles, (les ailes antérieures) localisée sur la partie dorsale du second segment thoracique (notum) ; les ailes postérieures sont atrophiées sous la forme d’un balancier minuscule. Ces mouches sont de couleur brun jaunâtre, avec des anneaux transversaux noirs au travers de l’abdomen. Elles ont des yeux rouge vif et des antennes courtes à extrémité plumeuse (Fig. 05 A).

Les drosophiles présentent un dimorphisme sexuel (Parvathi *et al.*, 2009) : les femelles mesurent environ 3 à 4 millimètres de long ; les mâles sont un peu plus petits. Les mâles possèdent un peigne sexuel représenté par une petite touffe de soies noires située au niveau du premier article du tarse de la patte antérieure (Fig. 05 B). L’abdomen de la femelle est de forme pointue, avec des segments terminaux de couleur claire. L’abdomen du mâle est plus arrondi, avec des segments terminaux très foncé (Fig. 05 C). Chez le mâle le pénis très coloré est situé à l’extrémité de l’abdomen alors que la plaque vaginale située au même endroit chez la femelle n’est pas colorée (Fig. 05 D).

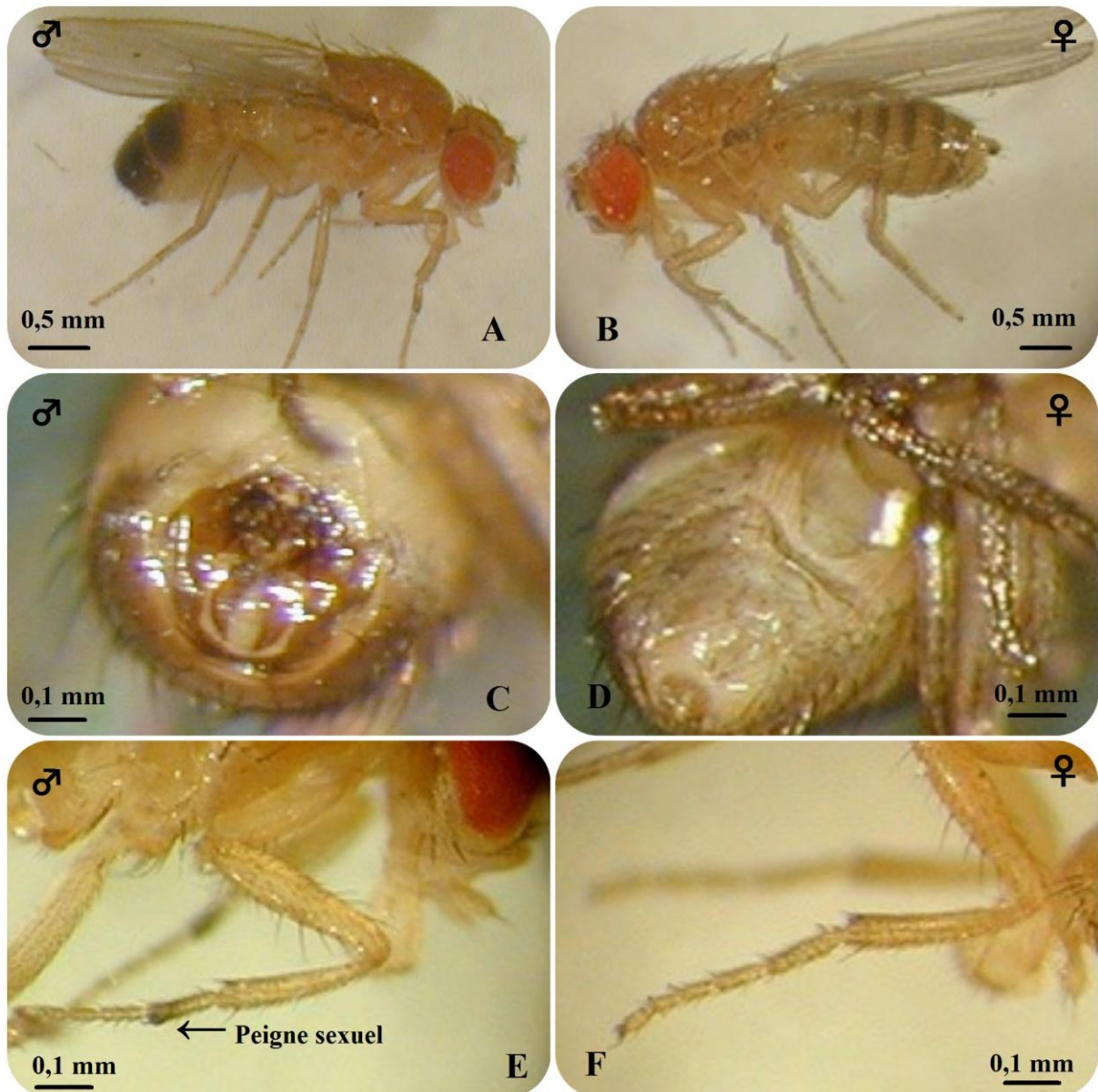


Figure 05 : Principales caractéristiques de différenciation entre les deux sexes de *Drosophila melanogaster* (A : Femelle, B : Mâle, C : Plaque vaginale, D : Pénis, E : Patte antérieure de drosophile mâle avec les peignes sexuels, F : Patte antérieure de drosophile femelle sans les peignes sexuels).

(<https://planet-vie.ens.fr/article/1456/elevage-mouche-vinaigre-drosophila-melanogaster>)

2.4. Cycle biologique

En tant qu'insecte holométabole *Drosophila melanogaster* subit plusieurs changements radicaux dans le plan du corps tout au long de sa vie. Après l'éclosion de l'œuf, son développement larvaire comprend trois stades et est caractérisé par une forte activité

alimentaire. Le dernier stade larvaire s'arrête de s'alimenter, s'immobilise pour former une pupa. L'insecte subit alors une métamorphose (transformation complète) transformant progressivement son organisme larvaire en organisme adulte. A l'émergence, l'imago recommence à s'alimenter. Il passe encore par une phase de 8 à 12h d'immaturité où son système nerveux finit de se développer, puis le nouvel adulte devient sexuellement mature et s'engage dans la reproduction (Dubrovsky, 2007). (Fig. 06).

Le cycle de vie de *D. melanogaster* comprend un stade embryonnaire (œufs), 3 stades larvaires, un stade pupal ou nymphal et un stade adulte où l'insecte est capable de voler et de se reproduire (Fig. 06).

Stade embryonnaire : La femelle pond des centaines d'œufs sur des fruits en putréfaction ou d'autres matières humides ou en fermentation (Tavernier et Lizeaux, 2002). Les œufs en forme d'un ballon de rugby sont de couleur blanchâtre et mesurent environ 0,5 mm de long.

Stade larvaire : Environ vingt trois heures après la ponte, les œufs vont éclore pour donner naissance à une larve blanchâtre appelée « asticot ». Celle-ci se nourrit alors de la pulpe du fruit en creusant des galeries. Le stade larvaire dure 4 jours et comprend trois stades L1 (24 h), L2 (24 h) et L3 (48 h). A la fin de ce stade (110 h après la ponte), les larves de 3^{ème} stade cessent de s'alimenter, sortent du milieu nutritif et entament une phase d'errance. A son terme, les larves secrètent une glu et se fixent sur un support (Dubrovsky, 2007).

Stade pupal : L'éversion des spiracles antérieurs 120 h après la ponte, définit le début du stade prépupale qui durera 12 h. La dernière cuticule larvaire se tanne rapidement et devient le puparium, dans lequel la métamorphose va se dérouler. Cette dernière se poursuit pendant les 3 jours et demi que dure la période pupale et à son terme les tissus larvaires ont été histolysés et les structures adultes se sont formées à partir des disques imaginaux (Compbel, 2006 ; Quinn *et al.*, 2012) (Fig. 5).

Stade adulte : A la fin du stade pupale, la jeune drosophile adulte non encore pigmentée sort de la pupa et au bout de 8 heures la pigmentation est terminée et les ailes sont gonflées. Les adultes s'alimentent de fruits murs ou avariés. Les femelles sont matures sexuellement environ 12 heures après être sorties de leur pupa. Elles stockent le sperme des

mâles auxquels elles se sont accouplées pour pouvoir l'utiliser ultérieurement et commencent à pondre un jour plus tard (Tavernier et Lizeaux, 2002).

