

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE  
SCIENTIFIQUE

جامعة 20 اوت 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 Animale  
Intitulé :

**L'effet d'un monoterpène, chez un modèle de  
référence *Drosophila melanogaster* (Diptera) :  
Toxicité et Développement.**

**Présenté Par :**

- Gargate Zina
- Gherbi Abir
- Grimed Houyam
- Mechehoud Samah

**Membre de Jury :**

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

**Année universitaire 2023/2024**

## *Remerciements*

*Tous ceux qui l'ont vécu le savent : le mémoire est un moment particulier de la vie, une expérience unique qui est à la fois difficile, enrichissante et passionnante. Nous tenons donc à travers cette espace à remercier tous ceux qui participé de près ou de loin de vivre cette expérience qui nous marquera à jamais. Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*Nous tenons à exprimer nos profondes gratitudees au docteur **Bezzar-Bendjazia Radia** pour nous avoir encadrée tout au long de ce travail ainsi que pour nous avoir prodigué ses nombreux conseils. Merci d'avoir partagé avec nous vos connaissances et vos expériences.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury **Dr. Labid A (Président)** & **Dr. Nadji S(examinatrice)** pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

*À toutes et à tous, Je vous aime beaucoup !*

## *Dédicace*

*Je dédie ce travail*

*A mon cher père **Rachide**, mon soutien moral et source de joie, celui qui s'est toujours sacrifié que Dieu garde Pour nous mon amour*

*À la femme, qui souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureux : mon adorable*

*mère **Fatima***

*A mes frères **Faisal, Youcef, Toufik, Sami et Ali***

*A mes sœurs **Samira, Aicha, Widad et Nabila***

*Sans oublier mon fiancé **Raouf**, Ces quelques lignes ne sauraient traduire le profond amour que je te porte*

*À toute ma famille sans exception, sans oublier mes amies, je vous remercie de votre patience, vous m'avez aidée toujours pour avancer vous êtes tous des grandes amies si gentilles, merci d'être toujours près de moi, amies avec lesquelles je souris.*

*Merci pour vos attentions particulières, vos prières et votre amour inconditionnel.*

*Zina*

## *Dédicace*

*En premier lieu nous remercions ALLAH de m'avoir donné la force, le courage et  
la patience*

*Pour que j'aie pu finir ce modeste travail, qui est le fruit des années d'étude.*

*Je dédie ce travail*

*À mon exemple éternel, mon soutien moral et source de joie, celui qui s'est  
toujours sacrifié*

*Pour nous que Dieu garde mon papa **Hocine***

*À la lumière de mes jours, la source de mes efforts, ma vie et mon bonheur ;*

*Maman que j'adore **Dounia***

*A mes chères sœurs et mes frères **Maroua, Zakaria et Anis**, je voudrais vous  
exprime à travers ces quelques lignes tout*

*L'amour et toute l'affection que j'ai pour vous. Je vous aime tellement !*

*A mon cher mari **Hassane** ces quelques lignes ne sauraient traduire le profond  
amour que je vous porte.*

*Sans oublier mes amies **Zina, Imane, saida et malek** Merci pour vos attentions  
particulières, vos prières et votre amour inconditionnel.*

*Que Dieu vous accorde santé.*

***Abir***

## *Dédicace*

*En premier lieu nous remercions **ALLAH** de m'avoir donné la force, le courage et la patience afin de pouvoir terminer ce modeste travail, qui est le fruit des années d'étude.*

*C'est avec un cœur plein de joie que je dédie ce modeste travail :*

*A ceux qui m'ont été une source d'inspiration et de volonté : mon exemple de vie mes chères parentes, mon père **Houcine** et ma trop chère mère **Noura** pour leurs sacrifices et encouragements durant toute la période de mes études.*

*À mes deux précieuses sœurs **Hadil** et **Salsabil**, mes frères **Houssem**, **Saifeddine** et **Mohamed Sadik**,*

*À toute ma famille mes oncles, mes tantes, mes cousins et mes cousines.*

*Comme je le dédie à mes meilleur amis **Rawya**, **Samar**, **Chamse**, **Narimene** et **Chaima**.*

*Que Dieu vous accorde santé.*

*Houyam*

## *Dédicace*

*Avec un énorme plaisir et une immense joie que je dédie ce mémoire :*

*A ma première école de la vie, la prunelle de mes yeux...Ma tendre mère **Halima***

*A celui qui m'a tout donné et me pousse toujours pour avancer et pour atteindre*

*mes buts, mon cher père **Mouloud***

*A celles qui ont coloré ma vie par leurs sourires à mes deux sœurs **Chaima** et*

***Ikram***

*A mes chers frères : **Achraf** et **Mouad***

*A mes amies et sœurs avec lesquelles j'ai partagé tant de souvenirs et passé mes*

*plus belles **Chams El Assil**, **Salma**, **Rayan**, **Imane**, **Sara**, **Hadjer**, **Hadil**, et*

***Takwa.***

*À toute ma famille sans exception Merci pour vos attentions particulières, vos*

*prières et votre amour inconditionnel.*

*Que Dieu vous accorde santé.*

***Samah***

# SOMMAIRE

## Liste des Tableaux

## Liste des figures

Résumés.....	
<b>1.Introduction</b> .....	1
<b>2. Materiel Et Methodes</b> .....	6
2.1.1 Présentation du matériel biologique .....	6
2.1.2 Taxonomie.....	6
2.1.3 Principales caractéristiques de <i>Drosophila melanogaster</i> .....	7
2.1.4 Cycle biologique.....	9
2.1.5 Élevage en laboratoire .....	10
2.2. Présentation de l'insecticide et traitement .....	11
2.2.1 Présentation del'insecticide .....	11
2.2.2 Traitement.....	12
2.2.3 Bioessai.....	12
2.2.4 Effet de bornéol sur le développement .....	13
2.2.5 Analyse stayistique .....	13
<b>3. Résultats</b> .....	14
3.1. Toxicité de Bornéol chez les stades immatures.....	14
3.2. Effets de bornéol sur le développement .....	17
<b>4. Discussion</b> .....	22
4.1.Toxicité de bornéol à l'égard de <i>D. melanogaster</i> et effets sur le développement.....	22
<b>5. Conclusion et perspectives</b> .....	26
<b>6. Références bibliographiques</b> .....	27

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau 1:</b> Toxicité de bornéol ( $\mu\text{g}/\text{insecte}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> : Mortalité corrigée (%) des stades immatures ( $m \pm \text{SEM}$ , $n=4$ répétitions de 20 individus chacune).....	14
<b>Tableau 2:</b> Effets de bornéol, administré par application topique à différentes doses ( $\mu\text{g}/\text{insecte}$ ) sur les pourcentages de mortalité et les pourcentages d'émergence de <i>D. melanogaster</i> . .....	15
<b>Tableau 3:</b> Toxicité de bornéol ( $\mu\text{g}/\text{insecte}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> : Mortalité corrigée (%) des stades immatures.....	16
<b>Tableau 4:</b> Toxicité de bornéol ( $\mu\text{g}/\text{insecte}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> : Détermination des doses létales chez les stades immatures et leurs intervalles de confiance (95%). .....	17
<b>Tableau 5:</b> Effets de bornéol ( $\text{DL}_{25}$ , $\text{DL}_{50}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> sur le pourcentage de pupaison.....	18
<b>Tableau 6:</b> Effets de bornéol ( $\text{DL}_{25}$ , $\text{DL}_{50}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> sur le pourcentage d'émergence. ....	18
<b>Tableau 7:</b> . Effets de bornéol ( $\text{DL}_{25}$ , $\text{DL}_{50}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> sur la durée de développement (h) de stade larvaire...20	20
<b>Tableau 8:</b> . Effets de bornéol ( $\text{DL}_{25}$ , $\text{DL}_{50}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> sur la durée de développement (h) des stades pupal,..	20

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 1:</b> <i>Drosophila melanogaster</i> .....	6
<b>Figure 2:</b> Dimorphisme sexuel chez <i>D. melanogaster</i> ( <b>Belote et Baker, 1982</b> ).....	8
<b>Figure 3:</b> Cycle de vie de <i>D. melanogaster</i> .....	10
<b>Figure 4:</b> Elevage au laboratoire de <i>D. melanogaster</i> .....	11
<b>Figure 5:</b> Structure chimique de Bornéol synthétique.....	12
<b>Figure 6:</b> Traitement des larves L3 ( <b>photo personnelle</b> ).....	12
<b>Figure 7:</b> Toxicité de bornéol ( $\mu\text{g/insecte}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> : Mortalité corrigée (%) des stades immatures ( $m \pm \text{SEM}$ , $n=4$ répétitions de 15 individus chacune).....	16
<b>Figure 8:</b> Effets de bornéol, administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée chez les stades immatures en fonction du logarithme de la dose.....	17
<b>Figure 9:</b> Effets de bornéol ( $\text{DL}_{25}$ , $\text{DL}_{50}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> sur le pourcentage de pupaison.....	19
<b>Figure 10:</b> Effets du bornéol ( $\text{DL}_{25}$ , $\text{DL}_{50}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> sur le pourcentage de l'émergence.....	19
<b>Figure 11:</b> Effets de bornéol ( $\text{DL}_{25}$ , $\text{DL}_{50}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> sur la durée de développement (h) des stades larvaires.....	21
<b>Figure 12:</b> Effets de bornéol ( $\text{DL}_{25}$ , $\text{DL}_{50}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de <i>D. melanogaster</i> sur la durée de développement (h) des stades pupal.....	21
<b>Figure 13:</b> Variation des taux de 20-hydroxyecdysone (20E) et d'hormone juvénile (HJ) durant le développement de <i>D. melanogaster</i> .....	24

*Résumés*

## Résumé

Les effets d'un monoterpène bicyclique ; le bornéol, administré par application topique aux larves du début du dernier stade larvaire (L3) ont été évalués sur la toxicité et le développement chez un insecte modèle, *D. melanogaster*. Différentes doses variées entre 10 et 200 µg ont été utilisées par application topique sur des larves du début du dernier stade larvaire (L3) et la mortalité cumulée des stades immatures a été utilisée pour la détermination des différentes doses létales. Les DL<sub>25</sub> (25,69 µg) et DL<sub>50</sub> (65,23 µg) obtenus à partir d'une courbe dose-réponse ont été utilisées pour le reste des expérimentations.

Les résultats révèlent que le bornéol induit une réduction significative des pourcentages de pupaison et d'émergence des adultes de *D. melanogaster*. L'insecticide induit également une augmentation de la durée de développement des stades larvaire et pupal, avec un effet dose dépendent et ce comparativement aux témoins.

**Mots clés** : Bornéol, *D. melanogaster*, Toxicité, Développement.

**Abstract**

The effects of a bicyclic monoterpene; borneol, were evaluated on the toxicity and development of a model insect, *D. melanogaster*. Different doses ranging from 10 to 200 µg were used by topical application on early last instar larvae (L3) and the cumulative mortality of immature stages was used for the determination of different lethal doses.

The LD<sub>25</sub> (25.69 µg) and LD<sub>50</sub> (65.23 µg) obtained from a dose-response curve were used for the rest of the experiments.

The results show that borneol induces a significant reduction in the percentage of pupation and emergence of *D. melanogaster* adults. The insecticide also induces an increase in the development time of larval and pupal stages, with a dose-dependent effect compared to controls.

