

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Badji Mokhtar Annaba University
Université Badji Mokhtar-Annaba

Faculté des Sciences

Département de Biologie

جامعة باجي مختار-عنابة

كلية العلوم

قسم البيولوجيا



Thèse

Présentée pour obtenir le diplôme de

Doctorat Troisième Cycle

Domaine : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

Filière : ECOLOGIE ET ENVIRONNEMENT

Spécialité : ECO-ETHOLOGIE

Thème :

**Etude de la résistance chez *Drosophila melanogaster*
induite par l'effet des biopesticides**

Présentée par : **Kermiche Khamsa**

Devant le jury composé de :

N°	Nom et prénom	Grade	Etablissement	Qualité
01	BENSLAMA Mohamed	Prof.	Université Badji Mokhtar -Annaba	Président
02	OUAKID Mohamed Laid	Prof.	Université Badji Mokhtar -Annaba	Rapporteur
03	MEHAOUA Mohamed Seghir	Prof.	Université Mohamed Khaider-Biskra	Examineur
04	MERABTI Brahim	Prof.	Université Mohamed Khaider-Biskra	Examineur
05	ZIANE Nadia	Prof.	Université Badji Mokhtar -Annaba	Examineur

Année universitaire 2025/2026

Remerciements.

Ce travail de thèse n'aurait pu être mené à terme sans le soutien et l'accompagnement de nombreuses personnes, auxquelles je tiens à exprimer ma reconnaissance.

Je souhaite avant tout remercier DIEU Tout-Puissant pour l'endurance et la détermination qui m'ont permis d'achever ce parcours.

Mes sincères remerciements s'adressent à **Monsieur le Professeur OUAKID Mohamed Laid**, directeur de cette thèse, pour la qualité de son encadrement, la pertinence de ses orientations scientifiques, son soutien et sa disponibilité tout au long de ce travail.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements aux membres du jury, **Professeur BENSLAMA Mohamed, Professeur ZIANE Nadia, Professeur MEHAOUA Mohamed Seghir et Professeur MERABTI Brahim**, pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour leurs remarques pertinentes, leurs conseils constructifs et leur expertise scientifique.

Je remercie **Professeure ADJAMI Yasmine** pour sa gentillesse, ses conseils avisés et l'aide précieuse qu'elle m'a apportée tout au long de ce travail. Je remercie également **Docteur GHALEM Rym** pour son soutien précieux, l'aide qu'elle m'a apportée tout au long de ce travail, ainsi que pour ses encouragements et sa bienveillance. Je tiens également à exprimer mes sincères remerciements à **Docteur ASMA** pour son aide précieuse, sa disponibilité et son soutien constant, qui m'ont été d'une grande importance tout au long de la réalisation de ce travail. Je remercie **Professeur HADJEB Ayoub** pour son aide précieuse lors de la soumission de mon article, ainsi que **Racha** pour l'aide qu'elle m'a apportée.

Je tiens également à remercier l'ensemble de l'équipe Laboratoire d'écologie des milieux marins et littoraux (EMMAL) de l'Université Badji Mokhtar, en particulier , **Ines, Nadjet, Rachid, Ahmed et Mounir** pour l'esprit de collaboration et le soutien apporté durant cette recherche.

Je remercie mes sœurs **Nadia et Amani** pour leur présence, leur soutien et leur précieux encouragement tout au long de cette aventure.

DÉDICACE

À mes parents, ma **mère** et mon **père**, qui ne sont plus parmi nous, mais dont la présence se fait sentir à chaque étape de ma vie. Leur courage, leurs valeurs et leurs sacrifices ont guidé chacun de mes pas et inspiré mes efforts jusqu'à l'achèvement de ce travail.

À mon frère **Mahieddine**, à mes sœurs **Samia**, **Sabah**, **Sonia**, **Nadia**, **Amel** et, à **Amani**, à mes beaux-frères, ainsi qu'à toutes mes nièces et tous mes neveux, pour leur soutien, leur présence et leurs encouragements tout au long de ce parcours.