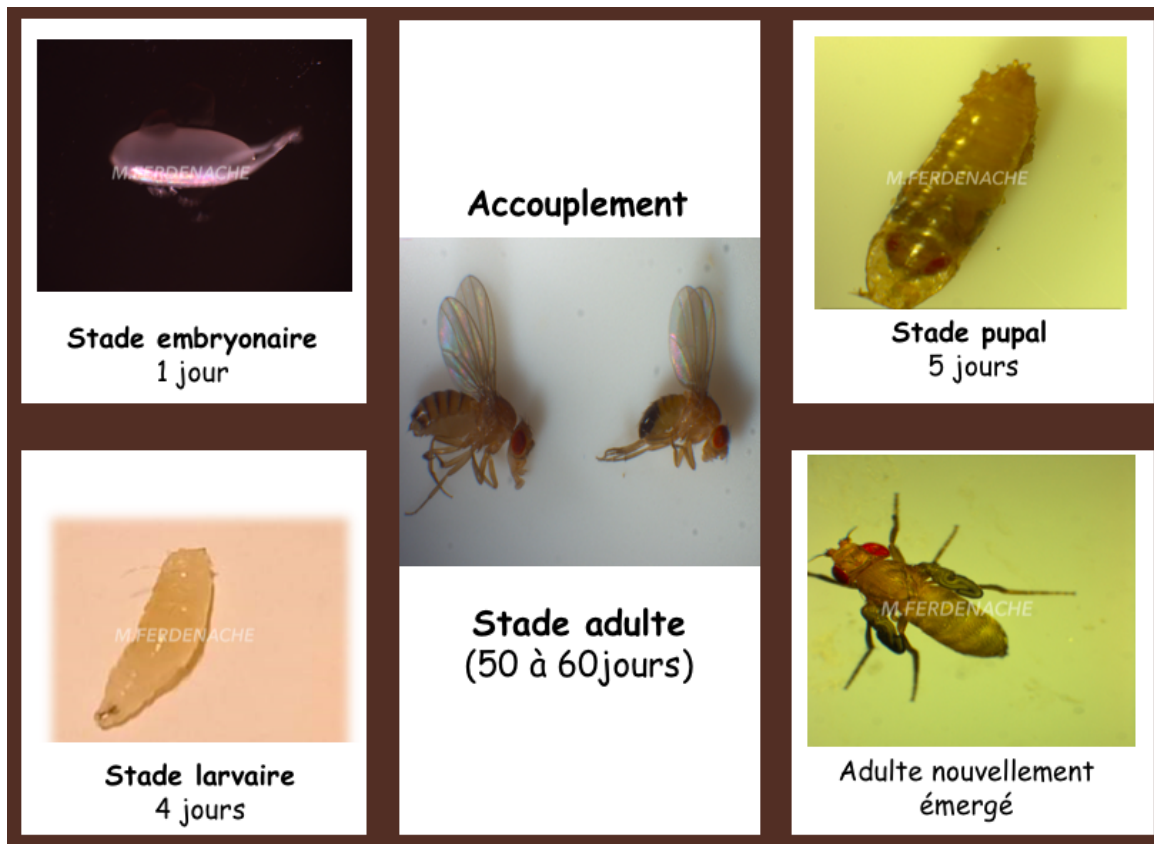


Figure 06 : Cycle de vie de *D. melanogaster*.

2.5. Le système olfactif chez *D. melanogaster*

D. melanogaster est sensible à une très grande variété d'odeurs. Les molécules en suspension dans l'air peuvent induire des réactions comportementales, notamment d'attraction ou d'évitement.

Les sensilles sont les structures sensorielles olfactives chez les insectes. Ces sensilles sont en forme de poils et sont situées à l'extrémité distale des antennes et sur les palpes maxillaires ou labiaux. Ces sensilles olfactives sont perforées par un grand nombre de petits pores qui sont censés donner accès aux odeurs et peuvent donc être facilement distinguées des autres types de sensilles, comme les sensilles thermo ou hygrosensibles (Stocker, 1994). Elles se présentent sous diverses formes et chaque sensille répond de façon spécifique à une molécule chimique ou à une famille de molécules chimiques.

Sur l'antenne, on distingue trois types morphologiques de sensilles olfactives : les sensilles basiconica, les sensilles trichodea et les sensilles cœloconiques (Fig. 07). Les sensilles basiconiques sont en nombre moindre chez le mâle et les sensilles trichoides plus nombreuses chez la femelle. Par contre, le palpe maxillaire a une structure plus simple que celle de l'antenne et contient un seul type de sensille (basiconique) (Vosshall et Stocker, 2007).



Figure 07 : Les différents types des sensilles olfactives chez *D. melanogaster* (de Bruyne & Warr 2006).

Le système chimiosensoriel de la drosophile est impliqué dans un grand nombre de comportements liés à l'adaptation des insectes à leur environnement, notamment la recherche d'une plante hôte, la recherche et la sélection d'un partenaire sexuel, ou encore dans les relations sociales. Il est aussi indispensable pour la sélection du site de ponte par les femelles. En effet, les drosophiles sont connues pour être sélectives quant aux choix du site de ponte. Plusieurs études récentes ont montré que ce type de comportement peut être modifié par l'expérience (Dukas, 2008 ; Sarin et Dukas, 2009 ; Abed-Vieillard *et al.*, 2013 ; Anderson *et al.*, 2013 ; Abed-Vieillard et Cartot, 2016 ; Bezzar-Bendjazia *et al.*, 2016).

2.6. Le système gustatif chez *D. melanogaster*

Le sens du goût est essentiel pour évaluer la qualité des aliments, pour cela les cellules sensorielles envoient des informations sensorielles aux centres supérieurs pour stimuler des réponses neurologiques qui sont traitées et décodées pour produire le comportement attractif ou répulsif approprié (Liman *et al.*, 2014). La capacité à identifier les substances attractives et à éviter les substances toxiques est essentielle pour la survie d'un animal. Bien que l'olfaction et la vision contribuent à la détection des aliments, le système gustatif agit comme un point de contrôle final pour cette prise de décision (Scott, 2018).

2.6.1. L'architecture du système gustatif

Le système gustatif chez les insectes est complexe et n'est pas restreint à un seul organe. Il joue un rôle essentiel dans la sélection des aliments et les comportements alimentaires ainsi que dans d'autres activités de la vie des insectes (Miyamoto *et al.*, 2012 ; Jiang *et al.*, 2015). Le comportement alimentaire dépend à la fois de l'apport neural des sens chimiques des insectes (récepteurs gustatifs) et de l'intégration nerveuse centrale de ce code sensoriel (Mordue Luntz, 2005). La détection gustative chez les insectes se fait grâce à des sensilles gustatives, situées au niveau du proboscis, des pattes et des ailes (Fig. 08) (Stocker, 1994 ; Amrein et Thorne, 2005).

La partie externe du proboscis est constituée de deux labelles, également appelés palpes labiaux, qui fusionnent au niveau de la partie proximale du proboscis.

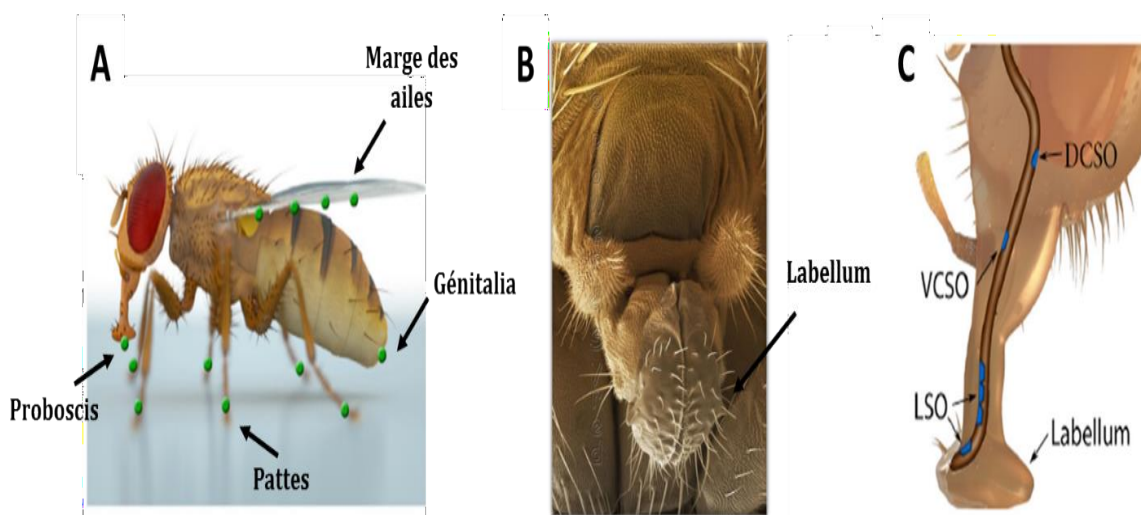


Figure 08 : Organisation du système gustatif chez *Drosophila melanogaster*.

(A) Les points verts indiquent la localisation des organes gustatifs externes de la drosophile : le proboscis, le premier tarse des pattes, la bordure antérieure des ailes et l'organe ovipositeur chez la femelle. (B) Le proboscis est le principal organe gustatif chez la drosophile. Il est composé de deux labelles recouverts de sensilles gustatives. (C) Le proboscis de la drosophile contient 3 organes gustatifs internes le long de la paroi du pharynx : le LSO, VCSO et le DCSO impliqués dans l'évaluation de la nourriture et le rejet de substances toxiques. Modifié à partir de (Liman *et al.*, 2014).

Chapitre 02 : Matériel et Méthodes

3. Matériel et Méthodes

L'élevage de drosophiles s'effectue, en laboratoire, depuis le début du vingtième siècle, suite aux travaux pionniers de Sturtevant (1913) qui a établi la première cartographie génétique. Cette espèce est utilisée, actuellement, comme modèle biologique en génétique, biologie moléculaire et toxicologie par 80 000 à 100 000 chercheurs (Colombani *et al.*, 2006).

3.1. Élevage en laboratoire

L'élevage *D. melanogaster*, souche Canton S, est réalisé, en laboratoire (Fig. 09), à une température de 25°C, une hygrométrie de 70% et une scotophase de 12 h (souche donnée gracieusement par C. Wickers Thomas, Laboratoire Evolution, Génomes et Spéciation, Université de Paris Sud).