**Key words:** Monoterpens, borneol, *D. melanogaster*, Toxicity, Development.

## الملخص

لمعرفة تأثير monoterpenes ،تم تقييم Bornéol ، الذي يُعطى عن طريق التطبيق الموضعي على اليرقات في بداية مرحلة اليرقات الأخيرة (L3)، من حيث السمية والتطور في حشرة نموذجية، *D. melanogaster*. تم استخدام جرعات مختلفة تتراوح بين 10 و 200 ميكروغرام عن طريق التطبيق الموضعي على اليرقات في بداية مرحلة اليرقات الأخيرة (L3) وتم استخدام معدل الوفيات التراكمي للمراحل غير الناضجة لتحديد الجرعات المميتة المختلفة. واستخدمت DL25 (25.69 ميكروغرام) و DL50 (65.23 ميكروغرام) التي تم الحصول عليها من منحنى الاستجابة للجرعة لبقية التجارب.

تكشف النتائج أن Bornéol يؤدي إلى انخفاض كبير في النسب المئوية للتشردق وظهور البالغين لـ

*D.melanogaster*

يؤدي المبيد الحشري أيضًا إلى زيادة مدة تطور مرحلتي اليرقات والعذارى، مع تأثير يعتمد على الجرعة مقارنة بالضوابط.

**الكلمات المفتاحية : Bornéol ، *D.melanogaster* ، السمية، التطور**

# *INTRODUCTION*

Les pesticides chimiques représentent à l'heure actuelle un enjeu économique et sanitaire majeur vu leur importance dans l'optimisation des productions agricoles et la lutte contre les maladies vectorielles (Casida & Durkin, 2013). 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 de pesticides chimiques à large spectre d'action (Ramade, 2011).

De plus, parmi ces pesticides, les insecticides ont également permis de lutter contre les insectes vecteurs de maladies humaines et vétérinaires (moustiques, blattes, punaises...) limitant voire éradiquant un certain nombre de maladies parasitaires très meurtrières (Saguez *et al.*, 2007). Cette lutte constitue donc un enjeu majeur de santé publique et en l'absence de remplaçant efficace, 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).

Le premier pesticide connu fut la poussière de soufre élémentaire utilisée à Sumeria il y a environ 4500 ans. Au 19<sup>ème</sup> siècle, le pyrèthre dérivé des chrysanthèmes et la roténone dérivée des racines des légumes tropicaux ont été introduits (Mehdi *et al.*, 2018). La découverte en 1939 par Paul Müller, des propriétés insecticides du dichlorodiphényltrichloroéthane (DDT), un organochloré, a été un marqueur d'une « révolution agricole » dépendante de l'usage massif des pesticides chimiques. Cependant, la publication du livre « Printemps silencieux » par la biologiste Américaine Rachel Carson en 1962 dénonçant les effets néfastes du DDT sur la biodiversité, mais aussi sur la santé humaine a conduit dix ans plus tard à son interdiction aux États-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 pyrèthrinoïdes 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 (pyrèthrinoïdes) (Haubruge *et al.*, 1998).

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 & 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. En effet, les biopesticides pourraient être définis de la manière suivante : « Organismes vivants ou produits issus de ces organismes ayant la particularité de limiter ou de supprimer les ennemis des cultures » (Thakore, 2006 ; 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).

Les biopesticides sont souvent efficaces en faibles quantités et leurs activités peuvent relever de mécanismes multiples et déclenchent donc rarement des phénomènes de résistance. Ces molécules 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). En outre, ils peuvent compléter les pesticides conventionnels une fois utilisés dans les programmes intégrés de la gestion des parasites (IPM) (Fravel 2005 ; Thakore 2006).

Les méthodes alternatives modernes de lutte contre les insectes nuisibles se concentrent de plus en plus sur le développement de méthodes « vertes » impliquant l'utilisation de produits naturels (Maia et Moore, 2011). Parmi ces molécules les monoterpènes, appartenant à un groupe vaste et diversifié de composés chimiques appelés « terpènes », représentent un groupe de composés organiques naturels dont la structure de base est constituée de deux unités isoprène liées, formées chacune par une base à 5 carbones (C 5). Ce sont les molécules les plus représentatives constituant 90 % des huiles essentielles et possèdent une grande variété de structures (Bakkali *et al.*, 2008), avec plusieurs propriétés pharmacologiques qui leur sont attribuées, notamment cardiovasculaires, antioxydantes, anti-inflammatoires et analgésiques (Santos *et al.*, 2011 ; Guimaraes *et al.*, 2013). De plus sont souvent occupent une place prépondérante dans la gestion respectueuse de l'environnement

des insectes nuisibles sans affecter la santé humaine (Dambolena et *al.*, 2016 ; (Pumnuan et Insung, 2016).

Les terpènes et les terpénoïdes ont été largement étudiés comme insecticides depuis de nombreuses années, toutefois et malgré les différents effets connus, ses mécanismes d'actions restent incertains et font l'objet de nombreuses investigations (Nesterkina et *al.*, 2018 ; Park et *al.*, 2005).

Bien qu'il soit clair que les HE ont des effets toxiques contre les insectes nuisibles, leur mécanisme d'action reste encore flou (Blenau et *al.*, 2011 ; Jankowska et *al.*, 2018). Généralement, ils sont capables de réduire ou de perturber la croissance des insectes à plusieurs stades de leur vie (Konstantopoulou et *al.*, 1992). Il a été démontré que les terpènes peuvent interagir avec les cytochromes P450, impliqués dans les processus de détoxification des insecticides (Jensen et *al.*, 2006 ; Liao et *al.*, 2016). Certains monoterpènes, par exemple le thymol, peuvent induire une dégénérescence neuronale par interaction directe avec les récepteurs GABA (Priestley et *al.*, 2003) ou via l'inhibition de l'acétylcholinestérase (Houghton et *al.*, 2006 ; Park et *al.*, 2016).

De plus, les monoterpènes pourraient interagir avec le système octopamine/tyramine, analogue au système adrénérgique présent chez les vertébrés (Enan, 2001 ; Kostyukovsky et *al.*, 2002 ; Enan, 2005 a, b ; Price et Berry, 2006 ; Gross et *al.*, 2017 ; Finetti et coll., 2020).

À ce jour, diverses cibles moléculaires ont été découvertes pour les terpénoïdes, notamment les canaux chlorure dépendants de l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique (GABA), les récepteurs de l'octopamine, les récepteurs de la tyramine, l'acétylcholine estérase, les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine (nAChR) et les canaux ioniques TRP (Coats et *al.*, 1991 ; Kostyukovsky et *al.*, 2002 ; Salgado, 2017). D'autre part, les étapes du cycle de vie des insectes ainsi que les processus physiologiques et comportementaux sont contrôlées par des neurohormones – les ecdystéroïdes et les hormones juvéniles.

Les monoterpènes capables de modifier la structure des hormones susmentionnées ciblant et détruisant le système endocrinien des insectes sont considérés comme des « pesticides de troisième génération » (Edwards et Menn, 1981 ; Devillers, 2013 ; Svobodová et *al.*, 2010). Parmi eux, les juvénoïdes sesquiterpénoïdes occupent une place unique en tant qu'analogues synthétiques des hormones juvéniles (Sláma, 1979). Malgré des progrès substantiels, le mode d'action des terpénoïdes au niveau des chromosomes n'a pas été décrit et discuté en détail. A cet égard, une attention particulière est attirée sur le phénomène de

polyténie consistant en la multiplication du génome nucléaire par endoreduplication (Dyka et *al.*, 2016).

Le bornéol (C 10 H 18 O), un alcool monoterpénoïde bicyclique, l'un des matériaux médicaux précieux, des épices aromatiques supérieures et des matériaux chimiques, a été utilisé dans l'alimentation et également dans la médecine populaire en Chine et en Inde. Selon la Pharmacopée chinoise (2005), le bornéol est un ingrédient important parmi environ 63 produits à base de plantes (Chen et *al.*, 2011). Ce composé est considéré comme un GRAS (généralement considéré comme sûr) approuvé par la FDA (US Food and Drug Administration) comme arôme alimentaire (Shen et *al.*, 2011). De plus, le bornéol est un ingrédient de parfum utilisé dans les cosmétiques décoratifs, les parfums fins, les shampoings, les savons de toilette et autres articles de toilette ainsi que dans les produits non cosmétiques tels que les nettoyeurs et détergents ménagers. Son utilisation dans le monde est de l'ordre de 10 à 100 tonnes métriques par an (Bhatia et *al.*, 2008).

Huiles essentielles de divers arômes et plantes médicinales comme *Salvia* spp. (Amer et Mehlhorn, 2006 ; Conti et *al.*, 2012 ; Dayaram et Khan, 2016), *Valeriana officinalis* (Gordon et coll., 2018), *Rosmarinus officinalis* (Alavez- Rosas et coll., 2022 ; Dayaram et Khan, 2016 ; Drapeau et coll., 2009 ; Pratiwi et Purwati, 2021), *Plectranthus* spp. (Kulkarni et coll., 2013 ; Lukhoba et coll., 2006), *Thymus* spp. (Pitarokili et coll., 2011) et *Coriandrum sativus* (Benelli et coll., 2013 ; Dayaram et Khan, 2016) contiennent niveaux importants de bornéol qui présentent des activités répulsives et toxiques contre les insectes (Santos et coll., 2010).

Peu d'informations sont disponibles dans la littérature scientifique concernant le mode d'action moléculaire sous-jacent à la détection du bornéol par les insectes. Cependant, des recherches antérieures ont démontré que le bornéol, ainsi que d'autres monoterpénoïdes, induisaient une répulsion médiée chez *Aedes aegypti* (Andreazza et *al.*, 2023 ; Liu et *al.*, 2021).

Aussi, et afin de préciser l'efficacité de borneol, nous nous proposons de tester, et évaluer leur effet, chez un Diptère de référence en biologie qui est *Drosophila melanogaster* (Diptera) (Meigen, 1830). *D. melanogaster*, communément appelée mouche du vinaigre, est un modèle de choix du fait du séquençage de la quasi-totalité de son génome (Alberts et *al.*, 1999) et représente l'organisme modèle le mieux étudié à l'heure actuelle, en particulier dans les domaines liés à la toxicité, la résistance ou la génétique (Traqui & Demongot, 2003).

Dans ce sens, ce travail a pour objet de :

- Évaluer la toxicité du borneol, testé par application topique, sur des larves du début du troisième stade larvaire (L3) de *D. melanogaster*. La détermination des doses létales ( $DL_{10}$ ,  $DL_{25}$ ,  $DL_{50}$  et  $DL_{90}$ ) et leurs intervalles de confiance respectifs a été réalisée à partir de la mortalité cumulée chez les stades immatures.
- Évaluer les effets sublétaux et létaux ( $DL_{25}$ ,  $DL_{50}$ ) du borneol sur le développement de l'insecte (durée de développement et pourcentage de pupaison et d'émergence).