Résumé

Résumé :

La résistance des insectes aux bioinsecticides constitue un défi important pouvant limiter leur efficacité dans la lutte contre les ravageurs. L'utilisation répétée de ces produits peut favoriser la sélection de populations résistantes et réduire leur capacité à contrôler efficacement les insectes nuisibles. Dans le but d'évaluer le développement de la résistance de *Drosophila melanogaster* induite par l'exposition aux bioinsecticides, notamment au spinosad et à l'extrait aqueux de *Peganum harmala*, et d'étudier ses conséquences sur la sensibilité et les réponses comportementales de l'insecte, nous avons évalué les effets toxiques et différés de ces traitements et suivi l'évolution de la résistance chez *D. melanogaster*.

Les résultats montrent que les traitements testés présentent une activité insecticide sur *D. melanogaster*, se traduisant par une augmentation de la mortalité avec l'augmentation des concentrations. Les traitements ont présenté une efficacité insecticide importante, avec une mortalité atteignant 100 % pour le spinosad et 91,67 % pour l'extrait aqueux de *P. harmala* après 15 jours d'exposition.

Les effets sublétaux du spinosad et de l'extrait aqueux de *P. harmala* perturbent les comportements reproducteur et alimentaire de *D. melanogaster*, se traduisant par une diminution de l'activité sexuelle, du taux et de la durée d'accouplement et du nombre d'œufs pondus, ainsi qu'une altération de l'olfaction et du choix du milieu alimentaire.

Les essais de toxicité, répétés sur douze générations, ont révélé une évolution progressive de la résistance de *D. melanogaster* aux produits testés. Une diminution progressive de la mortalité a été observée au fil des générations, jusqu'à l'absence de mortalité à la 12^e génération pour le spinosad et à la 10^e génération pour l'extrait aqueux de *P. harmala*. Cette diminution de la mortalité traduit une réduction progressive de la sensibilité de *D. melanogaster* aux traitements au cours des générations.

Au cours de douze générations successives, l'évolution de la résistance de *D. melanogaster* s'est accompagnée d'une récupération progressive de ses capacités sexuelles et reproductives. Cette évolution s'est traduite par une diminution du temps de déclenchement des séquences de parade sexuelle, une augmentation du taux et de la durée d'accouplement, ainsi qu'une hausse significative du nombre d'œufs pondus. Ces changements deviennent particulièrement marqués au cours des dernières générations.

Mots clés : Résistance, *Drosophila melanogaster*, bioinsecticides, *Peganum harmala*, spinosad, toxicité, effets sublétaux, comportements.

Abstract:

Insect resistance to bioinsecticides represents an important challenge that may limit their effectiveness in pest control. Repeated use of these products may promote the selection of resistant populations and reduce their ability to effectively control harmful insect populations. To assess the development of resistance in *Drosophila melanogaster* induced by exposure to bioinsecticides, particularly spinosad and the aqueous extract of *Peganum harmala*, and to investigate its consequences on insect sensitivity and behavioral responses, we evaluated the toxic and delayed effects of these treatments and monitored the evolution of resistance in *D. melanogaster*.

The results showed that the tested treatments exhibited insecticidal activity against *D. melanogaster*, as indicated by an increase in mortality with increasing concentrations. The treatments showed high insecticidal efficacy, with mortality reaching 100 % for spinosad and 91.67 % for the aqueous extract of *P. harmala* after 15 days of exposure.

The sublethal effects of spinosad and the aqueous extract of *P. harmala* disrupted the reproductive and feeding behaviors of *D. melanogaster*, resulting in a reduction in sexual activity and duration mating rate, and the number of eggs laid, as well as alterations in olfaction and food-source choice.

Toxicity assays repeated over twelve generations revealed a progressive evolution of resistance in *D. melanogaster* to the tested products. A progressive decrease in mortality was observed across generations, reaching complete absence of mortality by the 12th generation for spinosad and by the 10th generation for the aqueous extract of *P. harmala*. These results indicate a progressive increase in tolerance and the development of resistance in *D. melanogaster*.