Le milieu nutritif artificiel gélosé sur lequel est élevée la drosophile est à base de farine de maïs et de levure de bière. Il est composé essentiellement de

- Farine de maïs : 33,3 g
- Levure sèche : 33,3g
- Agar-agar : 4,8 g
- Antifongique hydroxy-benzoyate de méthyle à 10%
- Eau distillée : selon nécessité

Les drosophiles sont élevées dans des flacons de plastique et bouchés par un tampon de mousse (Fig. 09).

Les mouches sont transférées tous les 3-4 jours dans de nouveaux tubes afin d'éviter les problèmes de compétition larvaire et fournir une progéniture suffisante.



Figure 09 : Élevage au laboratoire de *D. melanogaster* (photo personnelle).

3.2. Présentation de l'insecticide et traitement

3.3. Présentation de l'insecticide

L'azadirachtine est un tétranortriterpénoïde dérivé des graines de l'arbre indien, le margousier (*Azadirachta indica* A. Juss, *Meliaceae*), commercialisée sous le nom de Neem Azal-T/S, est un produit à base d'extrait des graines de l'arbre tropical Neem. Il comprend la seule molécule active l'azadirachtine A standardisé à 1% avec un poids moléculaire de 720,7 g/mol. Sa formule chimique est $C_{35}H_{44}O_{16}$. Très soluble dans l'éthanol, l'éther diéthylique, l'acétone et le chloroforme. Peu soluble dans l'eau et l'hexane. L'azadirachtine A correspond à un liquide brun avec une odeur caractéristique du Neem.

3.5 Effet de l'azadirachtine

3.5.1. Test de préférence larvaire

Des groupes de 20 larves de début du stade L3 sont introduit dans des boites de Pétri (Nunc ; diamètre = 66 mm, hauteur = 15 mm) contenant un papier filtre (Whatmann, Cat 42 ; diamètre = 55 mm) divisé en deux cercles concentriques (28 mm de diamètre pour celui du centre) à l'aide d'un emporte- pièce (Fig.12).

L'anneau extérieur est imprégné dans une solution d'azadirachtine (0,25 µl/ml) de 10 ml pendant 5 secondes alors que la zone centrale est imprégnée dans 10 ml d'acétone pendant la même durée. Les deux parties sont laissées à l'air libre pendant 5 minutes afin que l'acétone s'évapore. Les deux zones sont ensuite réassemblées dans la boîte de Pétri et humidifiées avec 1 ml d'eau distillée afin de faciliter le déplacement des larves. Cinq minutes après le dépôt des larves au centre du dispositif, les larves présentes sur chaque zone et sur le couvercle (considérer comme témoins) sont dénombrées et un Indice de Préférence Larvaire (IPL) est calculé comme suit :

$$\text{IPL} = \frac{(\text{Nombres des larves sur zone traitée}) - (\text{Nombres des larves sur zone non traitée})}{(\text{Nombres des larves sur zone traitée}) + (\text{Nombres des larves sur zone non traitée})}$$

En théorie, l'IPL peut varier entre -1 (forte aversion pour l'azadirachtine) et +1 (forte attraction pour l'azadirachtine).

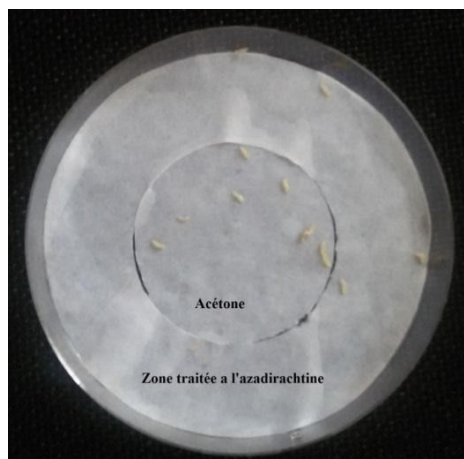


Figure 12 : Test de préférence larvaire. Une boîte de pétrie contenant deux anneaux (l'extérieur est imprégné dans l'azadirachtine et le central est imprégné dans l'acétone).

3.5.2. Test de préférence alimentaire chez l'adulte

Les préférences alimentaires des adultes mâles et des femelles vierges âgés de 3 jours ont été testé en choix binaire grâce au test du Bleu-Rouge (Tanimura *et al.*, 1982) sur une microplaque à 96 puits (Plaques Minitray Nunc nucleon, 84×59mm) (Fig. 13). Les 96 puits de la plaque sont remplis alternativement par 10 µl de milieu traité avec les deux doses (DL25 et DL50) (Bezzar-Bendjezia *et al.*, 2016) et coloré (Rouge acide ou bleu erioglaucine) ou par 1 µl de milieu standard (témoins) coloré de l'autre couleur. Après 24 h de jeûne, 10 adultes d'un même sexe sont placés dans le dispositif pendant 1 heure à l'obscurité. A la fin de l'expérience, les portoirs sont conservés à -10°C pendant 24 h et les individus testés sont classés selon la couleur de leur abdomen en 3 catégories, rouge, bleu, blanc ou noir. Un **Indice de Préférence Alimentaire (IPA)** est calculé selon les formules suivantes pour les deux colorants :

$$\text{IPA} = [(\text{N}^{\text{b}} + \text{N}^{\text{n}}) / 2] / (\text{N}^{\text{b}} + \text{N}^{\text{n}} + \text{N}^{\text{r}}) * 100$$

N^b : Nombre des abdomens colorés en bleu.

Nⁿ : Nombre des abdomens colorés en noir (mélange des deux couleurs).

N^r : Nombre des abdomens colorés en rouge.

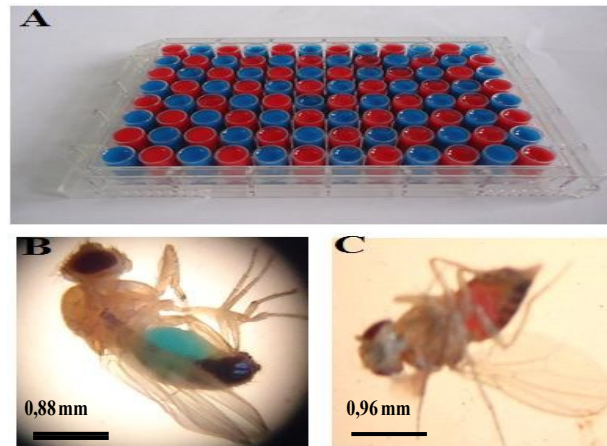


Figure 13 : Test de préférence alimentaire. (A) : Microplaque à 96 puits contenant les deux milieux avec les colorants rouge et bleu. (B) : Abdomen coloré en bleu. (C) : Abdomen coloré en rouge.

Afin de tester un possible effet des colorants sur la réponse des individus testés, des mâles et des femelles ont eu le choix entre un milieu standard coloré en rouge et un milieu standard coloré en bleu afin de calculer des indices contrôles pour le bleu et le rouge. L'IPA varie entre 0% pour une aversion totale à 100% pour une attirance totale.

3.6. Analyse statistique

Les moyennes \pm SEM sont calculées pour chaque groupe d'expérience. Les données concernant le test de préférence larvaire et préférence alimentaire sont analysées grâce au test de Kruskal-Wallis combiné avec le test de Dunn's. Le test de Mann-Whitney est utilisé pour comparer l'indice de préférence larvaire (IPL) et l'indice de préférence alimentaire (IPA). Tous les calculs ont été effectués à l'aide du logiciel GraphPad Prism version 6.1 pour Windows (GraphPad software, La Jolla California, USA, www.Graphpad.com).

Chapitre 03: Résultats Et Discussion

4. Résultats

4.1. Effets de l'azadirachtine sur la préférence larvaire

L'azadirachtine (DL₂₅, DL₅₀), administré par application topique chez les L3 du début de stade, affecte la préférence larvaire en augmentant de manière significative l'aversion pour le milieu traité (0,25 µg/ml) et ce comparativement au milieu témoins ($p < 0,01$) (Fig. 14).

L'exposition préalable à l'azadirachtine (début du stade L3) induit une aversion plus importante à cette molécule en comparaison aux larves témoins "naïves" ($p < 0,001$) (Fig. 14). En effet, Les larves de *D. melanogaster* préfèrent rester sur le milieu témoin et évitent de se déplacer vers le milieu traité. L'analyse statistique des résultats révèle un effet significatif entre les deux milieux ($P < 0,001$) (Fig. 14).

Les résultats concernant l'indice de préférence larvaire (IPL) des larves de *D. melanogaster* témoins ou traitées à l'azadirachtine (début de stade L3) sont représentés sur la figure 10. Les valeurs de l'IPL obtenues pour le milieu traité (0,25 µg/ml) sont de -0,18 ; -0,42 et -0,44 et ce respectivement pour les larves témoins, traitées à la DL₂₅ et traitées à la DL₅₀.

L'analyse statistique des données révèle des différences significatives entre l'IPL des larves traitées et témoins. En effet, le test de Mann-Whitney révèle un effet significatif entre les larves témoins et traitée à la DL₂₅ ($p < 0,01$) et à la DL₅₀ ($p < 0,01$). Cependant, aucune différence significative n'est enregistrée entre les deux doses testées ($p > 0,05$) (Fig. 15).