*Matériel et  
Méthodes*

### 2.1.1 Présentation du matériel biologique

*Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830), est un insecte appartenant à l'ordre des Diptères appelée communément « mouche du vinaigre », pour son attirance envers les produits fermentés (Tracqui *et al.*, 2003). Cette espèce sert de système modèle pour l'étude de nombreux processus cellulaires, développementaux et physiologiques (Gerin *et al.*, 2015), en raison de la combinaison d'un système génétique facile à manipuler, d'un cycle de vie court et d'une complexité biologique comparable à celle d'un mammifère (Athanasiu *et al.*, 2006). C'est un organisme hygrophile, et holométabole (Colombani *et al.*, 2006), d'origine tropicale, qui a subi une répartition globale probablement à cause des activités humaines, et dont l'abondance est corrélée au niveau d'urbanisation des régions (Avondet *et al.*, 2003 ; Keller, 2007).



**Figure 1.** *D. melanogaster* (Sturtevant, 1921).

### 2.1.2 Taxonomie

Actuellement, le genre *Drosophila* est considéré comme un groupe paraphylétique. Le genre entier, cependant, contient plus de 1500 espèces, dont l'apparence, le comportement, l'habitat et la reproduction sont très divers (Markow, 2005, Perveen, 2018). Cependant, de nombreux membres de la famille des Drosophilidae sont classés en deux sous-genres, dans lesquels environ 1100 espèces appartiennent à *Drosophila* subgenera, en outre, environ 330 espèces appartiennent à *Sophophora* subgenera, y compris *Drosophila melanogaster* (Perveen, 2018).

Sa position systématique est la suivante :

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

### 2.1.3 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. 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. 2).

Les drosophiles présentent un dimorphisme sexuel (**Parvathi *et al.*, 2009**) et pour différencier les mâles et les femelles, plusieurs caractères peuvent être considérés :

**Taille de l'adulte :** ceci est la première et la plus fondamentale étape pour distinguer le sexe de la drosophile. Les mouches mâles plus petits que les mouches femelles (la femelle est environ 25 % plus grande que le mâle) (Fig. 2).

**Forme de l'extrémité de l'abdomen :** L'extrémité de l'abdomen chez les Femelles est allongée et un peu plus arrondie chez les mâles (Fig. 2).

**Marques sur l'abdomen :** Les mouches mâles ont des bandes noirs épaisses qui sont très foncés, tandis que les mouches femelles ont avoir des bandes sombres et claires alternées sur la partie arrière. (Fig. 2).

**Nombre des segments abdominaux :** Sur les mouches femelles : 8 segments, tandis que chez les mouches mâles : 5 segments.

**Organes sexuels :** 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. 2).

**Peignes sexuels :** Les mâles ont ce que l'on appelé peignes sexuels, une frange d'environ dix vaillants poiles noirs sur la face distale de la base de la patte avant. Ces poils sont absents chez les femelles. (Fig. 2).

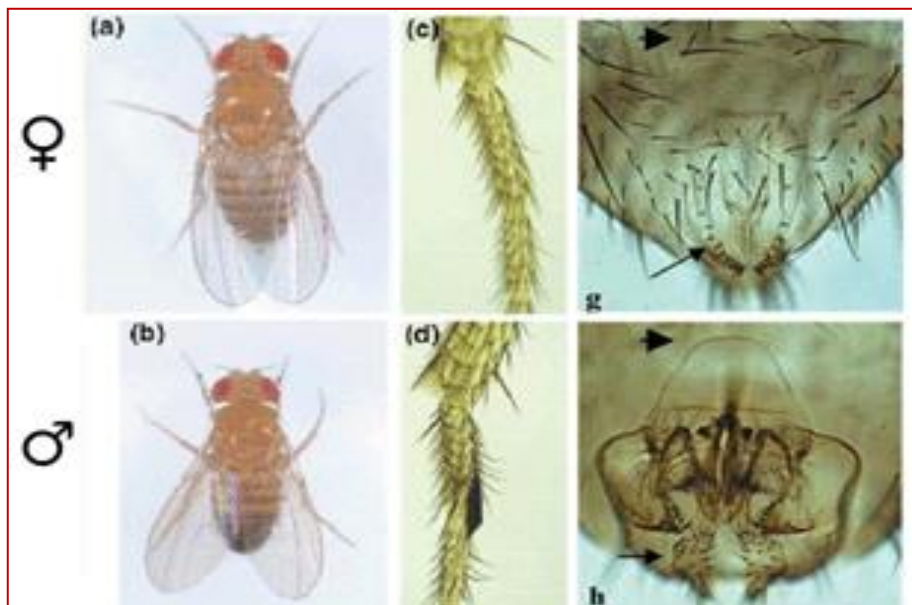


Figure 2. Dimorphisme sexuel chez *D. melanogaster* (Belote et Baker, 1982).

### 2.1.4 Cycle de développement de *D.melanogaster*

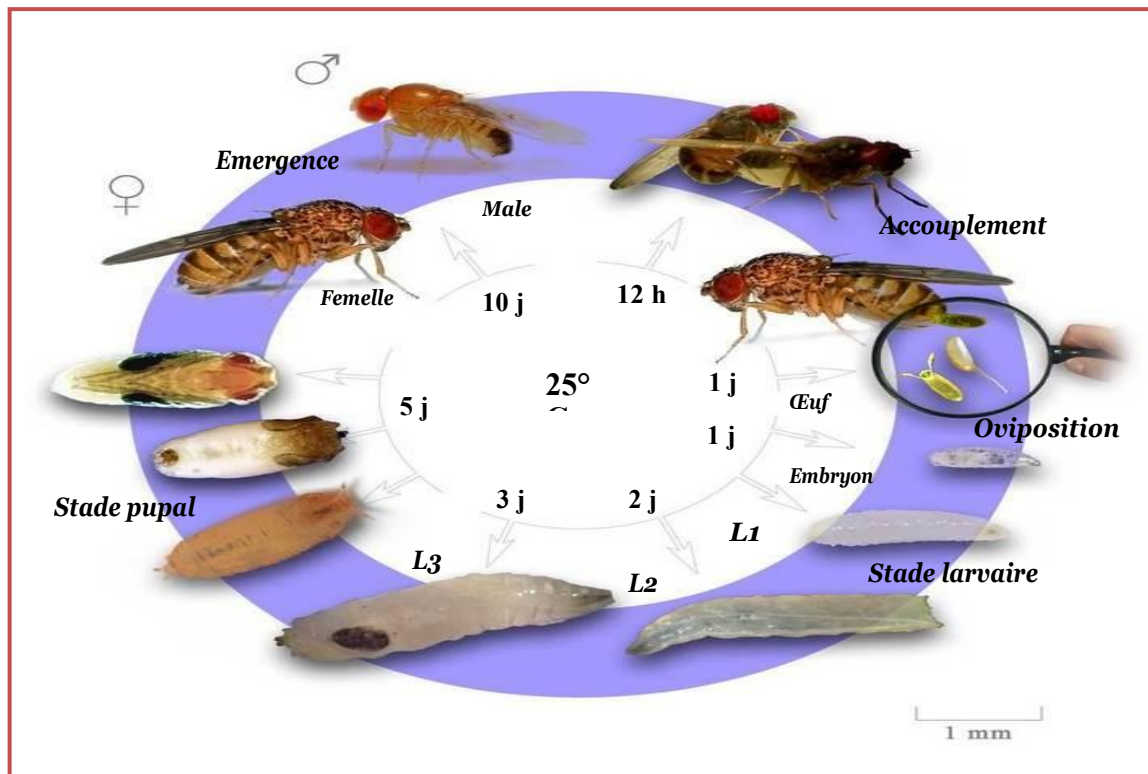
*D. melanogaster* est caractérisée par une reproduction très rapide (Griffiths *et al.*, 2002), se reproduit toute l'année, sans interruption. Au laboratoire, à une température de 25 °C, une nouvelle génération est obtenue tous les 12 jours ; ceci correspond en moyenne à 25 générations par ans (Griffiths *et al.*, 2002 ; Tavernier & Lizeaux, 2002). Son développement est indirect, ce qui signifie qu'elle subit une métamorphose complète au cours du stade nymphal, de telle manière que l'œuf éclot en une larve qui a une structure assez différente de l'adulte (Slack, 2004 ; Gilbert, 1996). Le cycle de vie comprend 4 stades :

**Œufs :** La femelle pond de 200 à 300 œufs (Goudey-Perrière & Perrière, 1974), sur la chair des fruits blessés (McCoy, 1962) allongés et blanchâtres (25 à 35 par jour), présentant une forme semblable à un ballon de rugby (0,5 mm de long environ). Elle est dépourvue de tête, acéphale et d'appendice locomoteur, apode. Cet asticot respire par de petits orifices, les stigmates, situés à l'arrière de son corps (Heusser & Dupuy, 2004 ; Wolpert, 2004).

**Stade larvaire :** Une trentaine d'heures après la ponte, les œufs donnent naissance à une larve blanchâtre appelée aussi « asticot ». Celle-ci se nourrit alors de la pulpe du fruit en creusant des galeries. Le stade larvaire, qui dure 4 jours environ, comprend 3 stades, L1 (24h), L2 (24h) et L3 (48h). A la fin de ce dernier stade, les larves cessent de s'alimenter, sortent du milieu nutritif et entame une phase d'errance. A son terme, les larves secrètent une glue et se fixent sur un support (Fig. 3).

**Stade pupal :** L'éversion des spiracles antérieurs 120 h après la ponte, définit le début du stade pré-pupal d'une durée de 12h. La dernière cuticule larvaire se tanne rapidement et dévient le puparium, où se déroule la métamorphose. La période pupale dure 3 jours et demi environ. À son terme, toutes les structures larvaires sont détruites et les structures adultes sont élaborées (Quinn *et al.*, 2012).

**Stade adulte :** A la fin du stade pupal, 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 & Lizeaux, 2002) (Fig. 3).



**Figure 3.** Cycle de vie de *D.melanogaster* (<http://zookeepers.livejournal.com/>).

### 2.1.5 Elevage en laboratoire

L'élevage de drosophiles s'effectue, en laboratoire, depuis le début du vingtième siècle, suite aux travaux pionniers de Sturtevant (1913) qui a établi la première cartographie génétique. 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).

L'élevage des drosophiles (souche canton S : souche de référence) en laboratoire est réalisé à une température de 25°C, une hygrométrie de 70% et une scotophase de 12 h. Les mouches sont élevées dans des flacons en plastique bouchés par un tampon de mousse contenant un milieu nutritif artificiel (Fig. 7) composé 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

Le mélange est porté à ébullition pendant 1 à 2 minutes en agitant sans arrêt pour ne pas accrocher au fond de la casserole. Après refroidissement on ajoute 20 ml d'antifongique. Le substrat doit être solide mais pas trop compact afin de faciliter l'évolution des larves (Fig. 4a) et ensuite il sera déversé dans des flacons en plastique à une hauteur de 2-3cm, qui seront bouchés par un tampon de mousse laissant passer l'air (Fig. 4b). Les mouches sont repiquées tous les 3-4 jours afin d'éviter les problèmes de compétition larvaire et fournir une progéniture suffisante (Fig.4c et d).