Over twelve successive generations, the evolution of resistance in *D. melanogaster* was accompanied by a progressive recovery of its sexual and reproductive capacities. This evolution was characterized by a reduction in the time required to initiate courtship sequences, an increase in mating rate and mating duration, as well as a significant increase in the number of eggs laid. These changes became particularly marked during the later generations.

Keywords: Resistance, *Drosophila melanogaster*, bioinsecticides, *Peganum harmala*, spinosad, toxicity, sublethal effects, behavior.

الملخص:

تمثل مقاومة الحشرات للمبيدات الحيوية تحديًا مهمًا قد يحد من فعاليتها في مكافحة الآفات. ويمكن أن يؤدي الاستخدام المتكرر لهذه المنتجات إلى تعزيز انتخاب السلالات المقاومة، مما يقلل من قدرتها على مكافحة الحشرات الضارة بفعالية. بهدف تقييم تطور المقاومة لدى *Drosophila melanogaster* الناتجة عن التعرض للمبيدات الحيوية، ولا سيما السبينوساد والمستخلص المائي لـ *Peganum harmala*، ودراسة تأثيراتها على حساسية الحشرة واستجاباتها السلوكية، قمنا بتقييم التأثيرات السمية والمتأخرة لهذه المعاملات، ومتابعة تطور المقاومة لدى *D. melanogaster*.

أظهرت النتائج أن المعاملات المختبرة تمتلك فعالية حشرية ضد *D. melanogaster*، تمثلت في زيادة معدل الوفيات مع زيادة التركيزات. كما أظهرت المعاملات فعالية حشرية مرتفعة، حيث بلغت نسبة الوفيات 100% بالنسبة للسبينوساد و91.67% بالنسبة للمستخلص المائي لـ *P. harmala* بعد 15 يومًا من التعرض.

أدت التأثيرات شبه المميتة للسبينوساد والمستخلص المائي لـ *P. harmala* إلى اضطراب السلوكيات التناسلية والغذائية لدى *D. melanogaster*، تمثلت في انخفاض النشاط الجنسي، ومعدل ومدة التزاوج ومدته، وعدد البيوض الموضوعة، بالإضافة إلى حدوث تغيرات في حاسة الشم واختيار مصدر الغذاء.

كشفت اختبارات السمية، التي أجريت على مدى اثني عشر جيلًا، عن تطور تدريجي للمقاومة لدى *D. melanogaster* تجاه المنتجات المختبرة. وقد لوحظ انخفاض تدريجي في معدل الوفيات عبر الأجيال، حتى انعدمت الوفيات في الجيل الثاني عشر بالنسبة للسبينوساد، وفي الجيل العاشر بالنسبة للمستخلص المائي لـ *P. harmala*. وتشير هذه النتائج إلى زيادة تدريجية في التحمل وتطور المقاومة لدى *D. melanogaster*.

وخلال اثني عشر جيلًا متتاليًا، ترافق تطور المقاومة لدى *D. melanogaster* مع استعادة تدريجية لقدراتها الجنسية والتناسلية. وتمثلت هذه التطورات في انخفاض الوقت اللازم لبدء تسلسلات سلوك المغازلة، وزيادة معدل التزاوج ومدته، بالإضافة إلى ارتفاع معنوي في عدد البيوض الموضوعة. وقد أصبحت هذه التغيرات أكثر وضوحًا خلال الأجيال الأخيرة.

الكلمات المفتاحية: المقاومة، *Drosophila melanogaster*، المبيدات الحيوية، *Peganum harmala*،

السبينوساد، السمية، التأثيرات شبه المميتة، السلوك.