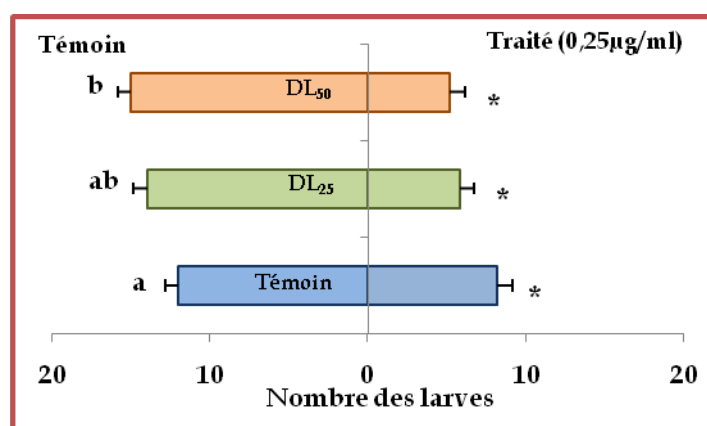


Figure 14 : Effets de l'azadirachtine (DL₂₅, DL₅₀), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* sur le nombre des larves présent sur le

milieu témoins ou traités (0,25 $\mu\text{g/ml}$) à l'azadirachtine. ($M \pm \text{SEM}$, $n = 05$ répétitions de 20 larves chacune). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$). Les lettres en minuscules indiquent une différence significative entre les individus témoins et traités dans le même milieu. Les étoiles indiquent une différence significative entre les individus de la même série dans des milieux différents.

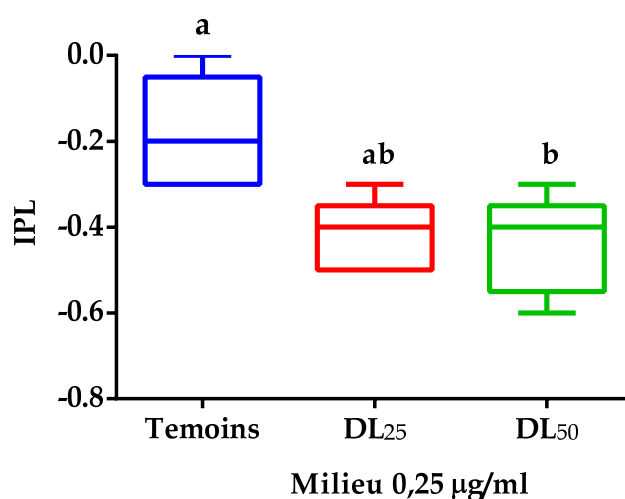


Figure 15 : Indice de préférence larvaire (IPL) des larves de *D. melanogaster* pour l'azadirachtine (0,25 $\mu\text{g/ml}$). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$).

4.2. Effets de l'azadirachtine sur la préférence alimentaire

Afin d'évaluer les préférences alimentaires des adultes à l'azadirachtine, nous avons utilisé le test bleu/rouge en colorant alternativement le milieu traité. L'azadirachtine (DL₂₅, DL₅₀), administré par application topique chez les L3 du début de stade, affecte la préférence alimentaire des adultes et ce comparativement aux témoins. Les résultats obtenus montrent une préférence claire pour le milieu témoin par rapport au milieu traité ($p < 0,01$).

De manière générale, nos résultats montrent que la coloration du milieu affecte clairement la consommation des adultes qui préfèrent la couleur bleu (53,76%) que la couleur rouge (39%).

Les résultats concernant l'indice de préférence alimentaire (IPA) des adultes mâles et femelles de *D. melanogaster* témoins ou traités à l'azadirachtine (début de stade L3) sont représentés sur la figure 8. Les valeurs de l'IPA obtenues pour le milieu traité (0,25 $\mu\text{g/ml}$)

coloré en bleu sont de 33,21% ; 15,00% et 13,00% et ce respectivement pour les mâles témoins, traités à la DL₂₅ et traités à la DL₅₀. Les valeurs de l'IPA obtenues pour les femelles sont de 34,83% ; 22,91% et 22,31% respectivement pour les femelles témoins, traitées à la DL₂₅ et traitées à la DL₅₀. En ce qui concerne les IPA obtenues pour le milieu traité (0,25 µg/ml) coloré en rouge, les valeurs enregistrées sont toujours nulles et ce respectivement pour les adultes mâles et femelles témoins et traitées (DL₂₅ et DL₅₀).

L'analyse statistique des données révèle des différences significatives entre l'IPA des adultes traitées et témoins. En effet, pour les mâles dans le milieu 0,25 µg/ml et coloré en bleu, le test de Mann-Whitney révèle un effet significatif entre les mâles témoins et traitée à la DL₂₅ ($p < 0,01$) et à la DL₅₀ ($p < 0,01$). Cependant, aucune différence significative n'est enregistrée entre les deux doses testées ($p > 0,05$) (Fig. 16 A). Des résultats similaires sont observés chez les femelles ; en effet, le test de Mann-Whitney révèle un effet significatif entre les femelles témoins et traitée à la DL₂₅ ($p < 0,01$) et entre les femelles témoins et traitée à la DL₅₀ ($p < 0,01$), ces différences sont dose-dépendante ($p < 0,05$) (Fig. 8B).

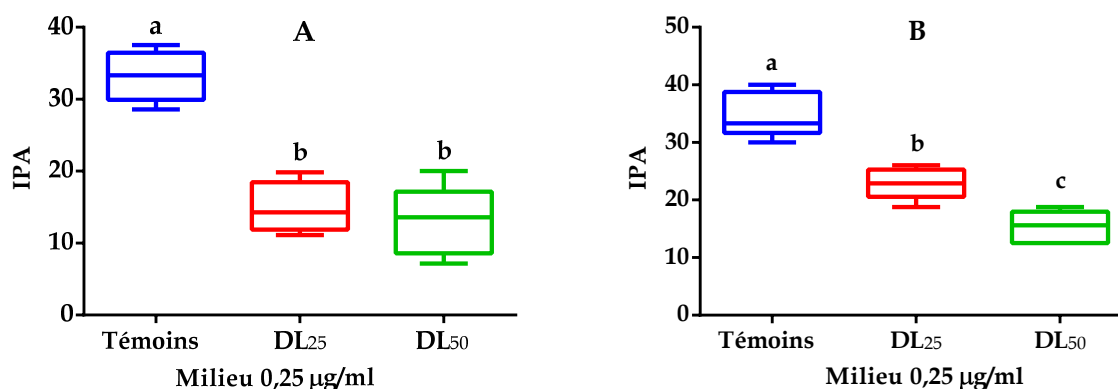


Figure 16 : Indice de préférence alimentaire (IPA) des adultes de *D. melanogaster* en milieu 0,25 µg/ml coloré en bleu. A : Mâles, B : Femelles. Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ($p > 0,05$). Les lettres en minuscules indiquent une différence significative entre les individus témoins et traités.

5. Discussion

Le développement, la reproduction et la survie des insectes dépendent de la perception de différents signaux sensoriels les informant sur la qualité de leur environnement (Thibert *et al.*, 2016). De nombreux travaux ont rapporté que l'exposition aux insecticides pouvait conduire à des défauts dans le comportement des insectes. Différents comportements peuvent être altérés comme la mobilité, la recherche de nourriture ou d'hôtes mais aussi le comportement alimentaire (Tomé *et al.*, 2013 ; Louat, 2013). En effet, dans la nature, les insectes consacrent une grande partie de leur vie à la recherche de nourriture. Ce processus implique différents mécanismes comme la reconnaissance de multiples signaux chimiques ou sensoriels, mais aussi, la mémoire et l'apprentissage (Dukas, 2008).

D. melanogaster est connue pour ses capacités d'apprentissage dans des contextes variables (Dubnau *et al.*, 1998 ; Dukas, 2008). Les larves, comme les adultes, sont capable de diverses formes d'apprentissage passant d'une simple habituation aux apprentissages associatifs divers (Gerber *et al.*, 2007). L'impact de l'alimentation sur les apprentissages, chez les larves ou les adultes, est de plus en plus étudié (Dethier, 1980, Russell *et al.*, 2013). Cette décision de choix alimentaire dépend de facteurs génétiques et environnementaux et est sans doute reliée aux capacités sensorielles de la drosophile, qui impliquent tout particulièrement le sens de l'odorat, et secondairement de la vue (Grossfield, 1978). De nombreuses études récentes ont démontré que ce type de décision peut être influencé par l'expérience sensorielle individuelle et modifiée en fonction d'une expérience larvaire ou adulte (Dukas, 2008 ; Sarin et Dukas, 2009 ; Flaven-Pochon, 2013 ; Thibert *et al.*, 2016).

La capacité de l'insecte à détecter et à fuir un site défavorable semble être sous l'effet de la sélection naturelle et a fait l'objet de nombreux travaux (Thomson et Pellmyr, 1991 ; Bernays et Chapman, 1994). Cependant, l'impact de l'expérience pré-imaginale sur le comportement et la prise de décision chez les adultes, traduisant une conservation des informations et un transfert de la mémoire d'un stade à l'autre, a également été rapporté (Jaenike, 1983 ; Duckas, 2008).

Ce travail vise à évaluer les effets de l'azadirachtine (DL25, DL50), administrée par application topique sur les larves L3 du début de stade sur la préférence larvaire et la préférence alimentaire chez de *D. melanogaster*.

Nos résultats révèlent que l'exposition des larves du début de stade L3 à l'azadirachtine (DL25, DL50) influence le choix larvaire conduisant à un évitement de l'insecticide. De plus, le choix alimentaire des adultes mâles et femelles survivants au traitement est également affecté. Une préférence claire pour le milieu témoin par rapport au milieu traité a été notée au cours de nos différentes expériences. De plus, la coloration du milieu affecte clairement la consommation des adultes qui préfèrent la couleur bleue à la couleur rouge. Cette préférence de couleur a également été rapportée par Fougeron (2011).