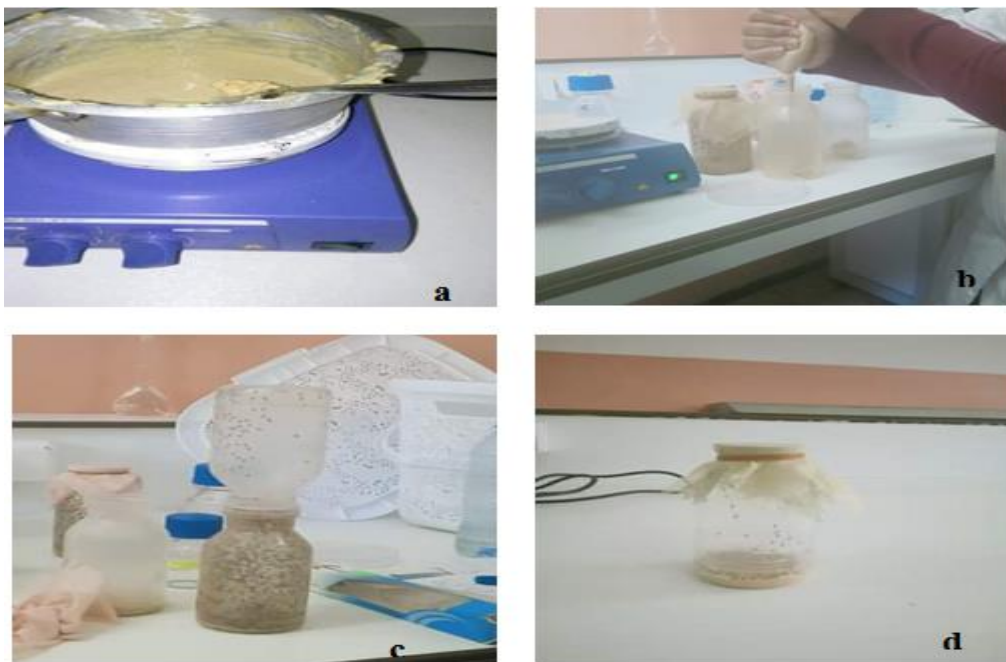
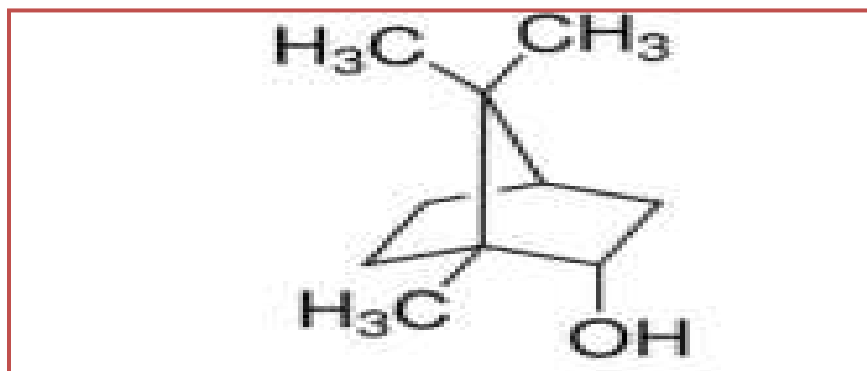


Figure 4. Elevage au laboratoire de *D. melanogaster* (photo personnelle)

## 2.2 Présentation de l'insecticide et traitement

### 2.2.1 Présentation de l'insecticide

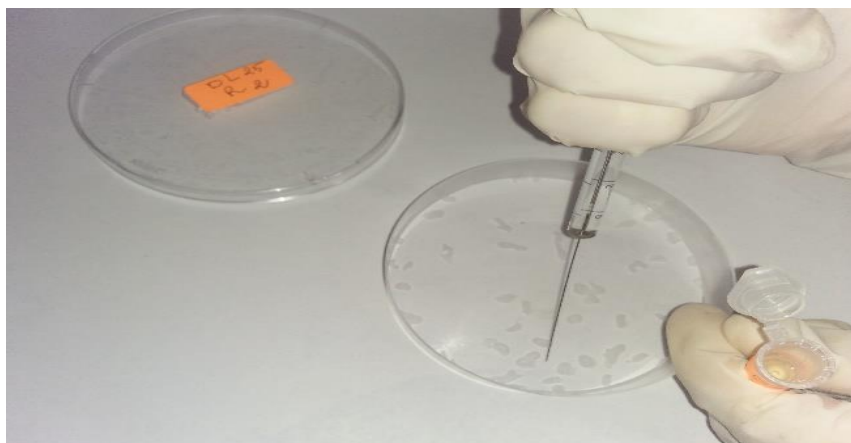
Le **bornéol** est un composé organique terpénique et bicyclique qui peut être extrait de plantes ou synthétisé chimiquement. Le bornéol synthétique est un bornéol racémique (un mélange avec du D-borneol et du L-borneol comme composants principaux) préparé par synthèse chimique de térébenthine et de camphre (Comité chinois de la pharmacopée, 2020) avec un poids moléculaire de 154,25 g/mol. Sa formule chimique est  $C_{10}H_{18}O$ . Le borneol correspond à un solide blanc avec une odeur parfumé.



**Figure 5.** Structure chimique de Bornéol synthétique.

### 2.2.2 Traitement des insectes

Le bornéol a été dissous dans l'acétone et administré par application topique (1 $\mu$ l), sur des larves du début du troisième stade larvaire (L3) de *D. melanogaster*. Dans le but de synchroniser l'élevage et d'obtenir des larves de même âge, des adultes mâles et femelles, âgés de 4 à 5 jours, sont prélevés dans l'élevage de masse puis mis à pondre dans un tube contenant du milieu frais pendant 4 h. Les adultes sont alors retirés et les tubes sont maintenus dans les conditions standards (voir section élevage au laboratoire) pendant 4 jours (Fougeron, 2011). Les larves ainsi obtenues seront alors au début du dernier stade larvaire (L3).



**Figure 6.** Traitement des larves L3 (photo personnelle).

### 2.2.3 Bioessai

Après un screening préalable, l'insecticide a été testé à différentes doses (10 ; 25 ; 50 ; 100 ; et 200  $\mu$ g/larve). Cinq répétitions de 20 insectes chacune ont été réalisées pour chaque dose. Une série témoin est conduite en parallèle et les individus reçoivent 1  $\mu$ l de solvant (acétone).

La mortalité a été enregistrée quotidiennement jusqu'à l'émergence des adultes et évaluée à partir de la mortalité cumulée des stades immatures (larves mortes, pupes mortes, mues bloquées et

incomplètes). La mortalité observée des stades immatures a été corrigée selon la formule d'Abbott (1925) afin d'éliminer la mortalité naturelle. Les pourcentages de mortalités corrigées subissent une transformation angulaire selon les tables de Bliss (1938) *in* Fisher & Yates (1957). Les données ainsi normalisées font l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification et un classement des doses par le test HSD de Tukey. Enfin, la régression non linéaire exprimant le pourcentage de la mortalité corrigée en fonction du logarithme de la dose a permis d'estimer les doses létales (DL<sub>10</sub>, DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub> et DL<sub>90</sub>) ainsi que leurs intervalles de confiance (95 % IC).

#### **2.2.4 Effet de bornéol sur le développement**

##### **2.4.1. Pourcentage de pupaison et d'émergence**

Les effets de borneol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>), administré par application topique aux larves du début du dernier stade larvaire (L3), ont été évalués sur le pourcentage de pupaison et d'émergence des adultes par un comptage direct des pupes et des adultes obtenus. Cinq répétitions de 20 insectes chacune ont été utilisés pour chaque série.

##### **2.4.2. Durée du développement**

La durée de développement des stades larvaire et pupal a été évaluée sur des séries témoins et traitées (DL<sub>25</sub> et DL<sub>50</sub>). Les larves et les pupes ont été observées à intervalle de 4 h jusqu'à la pupaison ou l'émergence des adultes. 40 répétitions ont été utilisées pour chaque série.

##### **2.2.5 Analyse statistique**

Les moyennes  $\pm$  SEM sont calculées pour chaque groupe d'expérience. L'égalité des variances a été confirmée grâce aux tests de Bartlett et de Brown-Forsythe avant l'utilisation de l'analyse de la variance.

Une régression non linéaire utilisant une courbe dose réponse sigmoïdale exprimant le pourcentage des mortalités enregistrées en fonction des logarithmes des doses a permis d'estimer les différentes doses létales (Sadeghi *et al.*, 2009).

L'analyse de la variance (un et deux critères de classification) suivie du test HSD (Honest Significant Difference) de Tukey est utilisée pour traiter les résultats concernant, les pourcentages de pupaison et d'émergence et la durée de développement. 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](http://www.Graphpad.com)).

*Résultats*

### 3.1. Toxicité de Bornéol chez les stades immatures

Le bornéol a été testé par application topique sur les larves L3 du début de stade à des doses variant de 10 à 200 µg/larve. Les mortalités enregistrées au cours des tests de toxicité varient de  $14,83 \pm 0,32\%$  à la dose la plus faible (0,1 µg) à  $85,30 \pm 2,80\%$  à la dose la plus forte (2 µg) (Tableau 1). La mortalité naturelle enregistrée chez les séries témoins est de  $5 \pm 1,87\%$ . Les résultats montrent une mortalité plus importante du stade pupale traduisant une plus grande sensibilité de ce stade à l'action de bornéol (Tableau 2).

L'analyse de la variance à un critère de classification effectuée après transformation angulaire des pourcentages de mortalité révèle une différence hautement significative ( $p < 0,001$ ) (Tableau 3) entre les doses utilisées. Le classement des doses par le test HSD de Tukey révèle l'existence de 5 groupes (Fig. 11).

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme de la dose appliquée (Fig. 12) a permis l'estimation des valeurs des différentes doses létales (DL) ainsi que leurs intervalles de confiance et le Hill Slope (Tableau 4).

**Tableau 1** : Toxicité de bornéol (µg/insecte), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* : Mortalité corrigée (%) des stades immatures ( $m \pm SEM$ ,  $n= 4$  répétitions de 20 individus chacune).

Dose (µg/insecte)	10	25	50	100	200
<b>R1</b>	10,52	21,05	36,84	52,63	73,68
<b>R2</b>	15,78	31,57	42,10	57,89	78,94
<b>R3</b>	5,26	21,05	36,84	63,15	84,21
<b>R4</b>	10,52	26,03	47,36	57,89	89,47
<b>R5</b>	15,78	26,31	42,10	68,42	84,21
<b>m ± SEM</b>	<b>11,57±1,96</b>	<b>25,26±1,96</b>	<b>41,05±1,96</b>	<b>60,00±2,68</b>	<b>82,10±2,68</b>

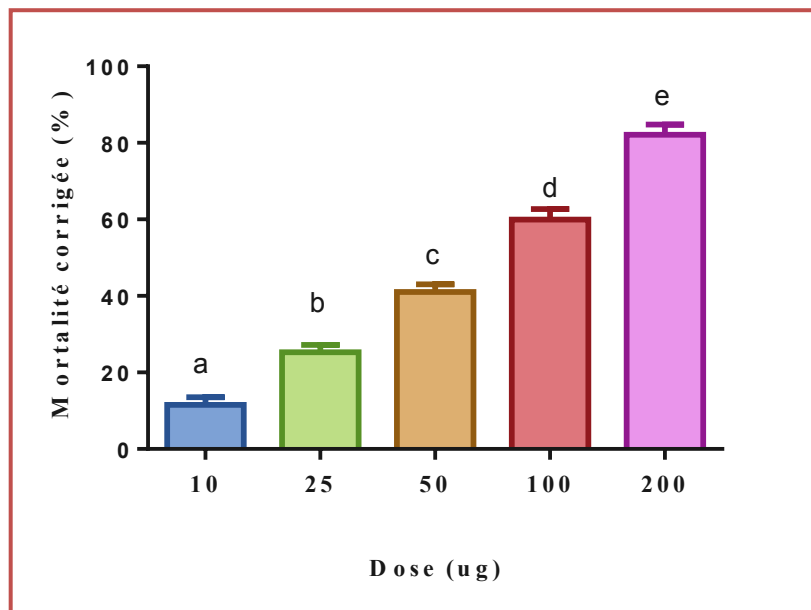
**TABLEAU 2** : Effets de bornéol, administré par application topique à différentes doses (µg/insecte) sur les pourcentages de mortalité et les pourcentages d'émergence de *D. melanogaster*. (\*) Le pourcentage d'adultes morts représente les mues bloquées et incomplètes.