Liste des Tableaux

N°	Titres	Pages
1	Paramètres toxicologiques du spinosad (concentrations létales) sur <i>D. melanogaster</i>	32
2	Paramètres toxicologiques du spinosad (Temps létaux) sur <i>D. melanogaster</i>	32
3	Taux de réussite des séquences de la parade nuptiale de <i>D. melanogaster</i>	33
4	Temps de déclenchement des séquences de la parade nuptiale de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	34
5	Nombre de répétition des séquences de la parade nuptiale de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	35
6	Choix du site de ponte chez les femelles <i>D. melanogaster</i>	35
7	Indice de préférence d'oviposition (OPI) des femelles de <i>D. melanogaster</i>	36
8	Premier temps de détection des larves témoins aux différentes odeurs testées (Moyenne $\pm$ SEM)	37
9	Premier temps de détection des larves traitées aux différentes odeurs testées (Moyenne $\pm$ SEM)	38
10	Taux d'attractivité des larves témoins aux différentes odeurs testées	38
11	Taux d'attractivité des larves traitées aux différentes odeurs testées	39
12	Indice d'attraction (AI) olfactif des larves testées	39
13	Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de la plante <i>P. harmala</i> (Concentration létales) sur <i>D. melanogaster</i>	41
14	Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de la plante <i>P. harmala</i> (Temps létaux) sur <i>D. melanogaster</i>	41
15	Taux de réussite des séquences de la parade nuptiale de <i>D. melanogaster</i>	42
16	Temps de déclenchement des séquences de la parade nuptiale de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	43
17	Nombre de séquences de la parade nuptiale de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	44
18	Choix de du site d'oviposition chez les femelles <i>D. melanogaster</i>	45
19	Indice de préférence d'oviposition (OPI) des femelles de <i>D. melanogaster</i>	46
20	Premier temps de détection des larves témoins aux différentes odeurs (Moyenne $\pm$ SE)	46
21	Premier temps de détection des larves traités aux différentes odeurs (Moyenne $\pm$ SEM)	47
22	Taux d'attractivité des larves témoins aux différents milieux testés	47
23	Taux d'attractivité des larves traitées aux différents milieux testés	48
24	Indice d'attraction (IA) olfactif des larves testées	48
25	Paramètres toxicologiques (Concentrations létales) de spinosad sur les souches résistantes de <i>D. melanogaster</i> après 15 jours d'exposition	50
26	Fréquences de copulation des souches résistantes de <i>D. melanogaster</i> au fil des générations	50

27	Temps de déclenchement des séquences de la parade sexuelle des souches résistance de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	51
28	Durée de copulation des souches résistantes de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	52
29	Nombres d'œufs pondus des souches résistantes de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	52
30	Paramètres toxicologiques (Concentrations létales) de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur les souches résistantes de <i>D. melanogaster</i> (15 jours)	54
31	Fréquences de copulation des souches résistantes de <i>D. melanogaster</i> au fil des générations	54
32	Temps de déclenchement de séquences de la parade sexuelle des souches résistance de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	55
33	Durée de copulation des souches résistantes de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	56
34	Nombre d'œufs pondus des souches résistantes de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	56

Liste des Figures

N°	Titre	Pages
1	<i>Drosophila melanogaster</i> (Photo originale)	5
2	Morphologie externe <i>D. melanogaster</i>	7
3	Œufs (Photo originale)	8
4	Différents stades larvaires de <i>D. melanogaster</i> (Photo originale)	8
5	Stade pupale de <i>D. melanogaster</i> (Photo originale)	9
6	<i>D. melanogaster</i> adultes (Photo originale)	10
7	Schéma de cycle de vie de <i>D. melanogaster</i> (Schéma original)	10
8	Représentation schématique des principales étapes de la parade sexuelle chez <i>D.melanogaster</i> . Source : (Spieth, 1974)	13
9	Flacons d'élevage (Photo originale)	14
10	Différentes parties de la plante <i>P. harmala</i> . Source:(healthyhomegardening.com)	16
11	Les structures des alcaloïdes de <i>P.harmala</i> . Source : (Bensalemet al., 2014)	19
12	Structure chimique du spinosad. Source : (Sarfraz et al., 2005).	21
13	<i>Saccharopolysporaspinoso</i> : surface épineuse de l'actinomycète (à gauche) et vue transitoire du stade végétatif (à droite). Source : (Thompson et al., 1999)	21
14	Représentation schématique du traitement des larves de deuxième stade (Schéma original)	23
15	Représentation schématique du test de comportement sexuel (Schéma original)	25
16	Représentation schématique du test d'oviposition (Schéma original)	26
17	Schéma du test d'olfaction (Schéma original)	28
18	Evolution du taux de mortalité de <i>D. melanogaster</i> en fonction des concentrations du spinosad au cours du temps (Moyenne $\pm$ SE)	31
19	Durée de copulation chez <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	34
20	Nombre d'œufs pondus de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	36
21	Evolution du taux de mortalité de <i>D. melanogaster</i> en fonction de concentration de <i>P. harmala</i> au cours du temps (Moyenne $\pm$ SE)	40
22	Durée de copulation de <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	43
23	Nombre d'œufs pondu chez <i>D. melanogaster</i> (Moyenne $\pm$ SEM)	45
24	Evolution du taux de mortalité de <i>D. melanogaster</i> en fonction des concentrations du spinosad au cours du temps (Moyenne $\pm$ SE)	49
25	Evolution du taux de mortalité de <i>D. melanogaster</i> en fonction des concentrations de <i>P. harmala</i> au cours du temps (Moyenne $\pm$ SE)	53