L'évitement de l'azadirachtine grâce à sa détection sur une surface traitée, a également été rapporté chez de nombreuses espèces d'insectes (Blaney *et al.*, 1990 ; Ma *et al.*, 2000 ; Charleston *et al.*, 2006 ; Cordeiro *et al.*, 2010 ; Hasan et Ansari, 2011 ; Tomé *et al.*, 2013).

En effet, l'azadirachtine est connu pour son pouvoir anti-appétant (Mordue *et al.*, 2005). Cet effet anti- appétant considéré comme un effet primaire de l'azadirachtine est probablement lié à une action directe du biopesticide sur les centres contrôlant l'alimentation et le métabolisme chez l'insecte (Barnby et Klocke, 1987). L'azadirachtine stimule les cellules chémoréceptrices, responsable du comportement d'aversion, au niveau des pièces buccales de l'insecte et bloque les sites des récepteurs glucidiques responsable de la stimulation de l'alimentation (Mordue *et al.*, 1999 ; Zapata *et al.*, 2009) conduisant à une inhibition de l'alimentation (Koul et Wahab, 2004).

Nos résultats révèlent également que l'aversion à l'azadirachtine semble être plus importante chez les insectes ayant été préalablement exposés à l'insecticide (stade L3), en comparaison aux insectes "naïves", suggérant une mémorabilité de l'aversion à cette molécule. Ceci pourrait être utilisé dans les programmes de lutte pour renforcer l'activité insecticide de l'azadirachtine.

Différentes études récentes, appuient nos résultats et rapportent l'impact de l'expérience pré-imaginale sur le comportement et la prise de décision chez les adultes traduisant cette capacité de conservation de la mémoire de l'apprentissage à travers les stades de développement (Duckas, 2008 ; Blackiston *et al.*, 2008 ; Gerber *et al.*, 2009 ; Flaven- Pouchon *et al.*, 2014 ; Abed-Vieillard et Cortot, 2016).

La compréhension de la biologie de la mémoire reste l'une des grandes quêtes des neurosciences et nécessite de plus amples investigations. Toutefois, chez *D. melanogaster* et malgré un remaniement drastique du système chimio-sensorielle périphérique et central lors de la métamorphose, certaines structures centrales, comme le lobe gamma des corps pédonculés (Fig. 17), sont relativement conservées de la larve à l'adulte (Armstrong *et al.*, 1998). Les corps pédonculés étant impliqués dans les processus de mémorisation et d'apprentissage chez la drosophile (Heisenberg, 2003 ; Campbell *et al.*, 2010), il est donc possible que leur conservation partielle lors de la métamorphose permette la persistance des apprentissages larvaires chez l'adulte.

Cette possibilité de conservation de l'aversion à l'azadirachtine pourrait constituer une nouvelle stratégie de lutte dans les programmes de lutte intégrée notamment chez les espèces nuisibles de drosophiles telles que *Drosophila sukukii*. En effet, selon Kraus Pharm et Ray (2015) l'aversion olfactive semble être conservée chez les différentes espèces de drosophiles ce qui permettra de généraliser l'action de l'azadirachtine.

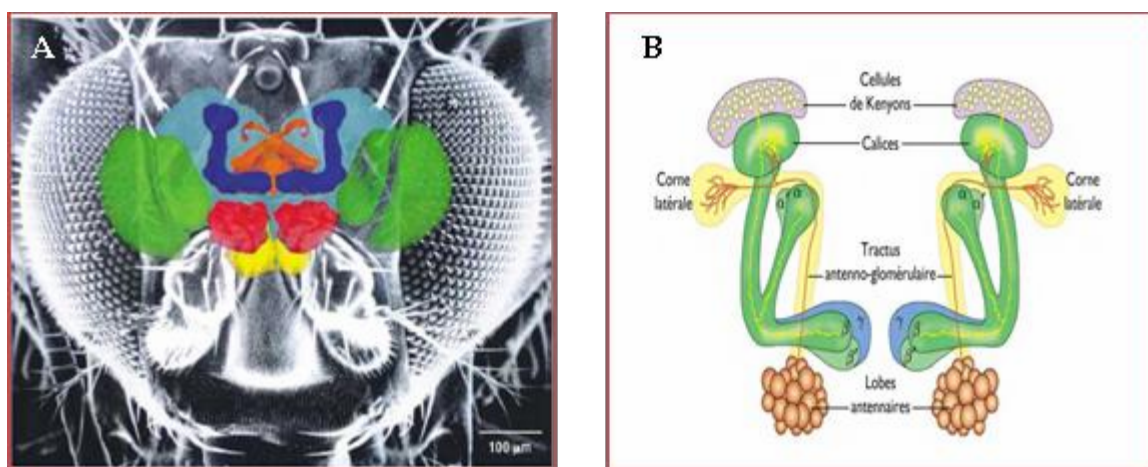


Figure 17. (A) : Schéma du cerveau de la drosophile : *En vert, les lobes optiques ; en jaune, les ganglions sou-oesophagiens ; en rouge, les lobes antennaires ; en bleu, les corps pédonculés ; en orange, le complexe central ; en turquoise, le reste du neuropile entourant les corps pédonculés et le complexe central. (B) : Schéma des corps pédonculés et des lobes antennaires, *en bleu les lobes gamma. (Le Glou, 2012).**

*Chapitre 04: Conclusion ET
Perspectives*

6. Conclusion et perspectives

Nos expérimentations ont été menées chez les larves du début du troisième stade larvaire (L3) de *D. melanogaster* en vue d'évaluer les effets de l'azadirachtine, administré par application topique, sur la préférence larvaire et la préférence alimentaire. Le bio-insecticide a été testé à deux doses, 0,28 et 0,67 μ g correspondant respectivement à la DL₂₅ et la DL₅₀ des stades immatures.

L'azadirachtine affecte le choix larvaire conduisant à un évitement de l'insecticide. De plus, la préférence alimentaire des adultes mâles et femelles survivants au traitement est également affectée. Une préférence claire pour le milieu témoin par rapport au milieu traité a été notée au cours de nos différentes expériences. De plus l'aversion à l'azadirachtine semble être plus importante chez les insectes ayant été préalablement exposés à l'insecticide (stade L3), en comparaison aux insectes 'naïves', suggérant une mémorabilité de l'aversion à cette molécule.

Cette capacité de l'insecte à mémoriser l'exposition précoce et conserver l'aversion à l'azadirachtine pourrait renforcer l'activité de l'insecticide et être utilisée comme une nouvelle stratégie de contrôle des insectes ravageurs dans les programmes de lutte intégrée.

A l'avenir il serait intéressant de compléter le présent travail par :

- Évaluer l'effet de l'azadirachtine sur plusieurs générations successives.
- Une meilleure compréhension des processus liés à l'apprentissage via une exploration de l'expression des gènes impliqués dans la mémoire.

*Chapitre 05: Références
Bibliographiques*

7. Références bibliographiques

- Abedi, Z., Saber, M., Gharekhani, G., Mehrvar, A., Kamita, S.G. 2014.** Lethal and sublethal effects of azadirachtin and cypermethrin on *Habrobracon hebetor* (Hymenoptera: Braconidae). *Econ Entomol.* **107**(2): 638- 645
- Abed-Vieillard, D. & Cortot, J. 2016.** When Choice Makes Sense: Menthol Influence on Mating, Oviposition and Fecundity in *Drosophila melanogaster*. *Front. Integr. Neurosci.***10**: 5. doi: 10.3389/fnint.2016.00005
- Abed-Vieillard, D., Cortot, J. 2016.** When choice makes sense: menthol influence on mating, oviposition and fecundity in *Drosophila melanogaster*. *Front IntegrNeurosci.* 10,
- Abed-vieillard, D., cotot, J., Everaerts, C., FERVEUR, J.F.2013.** choice alters *Drosophila* oviposition site preference on menthol. *Biol.open.* 3 :22-28/bio.20136973.
- Akhtar, Y., Rankin, C. H., Isman, M. B.2003.**Decreased response to feeding deterrents following prolonged exposure in the larvae of a generalist herbivore, *Trichoplusia ni* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Insect Behav.* **16**, 811–831.
- Anderson, P., Sadek, M.M., Larsson, M., Hansson, B.S., 2013.** Thöming G Larval host Anuradha, A., Annadurai, R.S., Shashidhara, L.S. 2007. Actin cytoskeleton as a
- ARLA. Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire. 2012.** Projet de décision d'homologation (PRD2012-16), 58 pages.
- Asaduzzaman, M., Shim, JK., Lee, S., Lee, KY. 2016.** Azadirachtin ingestion is lethal and inhibits expression of ferritin and thioredoxin peroxidase genes of the swwetpotato whitefly *Bemissia tabaci*. *J Asia Pac Entomol.* 19: 1-4
- Awad, E.W., Saadé F.E. Amiri, M.H. 1997.** Effect of azadirachtin on the nutrition, development and biogenic amine levels in the Eastern Death's Head hawk moth, *Acherontia styx*(lepidoptera: sphingidae). *Exp Biol Online.* 2:1-14.
- Banerjee, S., Rembold, H. 1992.** Azadirachtin A interferes with control of serotonin pools in the neuroendocrine system of locusts. *Sci Nat.* 79(2):81-4.
- Banks, K. E., Turner, P. K., Wood, S. H., & Matthews, C. 2005.** Increased toxicity to *Ceriodaphnia dubia* in mixtures of atrazine and diazinon at environmentally realistic concentrations. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60(1): 28-36.