Doses	% de la mortalité			% Emergence
	% de la mortalité totale	% de la mortalité/ stade de développement		
Témoins	5%	Larves	5%	95%
		pupes	0%	
		adultes	0%	
10 µg/µl	20%	Larves	10%	80%
		pupes	10%	
		adultes	0%	
25 µg/µl	30%	Larves	15%	70%
		pupes	10%	
		adultes	5%	
50 µg/µl	50%	Larves	45%	50%
		pupes	5%	
		adultes	0%	
100 µg/µl	65%	Larves	55%	35%
		pupes	5%	
		adultes	5%	
200 µg/µl	85%	Larves	70%	15%
		pupes	10%	
		adultes	5%	

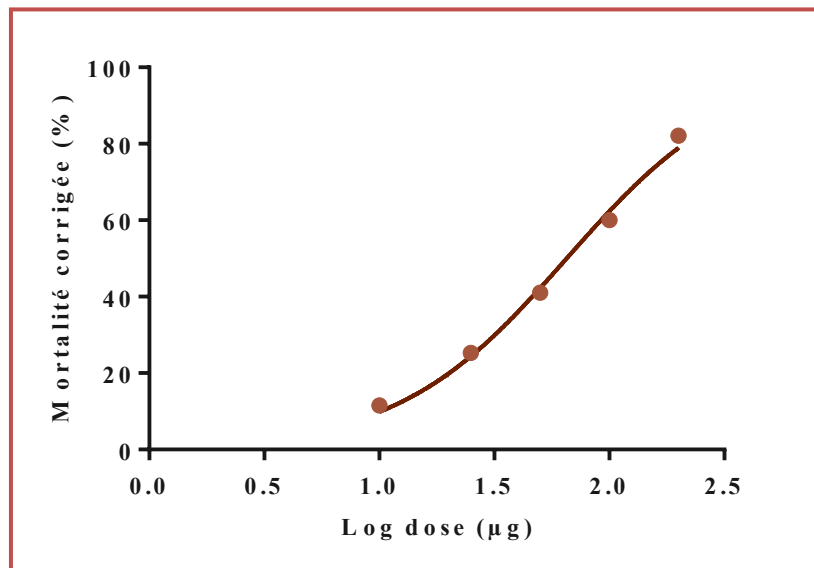
**TABLEAU 3.** Toxicité de bornéol (µg/insecte), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* : Mortalité corrigée (%) des stades immatures ( $m \pm SEM$ ,  $n=5$  répétitions de 20 individus chacune) : Analyse de la variance à un critère de classification après transformation angulaire des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	ddl	CM	Fobs	P
Traitement	15596	4	3899	149,8	0,0001***
Erreur résiduelle	520	20	26,03		
Total	16116	24			

\*\*\* différence hautement significative ( $p < 0,001$ ). SCE: somme des carrés des écarts; ddl: degré de liberté ; CM: carré moyen; Fobs: F observé; p: niveau de signification.



**Figure 7.** Toxicité de bornéol ( $\mu\text{g}/\text{insecte}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* : Mortalité corrigée (%) des stades immatures ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=4$  répétitions de 15 individus chacune). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de Tukey.



**Figure 8.** Effets de bornéol, administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée chez les stades immatures en fonction du logarithme de la dose.  $R^2= 99\%$ .

**TABLEAU 4.** Toxicité de bornéol ( $\mu\text{g}/\text{insecte}$ ), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* : Détermination des doses létales chez les stades immatures et leurs intervalles de confiance (95%).

	Valeur ( $\mu\text{g}$ )	Intervalle de confiance	Erreur standard
<b>DL<sub>10</sub></b>	10,11	[06,62 – 15,44]	
<b>DL<sub>25</sub></b>	25,69	[19,98 – 33,01]	
<b>DL<sub>50</sub></b>	65,23	[55,33 – 76,89]	
<b>DL<sub>90</sub></b>	420,7	[270,4 – 654,6]	
<b>Hill slope</b>	1,17	[0,92 – 1,43]	0,17

## 3.2. Effets de bornéol sur le développement

### 3.2.1. Effets de bornéol sur le pourcentage de pupaison et d'émergence

L'effet de bornéol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>) administré par application topique chez les larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* réduit significativement le pourcentage de pupaison et d'émergence (Fig. 13 et 14). Une diminution dans le pourcentage de pupaison est également enregistrée au deux doses testées ( $p < 0,001$ ) et ce avec un effet dose-réponse ( $p < 0,001$ ) (Tableau 5). Les valeurs

moyennes enregistrées sont de  $95 \pm 1,58\%$  pour les témoins,  $81 \pm 1,87\%$  pour la DL<sub>25</sub>, et  $61 \pm 1,87\%$  pour la DL<sub>50</sub> (Fig. 13).

Le bornéol (DL<sub>25</sub> et DL<sub>50</sub>) réduit également le pourcentage d'émergence des adultes de *D. melanogaster* comparativement aux témoins ( $p < 0,001$ ) et ce avec un effet dose-réponse ( $p < 0,001$ ) (Tableau 6). Les valeurs moyennes sont de  $95 \pm 1,57\%$  pour les témoins,  $59 \pm 1,87\%$  pour la DL<sub>25</sub>, et  $49 \pm 2,23\%$  pour la DL<sub>50</sub> (Fig. 14).

**TABLEAU 5.** Effets de bornéol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* sur le pourcentage de pupaison, ( $m \pm SEM$ ,  $n = 5$  répétitions de 20 individus chacune). Analyse de la variance à un critère de classification.

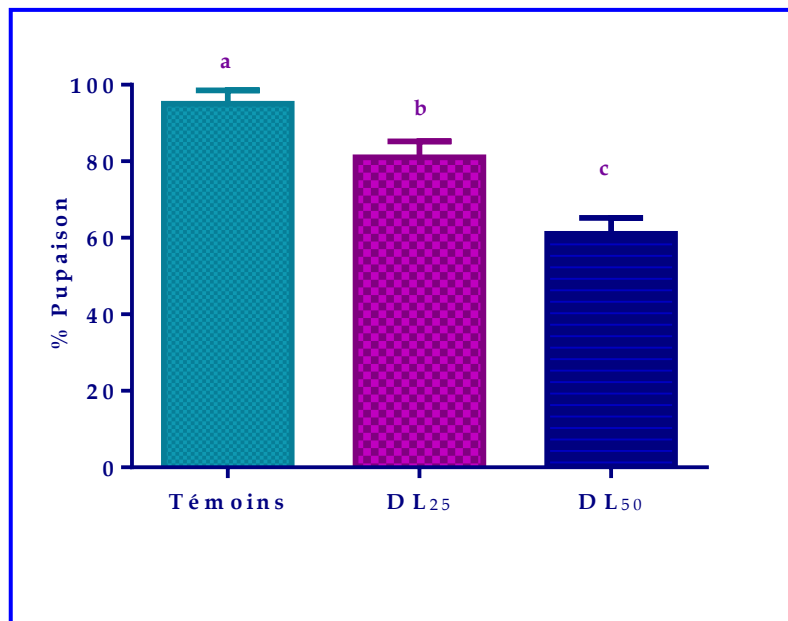
Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P
Traitement	2920	2	1460	92.21	0,001***
Erreur résiduelle	190.0	12	15,83		
Total	3110	14			

\*\*\* différence hautement significative ( $p < 0,001$ ). SCE : somme des carrés des écarts ; ddl : degré de liberté ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de signification.

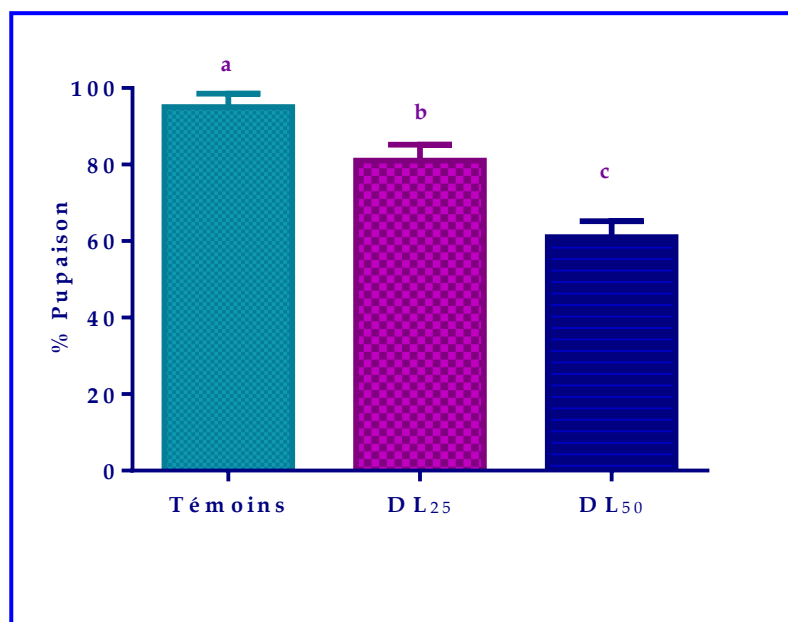
**TABLEAU 6.** Effets de bornéol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* sur le pourcentage d'émergence, ( $m \pm SEM$ ,  $n = 5$  répétitions de 20 individus chacune). Analyse de la variance à un critère de classification.

Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P
Traitement	6653	2	3327	181.5	0,001***
Erreur résiduelle	220	12	18.33		
Total	6873	14			

\*\*\* différence hautement significative ( $p < 0,001$ ). SCE: somme des carrés des écarts; ddl: degré de liberté ; CM: carré moyen; Fobs: F observé; p: niveau de signification.



**Figure 9.** Effets de bornéol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* sur le pourcentage de pupaison, ( $m \pm SEM$ ,  $n=5$  répétitions de 20 individus chacune). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).



**Figure 10.** Effets du bornéol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* sur le pourcentage de l'émergence, ( $m \pm SEM$ ,  $n=5$  répétitions de 20 individus chacune). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

### 3.2.2. Effets de bornéol sur la durée de développement

Le bornéol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>) administré par application topique chez les larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* augmente significativement la durée de développement des stades larvaire et pupal (Fig. 16 et 17). En effet la durée de développement du stade L3 varie avec une relation dose-réponse ( $p < 0,001$ ) (Tableau 7), les valeurs moyennes enregistrées sont de  $55,25 \pm 1,01$  h pour la DL<sub>25</sub> et  $64,65 \pm 1,70$  h pour la DL<sub>50</sub> contre des valeurs témoins de  $43,25 \pm 0,73$  h. Le bornéol induit donc un prolongement du stade larvaire d'environ 12 h pour la DL<sub>25</sub> et 21 h pour la DL<sub>50</sub> (Fig. 16).