Sommaire

1. Introduction.....	1
2. Matériel et méthodes.....	5
2.1. <i>Drosophila melanogaster</i>	5
2.1.1. Classification systématique (Meigen, 1869)	6
2.1.2. Caractéristiques morphologiques de <i>D. melanogaster</i>	6
2.1.3. Cycle de vie.....	7
• Stade embryonnaire.....	7
• Stades larvaires.....	8
• Stade pupal.....	9
• Stade adulte.....	9
2.1.4. Perception gustative chez <i>D. melanogaster</i>	11
2.1.5. Perception olfactive chez <i>D. melanogaster</i>	11
2.1.6. Parade sexuelle chez <i>D. melanogaster</i>	11
2.1.7. Elevage de masse.....	13
2.2. <i>Peganum harmala</i>	14
2.2.1. Position systématique de <i>P. harmala</i> (Ozenda, 1991)	15
2.2.2. Description de <i>P. harmala</i>	15
2.2.3. Répartition géographique.....	16
• Distribution.....	16
• Habitat et exigences écologiques.....	17
2.2.4. Usage thérapeutique.....	17
2.2.5. Toxicité de la plante.....	17
2.2.6. Aspects phytochimiques.....	18
2.2.7. Préparation de l'extrait aqueux.....	19
2.3. Spinosad.....	19
2.3.1. Propriétés physiques et chimiques du spinosad.....	20
2.3.2. Mode d'action.....	21
2.3.3. Usage et applications du spinosad.....	22
2.4. Conception expérimentale.....	22
2.4.1. Préparation de la culture expérimentale et des contrôles.....	22
2.4.2. Tests de toxicité.....	23
2.4.3. Isolation de la souche résistante.....	24

• Test de toxicité sur la souche résistante de <i>D. melanogaster</i>	24
2.4.4. Test du comportement sexuel.....	24
2.4.5. Test du comportement d'oviposition.....	26
2.4.6. Etude comportementale des souches résistantes.....	26
2.4.7. Comportement alimentaire.....	27
• Test de préférence larvaire.....	27
• Suivi des larves.....	28
2.5. Analyse statistique.....	28
• Tests de toxicité.....	28
• Tests comportementaux.....	29
3. Résultats.....	31
3.1. Etude des effets toxiques et différés du spinosad sur <i>D. melanogaster</i>	31
3.1.1. Effets toxiques du spinosad sur <i>D. melanogaster</i>	31
3.1.1.1. Effets des concentrations du spinosad sur la mortalité.....	31
3.1.1.2. Paramètres toxicologiques du spinosad sur <i>D. melanogaster</i>	31
3.1.2. Etude des effets différés du spinosad sur le comportement sexuel de <i>D. melanogaster</i>	33
3.1.2.1. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur la parade nuptiale.....	33
3.1.2.2. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur les temps des séquences de la parade nuptiale.....	33
3.1.2.3. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur la durée de copulation.....	34
3.1.2.4. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le nombre de séquences de la parade nuptiale.....	34
3.1.3. Etude des effets différés de la concentration sublétales du spinosad sur le comportement d'oviposition de <i>D. melanogaster</i>	35
3.1.3.1. Effets de la concentration sublétales de spinosad sur le choix des sites de ponte.....	35
3.1.3.2. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le nombre d'œufs pondus.....	35
3.1.3.3. Indice de préférence de ponte (OPI)	36
3.1.4. Etude des effets différés de la concentration sublétales du spinosad sur le comportement alimentaire de <i>D. melanogaster</i>	37
3.1.4.1. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le temps de première	