- Banks, K. E., Turner, P. K., Wood, S. H., & Matthews, C. 2005.** Increased toxicity to *Ceriodaphnia dubia* in mixtures of atrazine and diazinon at environmentally realistic concentrations. *Ecotoxicol. Environ. Saf.* 60(1): 28-36.
- Barbosa, W.F., De Meyer, L., Guedes, R.N., Smagghe, G. 2015.** Lethal and
- Barnby et al.** Effects of azadirachtin on the nutrition and development of the tobacco budworm, *Heliothis virescens* (Fab.) (Noctuidae) *J. Insect Physiol* (1987)
- Baumler, R.E., Potter, D.A. 2007.** Knockdown, residual, and antifeedant activity of pyrethroids and home landscape bioinsecticides against *Japanese beetles* (Coleoptera: Scarabaeidae) on *Linden foliage*. *J Econ Entomol.* 100(2):451-8.
- beneficial arthropods. *Annual Review of Entomology.*, 52: 81-106.
- Benuzzi, M., Ladurner, E. 2018.** Plant protection tools in organic farming. *Handbook of pest management in organic farming.* 24-59.
- Benzidane, Y., Touinsi, S., Motte, E., Jadas-Ecart, A., Communal, P.-Y., Leduc, L., and Thany, S. H. 2010.** Toxicity of thiamethoxam on cockroach locomotor activity associated to its metabolite clothianidin. *Pest Manag Sci.* 66,1351–1359.
- Bernardes, R.C., Barbosa, W.F., Martins, G.F., Lima, M.A.P. 2018.** The reduced-risk insecticide azadirachtin poses a toxicological hazard to stingless bee *Partamona helleri* (Friese, 1990) queens. *Chemosphere.* 201: 550-556.
- Bernays, E.A. & Chapman, R.F. 1994.** *Host-Plant Selection by Phytophagous Insects.* Chapman and Hall, New York.
- Bezzar-Bendjazia, R., Kilani-Morakchi, S., Aribi, N. 2016.** Larval exposure to azadirachtin affects fitness and oviposition site preference of *Drosophila melanogaster*. *PesticBiochem Physiol.* 133: 85-90
- Bezzar-Bendjazia, R., Kilani-Morakchi, S., Aribi, N. 2016. Growth and molting
- Biswas, K., Chattopadhyay, I., Banerjee, R.K., Bandyopadhyay, U., 2002.** Biological activities and medicinal properties of neem (*Azadirachta indica*). *Current science* 1336–1345.
- Blackiston, D. J., Silva Casey., E, Weiss, M.R. 2008.** Retention of memory through metamorphosis: can a moth remember what it learned as a caterpillar. *PLoS One*3 (3): e1736. doi: 10.1371/journal.pone.0001736

- Blaney, W.M., Sommonds, M.S.J., Ley, W.V., Anderson, J.C., Toogood, P.L 1990.**
Antifeedant effects of azadirachtin and structurally related compounds on lepidopterous larvae. *Entomol. Exp. Appl.* **55**: 149-160.
- Boeke, S.J., Boersma, M.G., Alink, G.M., van Loona, J.J.A., van Huis, A., Dicke, M., 2004.** Rietjens IMCM Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides. *J Ethnopharmacol.* **94**, 25-41.
- Boulahbel, B., Aribi, N., Kilani-Morakchi, S., Soltani, N. 2015a.** Insecticidal activity
- Boulahbel, B., Aribi, N., Kilani-Morakchi, S., Soltani, N. 2015b.** Activity of neem oil
- BPDB. The Bio-Pesticides Database. 2013.** The Agriculture & Environment Research Unit (AERU), University of Hertfordshire.
- Campbell, G. 2006.** Regulation of gene expression in the distal region of the *Drosophila* leg by the Hox11 homolog, C15. *Dev. Biol.* **278**: 607-618.
- Campos, E.V., d'Oliveira, J.L., Pascoli, M., de Lima, R., Fraceto, L.F. 2016.** Neem Oil and Crop Protection: From Now to the Future. *Front Plant Sci.* **13**;7:1494.
- Casida, J.E. & Durkin, K.A. 2013.** Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu Rev Entomol.* **58**: 99-117.
- Charleston, D.S., Kafir, R., Dicke, M., Vet, L.E.M. 2006.** Impact of botanical extracts derived from *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* on populations of *Plutella xylostella* and its natural enemies: a field test of laboratory findings. *Biol. Control.* **39**: 105-114.
- Chattopadhyay, S., Raychaudhuri, U., Chakraborty, R., 2014.** Artificial sweeteners—a review. *Journal of food science and technology* **51**, 611–621.
- Chaudhary, S., Kanwar, R., Sehgal, A., Cahill, D.M., Barrow, C., J., Sehgal, R., Kanwar, J. R. 2017.** Progress on *Azadirachta indica* Based Biopesticides in Replacing Synthetic Toxic Pesticides. *Front Plant Sci.* **8**: 610.
- Chaudhary, S., Kanwar, R., Sehgal, A., Cahill, D.M., Barrow, C., J., Sehgal, R., Kanwar, J. R. 2017.** Progress on *Azadirachta indica* Based Biopesticides in Replacing Synthetic Toxic Pesticides. *Front Plant Sci.* **8**: 610.
- Chaudhary, S., Kanwar, R.K., Sehgal, A., Cahill, D.M., Barrow, C.J., Sehgal, R., Kanwar, J.R., 2017.** Progress on *Azadirachta indica* based biopesticides in replacing synthetic toxic pesticides. *Frontiers in plant science* **8**, 610.
- Chmiel, J.A., Daisley, B.A., Pitek, A.P., Thompson, G.J., Reid, G. 2020.** Understanding the Effects of Sublethal Pesticide Exposure on Honey Bees: A Role for Probiotics as Mediators of Environmental Stress. *Front EcolEvol.* **8**:22.

- Colombani, J., Bianchini, L., Layalle, S. & Léopold, P. 2006.** Stéroïdes, insuline et croissance : les mouches dopent la recherche / Steroids, insulin and growth : The flies dope the research. *Revue : M/S : médecine sciences*, **22**(3) : 241-243.
- Cordeiro, E.M.G., Corrêa, A.S., Venzon, M., Guedes, R.N.C. 2010.** Insecticide survival and behavioral avoidance in the lacewings *Chrysoperla externa* and *Ceraeochrysa cubana*. *Chemosphere*. **81**: 1352–1357.
- Croft, B.A. 1990.** Arthropod Biological Control Agents and Pesticides. New York: Wiley. 723 pp.
- Crook, R. J., Dickson, K., Hanlon, R. T. & Walters, E. T. 2014.** Nociceptive sensitization reduces predation risk. *Curr Biol*. **24**, 1121–1125.
- da Costa, J. T. et al. da Costa, J.T., Forim, M. R., Costa, E.S., De Souza, J.R., Mondego, J.M. 2014.** Effects of different formulations of neem oil-based products on control *Zabrotes subfasciatus* (Boheman, 1833) (Coleoptera: Bruchidae) on beans. *J Stored Prod Res*. **56**: 49–53.
- Dalton, J.E., Kacheria, T.S., Knott, S.R., Lebo, M.S., Nishitani, A., Sanders, L.E. 2010.** disruption effects of azadirachtin against *Drosophila melanogaster* (Diptera):
- Deravel, J., Krier, F., Jacques, Ph. 2014.** Les biopesticides, alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. **18**(2) : 220-232.
- Desneux, N., Decourtye, A. & Delpuech, J.M. 2007.** The Sublethal Effects of Pesticides on Beneficial Arthropods. *Annu Rev Entomol*. **52**: 81–106.
- Dethier, V. G. (1980).** Food-aversion learning in two polyphagous caterpillars, *Diacrisia virginica* and *Estigmene congrua*. *Physiological Entomology*, **5**(4), 321-325.
- Drosophilidae*). *Journal of Entomology and Zoology Studies*: **4**(1): 363-368.
- Dukas, R. 2008.** Evolutionary biology of insect learning. *Annu. Rev. Entomol*. **53**: 145-160.
- Ebbs, M.L., Amrein, H., 2007.** Taste and pheromone perception in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Pflügers Archiv*. **454**(5), 735-747.
- EFSA. European Food Safety Authority. 2011.** Conclusion on the peer review of the pesticide risk assessment of the active substance azadirachtin. *EFSA J*. **9**(3): 1858.
- Er, A., Taşkıran, D. & Sak, O. 2017.** Azadirachtin-induced effects on various life history traits and cellular immune reactions of *Galleria mellonella* (Lepidoptera : Pyralidae). *Arch Biol Sci*. **69**: 335–344.