Une augmentation de la durée du stade pupal est également enregistrée au deux doses testées ( $p < 0,001$ ) et ce avec un effet dose-réponse ( $p = 0,01$ ) (Tableau 8). Les valeurs moyennes sont de  $151,6 \pm 0,58$  h pour les témoins,  $161,5 \pm 1,20$  h pour la DL<sub>25</sub>, et  $169,4 \pm 1,46$  h pour la DL<sub>50</sub> (Fig. 17).

**TABLEAU 7.** Effets de bornéol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* sur la durée de développement (h) de stade larvaire, ( $m \pm$  SEM,  $n= 40$ ). Analyse de la variance à un critère de classification.

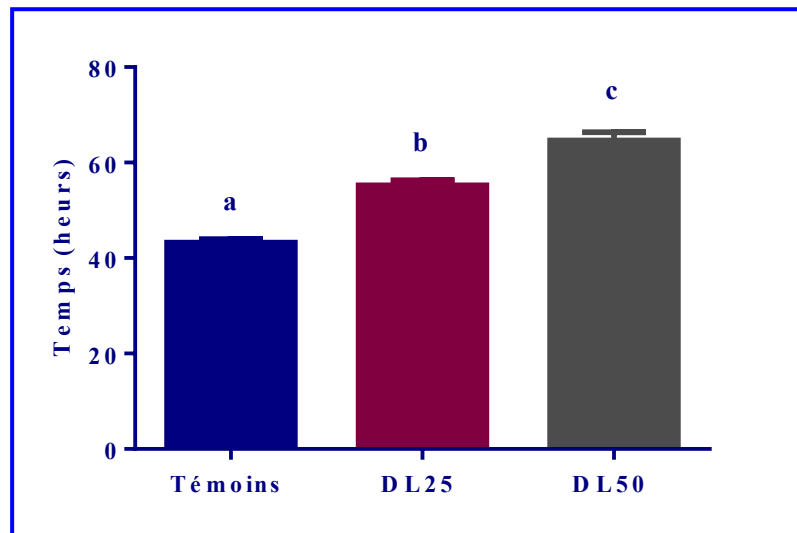
Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P
Traitement	9204	2	4602	76,94	0,001***
Erreur résiduelle	6998	117	59,81		
Total	16202	119			

\*\*\* différence hautement significative ( $p < 0,001$ ). SCE : somme des carrés des écarts ; ddl : degré de liberté ; CM: carré moyen ; Fobs : F observé; p: niveau de signification.

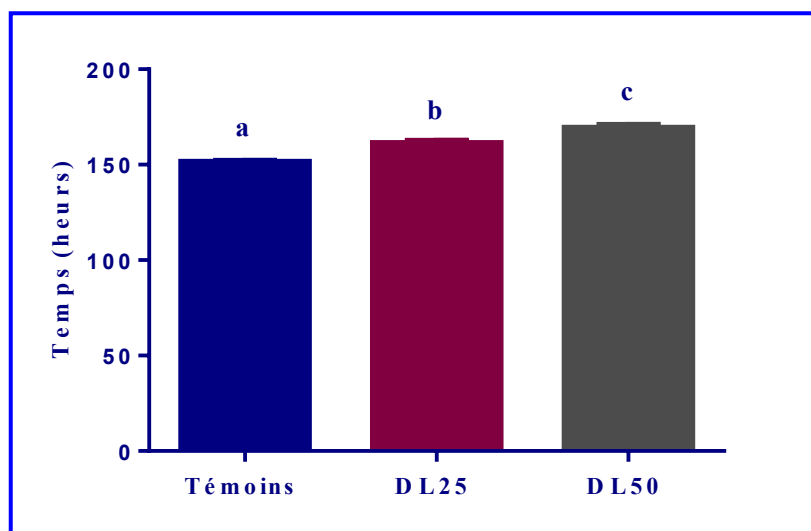
**TABLEAU 8.** Effets de bornéol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* sur la durée de développement (h) des stades pupal, ( $m \pm$  SEM,  $n= 30$ ). Analyse de la variance à un critère de classification.

Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P
Traitement	6398	2	3199	60,55	0,001***
Erreur résiduelle	6181	117	52,83		
Total	12579	119			

\*\*\* différence hautement significative ( $p < 0,001$ ). SCE : somme des carrés des écarts ; ddl : degré de liberté ; CM : carré moyen ; Fobs : F observé ; p : niveau de signification.



**Figure 11.** Effets de bornéol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* sur la durée de développement (h) des stades larvaires, ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=40$ ). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).



**Figure 12.** Effets de bornéol (DL<sub>25</sub>, DL<sub>50</sub>), administré par application topique aux larves du début de stade L3 de *D. melanogaster* sur la durée de développement (h) des stades pupal, ( $m \pm \text{SEM}$ ,  $n=40$ ). Les moyennes suivies d'une même lettre ne sont pas significativement différentes ( $p > 0,05$ ).

# *Discussion*

#### 4.1. Toxicité de bornéol à l'égard de *D. melanogaster* et effets sur le développement

Les monoterpénoïdes font partie des composés bioactifs les plus importants dans la recherche sur les huiles essentielles. Concernant le développement de nouveaux insecticides, ils ont été signalés comme efficaces contre une grande variété d'espèces d'importance médicale, vétérinaire et agricole, soulignant leur efficacité en tant qu'ovicides, larvicides et même adulticides [21, 22, 23, 26, 27], sont souvent considérés parmi les bio-insecticides les plus importants dans la gestion respectueuse de l'environnement des insectes nuisibles sans affecter la santé humaine (Dambolena *et al.*, 2016). La présente étude a mis en évidence l'effet toxique ou l'efficacité insecticide d'un monoterpène bicyclique le bornéol sur un modèle de référence *D. melanogaster*. À notre connaissance, peu de données ont été rapportées sur cette molécule comme insecticide contre les diptères.

Dans la présente étude, le bornéol a été testée par application topique sur les larves L3 du début de stade de *D. melanogaster*. Les résultats montrent une augmentation des pourcentages de mortalité des stades immatures avec une relation dose-réponse. La transition larve-pupe est affectée par le traitement et le stade pupal semble être le stade le plus sensible conduisant à une inhibition de la mue adulte.

Nos résultats sont en accord avec ceux de Nesterkina *et al.* (2023), qui révèlent une mortalité plus importante, aux terpénoïdes monocycliques, du stade larvaire et stade pupale chez *D. melanogaster*. Des résultats similaires ont été rapportés par Youssefi *et al.* (2019) chez les moustiques *Cx. pipiens*, traités au carvacrol et thymol, avec des taux de mortalité plus élevés chez les larves du quatrième stade.

En effet, la réduction des pourcentages de pupaison et d'émergence sous l'effet de monoterpènes a été rapportée chez différents insectes tels que *A. aegypti* (Carvalho *et al.*, 2003); *Ochlerotatus caspius* (Knio *et al.*, 2008); *Anopheles stephensi* (Pandey *et al.*, 2009); *Culex quinquefasciatus* et *Culex tritaeniorhynchus* (Govindarajan *et al.*, 2016) affectant ainsi leur cycle vie.

Ces résultats peuvent être expliqués par le fait que les monoterpènes induit des altérations morphogénétiques de l'insecte conduisant à une inhibition de l'émergence des adultes. En effet, chez les insectes holométaboles, le stade pupal subit un remodelage drastique des tissus et des organes et représente donc une phase critique pour la formation des adultes (Ureña *et al.*, 2014).

Les processus de croissance et de développement chez les insectes sont rythmés par différentes mues. Les mues de croissance permettant à la larve d'augmenter sa taille et des mues de

métamorphose induisant de nombreux changements morphologiques aboutissant à l'imago. Ces différentes étapes sont régulées par deux hormones principales qui agissent en coordination : l'ecdysone, hormone stéroïdienne de mue (active sous forme de 20-hydroxyecdysone, 20E) et l'hormone juvénile (HJ) (Dhadialla *et al.*, 1998).

Chez les insectes, la biosynthèse et la sécrétion des ecdystéroïdes sont assurées par les glandes prothoraciques, au cours des stades post-embryonnaires, sous l'effet d'une neurohormone prothoracicotrope (PPTH) (Gäde & Hoffmann, 2005). L'ecdysone, libéré dans l'hémolymphe, est rapidement converti en 20-hydroxyecdysone (20E) dans les différents organes périphériques (Marchal *et al.*, 2010). La 20E contrôle l'embryogénèse mais aussi le développement post-embryonnaire en initiant les différentes mues, et ce en agissant sur l'expression de gènes spécifiques *via* sa liaison aux récepteurs nucléaires des ecdystéroïdes (EcR) (Kozlova & Thummel, 2003). Chez la *Drosophile*, des pics de sécrétion de la 20 E sont observés après 12 h du début de l'embryogénèse, avant chaque mue larvaire, avant le passage au stade pupal et durant la phase terminale de la différenciation des structures adultes.

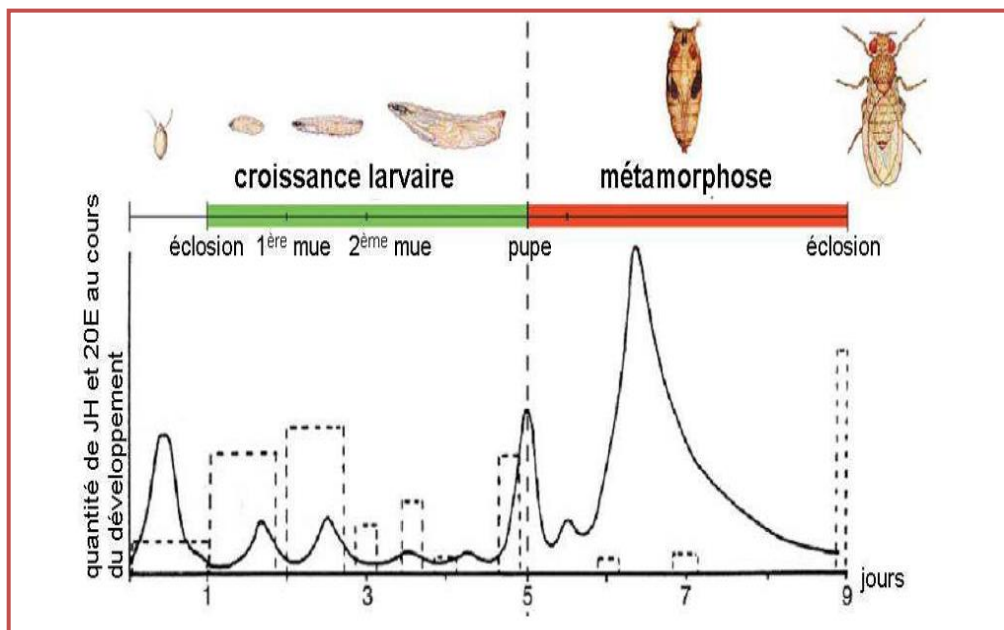
La PPTH est exprimée au cours du troisième stade larvaire de manière cyclique toutes les 8 h; avec un pic important environ 12 h avant la fin du 3<sup>ème</sup> stade larvaire qui déclenche la formation du puparium et le début de la phase prépupal. Douze heures plus tard, un pic d'hormone plus modeste met fin au stade prépupal et déclenche la pupaison. Le stade pupal se caractérise par le pic d'hormone le plus important, corrélé au développement des structures adultes (Quinn *et al.*, 2012).

Les corps allates (*corpora allatum*) sont à l'origine de la biosynthèse de l'hormone juvénile (HJ) dont la sécrétion est régulée par des neuropeptides activateurs, allatotropines ou inhibiteurs, allatostatines (Bellés & Maestro, 2005). L'HJ libérée dans l'hémolymphe est transportée vers les tissus cibles grâce à des protéines vectrices (JH-binding proteins) qui la protègent contre les actions des hydrolases (Cassier *et al.*, 1997). L'hormone juvénile joue un rôle important dans le développement où elle maintient les caractères larvaires et inhibe la métamorphose (Cassier *et al.*, 1997). Chez la *drosophile*, les taux d'HJ sont élevés au cours des premiers stades de développement, décroissent au dernier stade larvaire pour atteindre des quantités infimes lors du stade pupal; les taux d'HJ enregistrent un pic à l'émergence adulte nécessaire au démarrage de la vitellogenèse (Koslova & Thummel, 2000; Dubrovsky, 2005).

Selon le dogme classique de l'endocrinologie des insectes, l'équilibre entre ces deux hormones définit la transition de chaque phase du développement (Dubrovsky, 2005). En effet, les différentes mues sont initiées par la 20E ; tandis que la nature de la mue est déterminée par les taux d'HJ: des taux élevés d'HJ sont nécessaires au cours des mues larvaires; la métamorphose à lieu aux taux bas d'HJ observés en fin de dernier stade larvaire (Dubrovsky, 2005). Il est donc admis que

toute interférence dans l'homéostasie de ces deux hormones, avec des sources exogènes d'hormones ou avec des agonistes ou antagonistes, peut conduire à une perturbation du développement de l'insecte (Dhadialla *et al.*, 2005 ; 2010 ; Smaghe *et al.*, 2012).

Nos résultats révèlent que le bornéol (DL<sub>25</sub> et DL<sub>50</sub>), prolonge également la durée de développement des stades larvaire (L3) et pupal, comparativement aux témoins, provoquant ainsi un retard considérable dans les transitions larve-pupe et pupe-adulte. Le prolongement de la durée des stades larvaire et pupal a été également rapporté chez *Culex pipiens* traité aux terpénoides (Youssefi *et al.* 2019). Un retard dans la formation du puparium a été rapporté par Nesterkina *et al.* (2023) après traitement des larves du troisième stade de *D. melanogaster* à la carvone et du thymol. Pour certains terpènes, un mécanisme d'action particulier est souligné, consistant en l'inhibition des hormones juvéniles qui coordonnent les métamorphoses larve-pupe et pupe-adulte (Kayukawa *et al.*, 2017). Ce retard serait corrélé à une modification de l'expression des gènes contrôlant la régulation hormonale (Lai *et al.*, 2014) ce qui pourrait expliquer les différentes perturbations du développement observées au cours de nos expérimentations.



**FIGURE 13.** Variation des taux de 20-hydroxyecdysone (20E) et d'hormone juvénile (JH) durant le développement de *D. melanogaster*. 20E : ligne pleine, JH : ligne en pointillé (D'après Dubrovsky, 2005).

Les différents effets observés après traitement des larves L3 de *D. melanogaster* avec le bornéol peuvent être attribués à son effet perturbateur de croissance des insectes (IGDs) *via* une perturbation de l'équilibre hormonal (20E, HJ). En effet, ce composé est connu pour induire une dégénérescence des noyaux cellulaires dans les différentes glandes endocrines (glandes

prothoraciques, *copora allatum* et *copora cardiacum*), responsables du contrôle des processus de mues et de métamorphoses chez les insectes, ce qui pourrait contribuer à une généralisation de la perturbation des fonctions neuroendocrines (Mordue *et al.*, 2010). De plus, différentes études ont rapporté une inhibition de la synthèse des ecdystéroïdes sous l'effet des monoterpènes (Min-Li & Shin-Foon, 1987 ; Feder *et al.*, 1988). Cette inhibition de la synthèse et de la libération des ecdystéroïdes par les glandes prothoraciques peut être le résultat d'une action spécifique de l'azadirachtine sur la libération de l'hormone prothoracicotrope (PTTH) (Mordue *et al.*, 2005).

Les monoterpènes peuvent également affecter directement la production de l'enzyme responsable de la conversion de l'ecdysone (E) en 20E au niveau du corps gras et de l'intestin moyen (Kayukawa *et al.*, 2017).

En effet, ce sont les modifications des taux d'ecdystéroïdes hémolymphatiques sous l'effet des monoterpènes qui contribuent en large partie à son effet IGDs. La réduction des taux d'HJ, probablement liée à une altération de la sécrétion des neuropeptides (allatostatine et allatotropine) responsables de la synthèse et de la libération de l'HJ, a également été rapportée (Kayukawa *et al.*, 2017). De plus, la synthèse de pigment est également influencée par l'HJ, les ecdystéroïdes et différentes neurohormones (Raabe, 1989). L'action antimitotique de monoterpènes peut également affecter la formation de nouveaux organes adultes au cours de la métamorphose de *D. melanogaster* (Anuradha *et al.*, 2007). Ceci, pourrait expliquer certaines aberrations morphologiques notées au cours de nos résultats tels que la malformation des ailes.

*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 bornéol, monoterpène bicyclique, administré par application topique, sur le développement de l'insecte.

Les bioessais réalisés révèlent une toxicité de bornéol ; les doses sublétales et létales ( $DL_{25} = 25,69$  ;  $DL_{50} = 65,23$   $\mu\text{g/larve}$ ), ont été estimées à partir de la courbe dose-réponse et sont utilisées pour le reste des expérimentations.

Le bornéol entraîne perturbe le développement de l'insecte, L'insecticide réduit le pourcentage de pupaison et d'émergence, en plus il augmente la durée de développement des stades larvaire et pupal pour les deux doses testées.

L'exposition précoce (L3) au bornéol perturbe le développement chez *D. melanogaster*, cette perturbation peut s'expliquer par l'effet antagoniste des monoterpènes sur la 20 hydroxecdysone et l'hormone juvénile. Nous avons pu montrer qu'une expérience sensorielle précoce avec le bornéol peu influencer certains traits de vie majeurs comme : la morphologie et la survie des adultes

Ces résultats suggèrent que le bornéol pourrait donc être utilisé dans le contrôle des insectes nuisibles, et ce dans le cadre des programmes de lutte intégrée.

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

- Analyse de la survie des adultes de la première génération (F1).
- Évaluation de la fécondité des adultes de la première génération (F1).
- Suivi du développement sur un milieu contenant de le bornéol.

*Références  
Bibliographiques*

- AMER, Abdelkrim; MEHLHORN, Heinz.** Larvicidal effects of various essential oils against *Aedes*, *Anopheles*, and *Culex* larvae (Diptera, Culicidae). *Parasitology research*, 2006, 99: 466-472.
- Anuradha, C. V., & Priyadarsini, K. I. (2007).** In vitro studies on antiradical and antioxidant activities of fenugreek (*Trigonella foenum-graecum*) seeds. *Food chemistry*, 103(1), 31-37.
- ANDREAZZA, Felipe; VALBON, Wilson; DONG, Ke.** Transfluthrin enhances odorant receptor-mediated spatial repellency in *Aedes aegypti*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 2023, 192: 105387.
- BELLIART-GUERIN, Ghislain.** Etude du rappel des Mémoires à Long Terme chez *Drosophila melanogaster*. 2015. PhD Thesis. Université Pierre et Marie Curie-Paris VI.
- BAKKALI, Fadil, et al.** Biological effects of essential oils—a review. *Food and chemical toxicology*, 2008, 46.2: 446-475.
- BHATIA, V. S., et al.** Analysis of potential yields and yield gaps of rainfed soybean in India using CROPGRO-Soybean model. *Agricultural and forest meteorology*, 2008, 148.8-9: 1252-1265.
- BLENAU, Wolfgang; THAMM, Markus.** Distribution of serotonin (5-HT) and its receptors in the insect brain with focus on the mushroom bodies. Lessons from *Drosophila melanogaster* and *Apis mellifera*. *Arthropod structure & development*, 2011, 40.5: 381-394.
- Casida, J.E. & Durkin, K.A. 2013.** Neuroactive insecticides: targets, selectivity, resistance, and secondary effects. *Annu Rev Entomol.* 58 : 99-117.
- Carvalho, M. H., & Zugaib, M. (2003).** Prophylactic administration of progesterone by vaginal suppository to reduce the incidence of spontaneous preterm birth in women at increased risk: a randomized placebo-controlled double-blind study. *American journal of obstetrics and gynecology*, 188(2), 419-424.
- Cassier, M. (1997).** Compromis institutionnels et hybridations entre recherche publique et recherche privée. *Revue d'économie industrielle*, 79(1), 191-212.
- Chen, Y., Fay, S., & Wang, Q. (2011).** The role of marketing in social media: How online consumer reviews evolve. *Journal of interactive marketing*, 25(2), 85-94.
- Chandler, D., Bailey, A. S., Tatchell, G. M., Davidson, G., Greaves, J., Grant, W. P. 2011.** The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B.* 366(1573): 1987-1998.
- 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.

- DAMBOLENA, José S., et al.** Terpenes: Natural products for controlling insects of importance to human health—A structure-activity relationship study. *Psyche: A Journal of Entomology*, 2016, 2016: 1-17.
- Deravel, J., Krier, F., Jacques, Ph. 2014.** Les biopesticides, alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **18(2)** : 220-232. Doi:
- Dhadialla, T. S., Carlson, G. R., & Le, D. P. (1998).** New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Annual review of entomology*, *43(1)*, 545-569.
- Dubrovsky, E. B. (2005).** Hormonal cross talk in insect development. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, *16(1)*, 6-11.
- DYKA, Zoya, et al.** Inherent resistance of efficient ECC designs against SCA attacks. In: 2016 8th IFIP International Conference on New Technologies, Mobility and Security (NTMS). IEEE, 2016. p. 1-5.
- EDWARDS, J. P.; MENN, J. J.** The use of juvenoids in insect pest management. In: *Insektizide· Bakterizide· Oomyceten-Fungizide/Biochemische und biologische Methoden· Naturstoffe/Insecticides· Bactericides· Oomycete Fungicides/Biochemical and Biological Methods· Natural Products*. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1981. p. 185-214.
- Enan, E. (2001).** Insecticidal activity of essential oils: octopaminergic sites of action. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, *130(3)*, 325-337.
- F. Bakkali, S. Averbeck, D. Averbeck, and M. Idaomar, “Biological effects of essential oils: a review,”** *Food and Chemical Toxicology*, vol. 46, no. 2, pp. 446–475, 2008. [2] M. R. V. Santos, F.
- Gäde, G., & Hoffmann, K. H. (2005).** Neuropeptides regulating development and reproduction in insects. *Physiological Entomology*, *30(2)*, 103-121.
- Gerin, M., Schilke, P., Benz, A. O., Winkel, B., ... & Wyrowski, F. (2015).** Herschel survey of galactic OH<sup>+</sup>, H<sub>2</sub>O<sup>+</sup>, and H<sub>3</sub>O<sup>+</sup>: Probing the molecular hydrogen fraction and cosmic-ray ionization rate. *The Astrophysical Journal*, *800(1)*, 40.
- Griffiths, A.J.F., Miller, J.H., Suzuki, D.T., Sanlaville, C., Lewontin, R.C. & Gelbart**
- Govindarajan, M., & Benelli, G. (2016).**  $\alpha$ -Humulene and  $\beta$ -elemene from *Syzygium zeylanicum* (Myrtaceae) essential oil: highly effective and eco-friendly larvicides against *Anopheles subpictus*, *Aedes albopictus*, and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). *Parasitology research*, *115*, 2771-2778
- Guimarães, R., Barros, L., Dueñas, M., Carvalho, A. M., Queiroz, M. J. R., Santos-Buelga, C., & Ferreira, I. C. (2013).** Characterisation of phenolic compounds in wild fruits from Northeastern Portugal. *Food chemistry*, *141(4)*, 3721-3730.