- Flaven-Pouchon, J., Garcia, T., Abed-Vieillard, D., Farine, J.P., Ferveur, J.F. 2014. Transient and permanent experience with fatty acids changes *Drosophila melanogaster* preference and fitness. *PLoS ONE*.9: e92352doi: 10.1371/ journal. pone. 0092352.
- Gehlot, A., Arya, I.D., Arya, S.2017.Regeneration of complete plantlets from callus culture of *Azadirachta indica* a. Juss using immature flower buds. *Adv For Sci*. 4, 71–76.
- Gerber, B., Stocker, R.F. (2007) -The *Drosophila* larva as a model for studying
- Ghedira, K., Goetz, P., 2014. *Azadirachta indica* A. Juss- Neem, Meliaceae. Phytothérapie
- Gilbert Haase E, Kwak SJ, Chen R, Mardon G. 2013. *Drosophila* signal peptidase complex
- Goñalons, C. M., Farina, W. M. 2018. Impaired associative learning after chronic exposure to pesticides in young adult honey bees. *J Exp Biol*. 221:176644.
- Goodman, W.G & Granger, N.A. 2005. The Juvenile Hormones. *CompMol Insect Scie*. In Gilbert, L. LI, 55-115.
- Grossfield, J. 1978. Non-sexual behavior of *Drosophila*. In M. Ashburner & T. R. F. Wright (Eds.). *The genetics and biology of Drosophila*, Vol. 2b: 2-126
- Gupta, S.C., Prasad, S., Tyagi, A.K., Kunnumakkara, A.B., Aggarwal, B.B., 2017. Neem (*Azadirachta indica*): An indian traditional panacea with modern molecular basis. *Phytomedicine* 34, 14–20.
- Halle, E. A. & Carlson, J. R. Coding of odors by a receptor repertoire. *Cell*, 2006, 125,
- Harrop, T.W.R., Sztal, T., Lumb, C., Good, R.T., Daborn, P.J., Batterham, P., Chung, H. 2014. Evolutionary changes in gene expression, coding sequence and copy-
- Hasan, F. & Ansari, M.S. 2011. Toxic effects of neem-based insecticides on *Pieris brassicae* (Linn.). *Crop Prot*. 30: 502-507.
- Hashmat, I., Azad, H., Makbul, S.A.A. 2012. Neem (*Azadirachta indica* A. Juss)-A Nature's Drugstore: An overview.*I ResJ Biological Sci*. 1(6), 76-79.
- Ishaaya, I. &Horowitz, AR. 1998.Insecticides with novel modes of action: an overview. *Insecticide with novel modes of action, Mecanisme and application* .1-24.
- J. Chen, X. Fan, J. Zhu, L. Song, Z. Li, F. Lin, ..., J. Zi Limonoids from seeds of *Azadirachta indica* A. Juss. and their cytotoxic activity *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 8 (4) (2018), pp. 639-644.

- Jaenike, J. 1983.** Induction of host preference in *Drosophila melanogaster*. *Oecologia*. **58**: 320–325
- Johnson, S., Morgan, E.D. 1997.** Comparison of chromatographic systems for triterpenoids from Neem (*Azadirachta indica*) seeds. *J. Chromatogr. A*. 761, 1–2, 53–63.
- Joly, D., Aribi, N. 2018. Azadirachtin effects on mating success, gametic ab
- Khosravi, R. & Sendi, J.J. 2013.** Effect of neem pesticide (Achook) on midgut enzymatic
- Khosravi, R., Sendi, J.J., 2013.** Effect of neem pesticide (Achook) on midgut enzymatic activities and selected biological compounds in the hemolymph of lesser mulberry pyralid, *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of Plant Protection Research* 53:238–247
- Kilani-Morakchi, S., Bezzar-Bendjazia, R., Ferdenache, M., Aribi, N. 2017.** Preimaginal exposure to azadirachtin affects food selection and digestive enzymes in adults of *Drosophila melanogaster* (Diptera : Drosophilidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*. **140** : 58–64.
- Koriem, K.M., 2013.** Review on pharmacological and toxicological effects of oleum azadirachtin oil. *Asian Pacific journal of tropical biomedicine* 3, 834–840.
- Koul, O., & Wahab, S. 2004.** Neem biotechnology—A Synthesis. In *Neem: Today and in the new Millennium* (pp. 243–259). Springer, Dordrecht.
- Kraus, W., Bokel, M., Klenk, A., Pöhn, H. 1985.** The structure of azadirachtin and 22,23-dihydro-23 β -methoxyazadirachtin. *Tetrahedron Lett.* 26:6435 – 6438.
- Lai, D., Jin, X., Wang, H., Yuan, M., Xu, H. 2014.** Gene expression profile change
- Louat F., 2013.** Etude des effets liés à l'exposition aux insecticides chez un insecte modèle, *Drosophila melanogaster*. Thèse de Doctorat. Université d'Orléans. 224 pp.
- Ma, D.L., Gordh, G., Zalucki, M.P., 2000.** Biological effects of azadirachtin on *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) fed on cotton and artificial diet, *Aust. Entomol.* **39**: 301–304.
- Majeed, Z. R., Abdeljaber, E., Soveland, R., Cornwell, K., Bankemper, A., Koch, F., Cooper, R. L. 2016.** Modulatory action by the serotonergic system: behavior and neurophysiology in *Drosophila melanogaster*. *Neural plasticity*. 2016:7291438.
- Meigen, J.W. 1830.** Systematische Beschreibung der bekannten europäischen
- Minoli, S., Kauer, I., Colson, V., Party, V., Renou, M., Anderson, P., ... & Anton, S. 2012.** Brief exposure to sensory cues elicits stimulus-nonspecific general sensitization in an insect. *PLoS ONE*. 7 (3), e34141.

- Mordue Luntz, A.J., Nisbet, A.J., Jennens, L., Ley, S.V., Mordue, W., Singh, R.P., Saxena, R.C., 1999.** Tritated dihydroazadirachtin binding to *Schistocerca gregaria* testes and *Spodoptera Sf9* cells suggests a similar cellular mechanism of action for azadirachtin. *Azadirachta indica A. Juss.* 247-256.
- Mordue(Luntz), A. J., Nisbet, A. J.2000.** Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. *An Soc Entomol Bras.* **29** : 615–632.
- Mordue, A. J., Nisbet, A. J., Jennens, L., Ley, S. V., & Mordue, W. 1999.** Tritiated dihydroazadirachtin binding to *Schistocerca gregaria* testes and *Spodoptera Sf9* cells suggests a similar cellular mechanism of action for azadirachtin. *Azadirachta indica A. Juss.* 247-256.
- Mordue, L.A.J., Morgan, E.D., Nisbet, A.J. 2005.** Azadirachtin, a natural product in insect control. In: Gilbert, L.I., Iatrou, K. & Gill, S.S. (Eds). *Comprehensive Molecular Insect Science*. Elsevier, Oxford, UK. **6**: 117–135.
- Mordue, L.A.J., Morgan, E.D., Nisbet, A.J. 2005. Azadirachtin, a natural product in
- Mordue, L.A.J., Morgan, E.D., Nisbet, A.J. 2010.** Addendum: Azadirachtin, a natural product in insect control: An update. In: Gilbert, L.I. & Gill, S.S. (Eds). *InsectControl*. Elsevier, Oxford, UK. 204–206.
- Morgan, E.D. 2009.** Azadirachtin, a scientific gold mine. *Bioorg. Med. Chem.* **17**(12): 4096- 4105.
- Müller, C.2018.** Impacts of sublethal insecticide exposure on insects — Facts and knowledge gaps. *Basic Appl Ecol.* **30**:1439-1791.
- Müller, T., Prosche, A., Müller, C.2017.** Sublethal insecticide exposure affects reproduction, chemical phenotype as well as offspring development and antennae symmetry of a leaf beetle. *Environ Pollut.* **230**: 709–717.
- Nauen, R., Elbert, A., McCaffery, A., Slater, R., Sparks, T.C. 2012.** IRAC: insecticide resistance, and mode of action classification of insecticides, in: Kramer, W., Schrimmer, U., Jeschke, P., Witschell M. (Eds.), *Modern Crop Protection Com-pounds*, **3**: Insecticides, seconded, Wiley-VCH, Weinheim. pp. 935–955.
- OMS. 2011.** Organisation mondiale de la santé, Santé 2020, à paraître, OMS, Genève.
- Oulhaci, MC., Denis, B., Kilani-Morkachi, S., Sandoz, JC., Kaiser –Arnaud, L., Joly, D., Aribi, N. 2018.** Azadirachtin effects on mating success, gameticab normalities and progeny survival in *Drosophila melanogaster* (Diptera). *Pest Management Science* **74** :174-180.