- HAUBRUGE, Sylvianne; NGUYEN, V. H.; STRODIOT, J. J.** Convergence analysis and applications of the Glowinski–Le Tallec splitting method for finding a zero of the sum of two maximal monotone operators. *Journal of Optimization Theory and Applications*, 1998, 97: 645-673.
- HOUGHTON, Peter J.; REN, Yuhao; HOWES, Melanie-Jayne.** Acetylcholinesterase inhibitors from plants and fungi. *Natural product reports*, 2006, 23.2: 181-199.
- Ishaaya, I. & Horowitz, AR. 1998.** Insecticides with novel modes of action: an overview. *Insecticide with novel modes of action, Mecanisme and application* .1-24.
- Kayukawa, T., Jouraku, A., Ito, Y., & Shinoda, T. (2017).** Molecular mechanism underlying juvenile hormone-mediated repression of precocious larval–adult metamorphosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(5), 1057-1062.
- KONSTANTOPOULOU, I., et al.** Insecticidal effects of essential oils. A study of the effects of essential oils extracted from eleven Greek aromatic plants on *Drosophila auraria*. *Experientia*, 1992, 48: 616-619.
- Kostyukovsky, M., Rafaeli, A., Gileadi, C., Demchenko, N., & Shaaya, E. (2002).** Activation of octopaminergic receptors by essential oil constituents isolated from aromatic plants: possible mode of action against insect pests. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 58(11), 1101-1106.
- Knio, K. M., Usta, J., Dagher, S., Zournajian, H., & Kreydiyyeh, S. (2008).** Larvicidal activity of essential oils extracted from commonly used herbs in Lebanon against the seaside mosquito, *Ochlerotatus caspius*. *Bioresourcetechnology*, 99(4), 763-768.
- Kozlova, T., & Thummel, C. S. (2000).** Steroid regulation of postembryonic development and reproduction in *Drosophila*. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 11(7), 276-280.
- Kozlova, T., & Thummel, C. S. (2003).** Essential roles for ecdysone signaling during *Drosophila* mid-embryonic development. *Science*, 301(5641), 1911-1914.
- Lai, D., Jin, X., Wang, H., Yuan, M., Xu, H. 2014.** Gene expression profile change and growth inhibition in *Drosophila* larvae treated with azadirachtin. *Biotechnol.* **185**: 51-56.
- Liao, H., Félix Lanao, R. P., van den Beucken, J. J., Zhou, N., Both, S. K., Wolke, J. G., & Jansen, J. A. (2016).** Size matters: Effects of PLGA-microsphere size in injectable CPC/PLGA on bone formation. *Journal of tissue engineering and regenerative medicine*, 10(8), 669-678.
- Liu, J., J. Hua, B. Qu. 2021.** Insecticidal terpenes from the essential oils of *Artemisia nakaii* and their inhibitory effects on acetylcholinesterase, *Front. Plant. Sci.* 12, 720816, <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.720816>.

- L. Chen, J. Su, L. Li, B. Li, and W. Li**, “A new source of natural D-borneol and its characteristic,” *Journal of Medicinal Plants Research*, vol. 5, no. 15, pp. 3440–3447, 2011. [5]  
Q. Shen, X. Li,
- MAIA, Marta F., et al.** Comparison of the CDC Backpack aspirator and the Prokopack aspirator for sampling indoor-and outdoor-resting mosquitoes in southern Tanzania. *Parasites & vectors*, 2011, 4: 1-10
- Markow , Therese A, 2005.** Gene expression patterns accompanying a dietary shift in *Drosophila melanogaster*. *Molecular ecology*.<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2005.02654.x>.
- MARKOW, Therese A.; O'GRADY, Patrick.** *Drosophila: a guide to species identification and use.* Elsevier, 20
- Marchal, E., &Rieucau, G. (2010).** Le recrutement. *Lectures, Publications reçues.*
- Maestro, O., Cruz, J., Pascual, N., Martín, D., &Bellés, X. (2005).** Differential expression of two RXR/ultraspiracle isoforms during the life cycle of the hemimetabolous insect *Blattellagermanica* (Dictyoptera, Blattellidae). *Molecular and cellular endocrinology*, 238(1-2), 27-37.
- MEHDI, Youcef, et al.** Use of antibiotics in broiler production: Global impacts and alternatives. *Animal nutrition*, 2018, 4.2: 170-178.
- Meigen, J.W. 1830.** Systematische Beschreibung der bekannten europäischen zweiflügeligen Insekten. *Hamm*. 6: 401.
- Min-Li, Z., & Shin-Foon, C. (1987).** The effects of azadirachtin on the ecdysteroid titre in the larvae of *Ostrinia furnacalis* Guenee. *Journal of Applied Entomology*, 103(1-5), 355-359.
- NESTERKINA, Mariia, et al.** The influence of monoterpenoids and phenol derivatives on *Drosophila melanogaster* viability. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2018, 21.3: 793-796.
- Nesterkina, M., Vashchenko, O., Vashchenko, P., Lisetski, L., Kravchenko, I., Hirsch, A. K., &Lehr, C. M. (2023).** Thermoresponsive cholesteric liquid–crystal systems doped with terpenoids as drug delivery systems for skin applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 191, 139-149.
- O.M.S. 2011.** Organisation mondiale de la santé, Santé 2020, à paraître, OMS, Genève.
- PANPATTE, Deepak G., et al.** *Pseudomonas fluorescens*: a promising biocontrol agent and PGPR for sustainable agriculture. *Microbial inoculants in sustainable agricultural productivity: Vol. 1: Research perspectives*, 2016, 257-270.
- Pandey, A. (2009).** Human protein reference database—2009 update. *Nucleic acids research*, 37(suppl\_1), D767-D772.
- Parvathi, D.V., Amritha, A. S., Paul, S.F.D. 2009.** Wonder animal model for genetic studies - *Drosophila melanogaster* – its life cycle and breeding methods – a review. Sri Ramachandra J

Med. 2(2) : 33-38.

- Perveen Farzana Khan, 2018.** *Drosophila melanogaster* - Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics,
- PRIESTLEY, Caroline M., et al.** Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British journal of pharmacology*, 2003, 140.8: 1363-1372.
- Quinn, L., Lin J., Cranna N., Lee, J.E.A., Mitchell, N. Hannan, R. 2012.** Steroid hormones in *Drosophila*: How ecdysone coordinates developmental signalling with cell growth and division. In: Abduljabbar, H. (Ed). *Steroid – Basic Science*. Intech, Rijeka. 141-168.
- Raabe, G. K. (1989).** Critical review of cancer epidemiology in petroleum industry employees, with a quantitative meta-analysis by cancer site. *American journal of industrial medicine*, 15(3), 283-310.
- Ramade, F. 2011.** Introduction à l'écochimie. Les substances chimiques de l'écosphère à l'homme. DOC T. &. (Ed.) Paris: Lavoisier ISBN.
- Saguez J., Vincent C., Laberche J. C., Giodanengo P., 2007.** Pourquoi les inhibiteurs de chitinases peuvent être considérés comme de nouveaux moyens de lutte contre les aphides ?. *Revue de Cytologie et Biologie végétale - Le Botaniste*. 27(3/4) : 23-31.
- Salgado V.L. 2017.** Insect TRP channels as targets for insecticides and repellents, *J. Pestic. Sci.* 42 (1)–6, <https://doi.org/10.1584/jpestics.D16-104>.
- SANTOS, Mario G., et al.** Fast large volume simulations of the 21-cm signal from the reionization and pre-reionization epochs. *Monthly Notices of the Royal Astronomical Society*, 2010, 406.4: 2421-2432.
- SHEN, Li-Yin, et al.** The application of urban sustainability indicators—A comparison between various practices. *Habitat international*, 2011, 35.1: 17-29.
- Sláma, Karel, and Ilona Kryspin-Sørensen.** "Hypermetabolic response induced by juvenile hormone analogues in an insect." *Zeitschrift für Naturforschung C* 34.7-8 (1979): 599-607
- Smaghe, G., Gomez, L. E., & Dhadialla, T. S. (2012).** Bisacylhydrazine insecticides for selective pest control. In *Advances in insect physiology* (Vol. 43, pp. 163-249). Academic Press.
- Tavernier, R. & Lizeaux, C. 2002.** *Sciences vie de la Terre Terminale S- Spec.* Maisonneuve & Larose. Paris, France. 255 p.
- Thakore Y., 2006.** The biopesticide market for global agriculture use. *Ind. Biotechnol.* 2: 194-208.
- Tracqui, P. & Demongeot, J. (2003).** *Elements de biologie a l'usage d'autres disciplines de la structure aux fonctions*, EDP sciences Edition, 94-95.

- T. Kayukawa, A. Jouraku, Y. Ito, T. Shinoda**, Molecular mechanism underlying juvenile hormone-mediated repression of precocious larval–adult metamorphosis, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A* 114 (5) (2017) 1057–1062, <https://>
- Ureña-Peralta, J. R., Morillo-Bargues, M. J., Oliver-De La Cruz, J., &Guerra, C. (2014)**. Role of mitochondria ROS generation in ethanol-induced NLRP3 inflammasome activation and cell death in astroglial cells. *Frontiers in cellular neuroscience*, 8, 216.
- V. Moreira, B. P. Fraga, D. P. De Sousa, L. R. Bonjardim, and L. J. Quintans-Junior**, “Cardiovascular effects of monoterpenes: a review,” *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, vol. 21, no. 4, pp. 764–771, 2011. [3] A. G. Guimaraes, J. S. S. Quintans, and L. J. Quintans Junior, “Monoterpenes with analgesic activity: a systematic review,” *Phytotherapy Research*, vol. 27, no. 1, pp. 1–15, 2013.
- W. Li, and X. Zhao**, “Enhanced intestinal absorption of daidzein by borneol/menthol eutectic mixture and microemulsion,” *AAPS PharmSciTech*, vol. 12, pp. 1044– 1049, 2011. [6] S. P. Bhatia, C. S. Letizia, and A. M. Api, “Fragrance material review on borneol,” *Food and Chemical Toxicology*, vol. 46, supplement 11, pp. S77–S80, 2008.
- Yousfi, S., &Barzali, S. (2019)**. A CNN-BiLSTM model for document-level sentiment analysis. *Machine Learning and Knowledge Extraction*, 1(3), 832-847