- Paes J.B., Souza A.D., Lima, C.R., Medeiros Neto, P.N., 2011.** Efficiency of neem (*Azadirachta indica*) and castor (*Ricinus communis*) oils on protection of *Ceiba pentandra* wood against xylophagous termites under feed preference assay. *Rev Árvore* 35: 751-758.
- Pasquoto-Stigliani, T., Campos, E.V., Oliveira, J.L., Silva, C.M., Bilesky-José, N., Guilger, M., Troost, J., Oliveira, H.C., Stolf-Moreira, R., Fraceto, L.F., 2017.** Nanocapsules containing neem (*Azadirachta indica*) oil: development, characterization, and toxicity evaluation. *Sci. Rep.* 7, 1–12.
- Paul, R., Prasad, M., Sah, N.K. 2011.** Anticancer biology of *Azadirachta indica* L (neem): a mini review. *Cancer Biol Ther.* 12(6):467-76.
- Paul, R., Prasad, M., Sah, N.K. 2011.** Anticancer biology of *Azadirachta indica* L (neem): a mini review. *Cancer Biol Ther.* 12(6):467-76.
- Pineda, S., Martínez, A.M., Figueroa, J.I., Schneider, M.I., Estal, P.D., Viñuela, E., Gómez, B., Smaghe, G., Budia, F. 2009.** Influence of azadirachtin and methoxyfenozide on life parameters of *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *J Econ Entom* 102: 1490-1496
- Pison G. 2011.** « Population mondiale » in Meslé France, Toulemon Laurent, Véron Jacques (dir.), Dictionnaire de démographie et des sciences de la population, Paris (France), Armand Colin, p. 365-370.
- Poland, T. M., Ciaramitaro, T. M. et McCullough, D. G. (2016).** Laboratory evaluation
- Prakash, G., Bhojwani, S.S., Srivastava, A.K. 2002.** Production of azadirachtin from plant tissue culture: state of the art and future prospects. *Biotech Bioprocess Eng* 7: 185-93.
- Quinn, L., Lin, J., Cranna N., Lee, J., Mitchell, N., Hannan, R. 2012.** Steroid Hormones in *Drosophila*: How Ecdysone Coordinates Developmental Signalling with Cell Growth and Division. *Steroids-Basic Science*. InTech, Rijeka, 141-168.
- R.N.C. 2013. Azadirachtin avoidance by larvae and adult females of the tomato
- Radwanski, S.A., Wickens, G.E., 1981.** Vegetative fallows and potential value of the neem tree (*Azadirachta indica*) in the tropics. *Economic Botany* 35, 398–414.
- Raguraman, S., & Kannan, M. 2014.** Non-target effects of botanicals on beneficial arthropods with special reference to *Azadirachta indica*. *Advances in plant biopesticides*, 173-205.
- Raizada, R.B, Srivastava, M.K., Kaushal, R.A. Singh, R.P. 2001.** Azadirachtin, a neem biopesticide: subchronic toxicity assessment in rats. *Food Chem Toxicol.* 39(5): 477-483.

- Rharrabe, K., Amri, H., Bouayad, N., Sayah, F. 2008.** Effects of azadirachtin on post embryonic development, energy reserves and α -amylase activity of *Plodia interpunctella* Hubner (Lepidoptera: Pyralidae). *Stored. Prod. Res.* **44**: 290-294.
- Russell, R., Guerry, A. D., Balvanera, p., Gould, R. K., Basurto, X., Chan, K. M., Klain, S., Levine, J., & Tam, J. (2013).** Humans and nature : how Knowing and experiencing nature affect well-being. *Annual review of environment and resources*, 38, 473-502.
- Schmutterer H. 2002.** Azadirachta indica A. Juss and other meliaceous plants: sources of unique natural products for integrated pest management, medicine, industry and other purposes. 2nd edn. Neem Foundation. Mumbai, India. 760-779.
- Schmutterer H., 1990.** Properties and potentials of natural pesticides from neem tree. *Annu. Rev. Entomol.*, 35, 271-298
- Scott, K., 2018.** Gustatory Processing in *Drosophila melanogaster*, *AnnuRev Entomol.*63: 15-30. *r* (Thunberg). *Pest Benef Org.*27, 13–19.
- Senthil-Nathan, S., Choi, M.Y., Paik, C.H., Seo, H.Y., Kim, J.D., Kang, S.M. 2006.**The toxic effects of neem extract and azadirachtin on the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (BPH) (Homoptera: Delphacidae).*Chemosphere.* 67(1):80-8.
- Shao, X., Lai, D., Zhang, L., Xu, H. 2016.** Induction of Autophagy and Apoptosis via PI3K/AKT/TOR Pathways by Azadirachtin A in *Spodoptera litura* Cells. *Sci Rep.*18;6:35482.
- Shao, X., Lai, D., Zhang, L., Xu, H., 2016.** Induction of autophagy and apoptosis via PI3K/AKT/TOR pathways by azadirachtin a in *spodoptera litura* cells. *Scientific reports* 6, 1–12.
- Sharifzadeh, S.2018.** Many-Body Perturbation Theory for Understanding Optical Excitations in Organic Molecules and Solids, *Journal of Physics: Condensed Matter* **30**.
- Shu, B., Zhang, J., Cui, G., Sun, R., Yi, X., & Zhong, G. 2018.** Azadirachtin affects the growth of *Spodoptera litura* Fabricius by inducing apoptosis in larval midgut. *Front Physiol.* 9, 137.
- Simmonds, M.S.J., Blaney, W.M. 1996.** Azadirachtin: advances in understanding its activity as an antifeedant. *Entomol Exp Appl.* 80: 23-26.
- Simmonds, M.S.J., Blaney, W.M., 1996.** Azadirachtin: advances in understanding its activity as an antifeedant. *Entomol Exp Appl* 80: 23-26.
- Sparks, T.C. &Nauen, R. 2015.** IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pest. Biochem. Physiol.* **121**: 122-128

Chapitre 05: Références Bibliographiques

- Stalin, S. I., Kiruba, S. 2008.** A Comparative Study on the Toxicity of a Synthetic Pyrethroid, Deltamethrin and a Neem Based Pesticide, Azadirachtin to *Poecilia reticulata* Peters 1859 (Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Turkish J Fish Aquat Sci.* 8: 01-05.
- Stocker, R. F. 1994.** The organization of the chemosensory system in *Drosophila melanogaster*: a review. *Cell tissue res*, 275(1), 3-26.
- Sun, J., Xu, A.Q. Giraud, J., Poppinga, H., Riemensperger, T., Fiala, A., Birman, S. 2018.** Neural control of startle-induced locomotion by the mushroom bodies and associated neurons in *Drosophila*. *Front Syst Neurosci.* 12, 6.
- Tanimura, T., Isono, K., Takamura, T., and Shimada, I. (1982).** Genetic dimorphism in the taste sensitivity to trehalose in *Drosophila melanogaster*. *J.Comp. Physiol. A* 147, 433–437. Doi: 10.1007/bf00612007
- Tavernier, R. & Lizeaux, C. 2002.** Sciences vie de la Terre Terminale S-Spec. Maisonneuve & Larose. Paris,
- Thomson, J.N. & Pellmyr, O. 1991.** Evolution of oviposition behavior and host preference in Lepidoptera. *Annual Review of Entomology.* 36: 65–89
- Tomé, H.V.V., Martins, J.C., Corrêa, A.S., Galdino, T.V.S., Picançon, M.C., Guedes, R.N.C. 2013.** Azadirachtin avoidance by larvae and adult females of the tomato leafminer *Tuta absoluta*. *Crop Prot.* 46: 63-69.
- Tricoire-Leignel, H., Thany, S.H., Gadenne, C., Anton, S., 2012.** Pest insect olfaction in an insecticide-contaminated environment: info-disruption or hormesis effect. *Front Physiol.* 3, 58.
- Veitch, G., Beckmann, E., Burke, B., Boyer, A., Maslen, S., Ley, S. 2007.** Synthesis of Azadirachtin: A Long but Successful Journey. *Angew Chem Int Ed Engl.* 46: 7629-7632.
- Vosshall, L.B., Stocker, R.F. 2007.** Molecular architecture of smell and taste in *Drosophila*. *Annu Rev Neurosci.* 30: 505-533.
- Walters, E. T., Illich, P. A., Weeks, J. C., Lewin, M. R. 2001.** Defensive responses of larval *Manduca sexta* and their sensitization by noxious stimuli in the laboratory and field. *J Exp Biol.* 204: 457–69.

- Wang, Y., Chen, X., Wang, J., Xun, H., Sun, J., Tang, F. 2016. Comparative analysis of the terpenoid biosynthesis pathway in *Azadirachta indica* and *Melia azedarach* by RNA-seq. *SpringerPlus*. 5, 819.
- Wicher, D., & Marion-Poll, F. 2018. Function and Regulation of Chemoreceptors. *Frontiers in cellular neuroscience*, 12, 496.
- Winkaler, E. U., Santos, T. R., Machado-Neto, J. G., & Martinez, C. B. 2007. Acute lethal and sublethal effects of neem leaf extract on the neotropical freshwater fish *Prochilodus lineatus*. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol.* 145(2), 236-244.
- Xavier, V. M., Picanço, M. C., Chediak, M., Júnior, P. A. S., Ramos, R. S., & Martins, J. C. 2015. Acute toxicity and sublethal effects of botanical insecticides to honey bees. *J Insect Sci.* 15(1).
- Xavier, V. M., Picanço, M. C., Chediak, M., Júnior, P. A. S., Ramos, R. S., & Martins, J. C. 2015. Acute toxicity and sublethal effects of botanical insecticides to honey bees. *J Insect Sci.* 15(1).
- Yang, C.H., Belawat, P., Hafen, E., Jan, L.Y., Jan, Y.N., 2008. *Drosophila* egg-laying site selection as a system to study simple decision-making processes. *Science*. 319: 1679-1683.
- Zapata, N., Budia, F., Vinuela, E., Medina, P. 2009. Antifeedant and growth inhibitory effects of extracts and drimanes of *Drimys winteri* stem bark against *Spodoptera littoralis* (Lep: Noctuidae). *Ind. Crops Prod.* 30: 119-1255.
- Zhang, J., Sun, T., Sun, Z., Li, H., Qi, X., Zhong, G., Yi, X., 2018. Azadirachtin acting as a hazardous compound to induce multiple detrimental effects in *Drosophila melanogaster*. *J. Hazard. Mater.* 359, 338-347.
- Zhu, Y., Lazopulo, S., Syed, S., Zhai. R.G. 2020. Behavioral studies in *Drosophila* models of human diseases. Reference Module in Neuroscience and Biobehavioral Psychology.