détection des larves aux différentes odeurs testées.....	37
• Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le temps de première détection des larves témoins aux différentes odeurs testées.....	37
• Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le temps de première détection des larves traitées aux différentes odeurs testées.....	37
3.1.4.2. L'attractivité des larves témoins et traitées aux différentes odeurs testées.....	38
• L'attractivité des larves témoins aux différentes odeurs testées.....	38
• L'attractivité des larves traitées aux différentes odeurs testées.....	39
3.1.4.3. Indice d'attraction.....	39
3.2. Etude des effets toxiques et différés de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur <i>D. melanogaster</i>	40
3.2.1. Effet toxique de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i>	40
3.2.1.1. Effet des concentrations de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur la mortalité.....	40
3.2.1.2. Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur <i>D. melanogaster</i>	40
3.2.2. Etude des effets différés de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le comportement sexuel de <i>D. melanogaster</i>	42
3.2.2.1. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur la parade nuptiale.....	42
3.2.2.2. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur les temps des séquences de la parade nuptiale.....	42
3.2.2.3. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur la durée de copulation.....	43
3.2.2.4. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le nombre de séquences de la parade nuptiale.....	44
3.2.3. Etude des effets différés de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le comportement d'oviposition de <i>D. melanogaster</i>	44
3.2.3.1. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le choix des sites de ponte.....	44
3.2.3.2. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le nombre d'œufs pondus.....	45
3.2.3.3. Indice de préférence de ponte (OPI)	45

3.2.4. Etude des effets différés de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le comportement alimentaire de <i>D. melanogaster</i>	46
3.2.4.1. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le premier temps de détection des larves aux différentes odeurs testées.....	46
• Effets de la concentration sublétales de l'extrait de <i>P. harmala</i> sur les temps de première détection des larves témoins aux différentes odeurs testées.....	46
• Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le temps de première détection des larves traitées aux différentes odeurs testées.....	46
3.2.4.2. L'attractivité des larves témoins et traitées aux différentes odeurs testées.....	47
• L'attractivité des larves témoins aux différentes odeurs testées.....	47
• L'attractivité des larves traitées aux différentes odeurs testées.....	48
3.2.4.3. Indice d'attraction.....	48
3.3. Evaluation de la résistance de <i>D. melanogaster</i> au spinosad et à l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i>	49
3.3.1. Effets toxiques du spinosad sur les souches résistantes de <i>D. melanogaster</i>	49
3.3.1.1. Effet des concentrations du spinosad sur la mortalité.....	49
3.3.1.2. Paramètres toxicologiques du spinosad sur les souches résistantes de <i>D. melanogaster</i>	49
3.3.2. Etude des effets différés des concentrations sublétales du spinosad sur le comportement sexuel chez les souches résistantes de <i>D. melanogaster</i>	50
3.3.2.1. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur la fréquence de copulation.....	50
3.3.2.2. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur les temps des séquences de la parade nuptiale.....	51
3.3.2.3. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur la durée de copulation.....	51
3.3.3. Effets différés de la concentration sublétales du spinosad sur le comportement d'oviposition des souches résistantes de <i>D. melanogaster</i>	52
3.3.3.1. Les effets sublétales du spinosad sur le nombre d'œufs pondus.....	52
3.3.4. Etude des effets toxiques de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur les souches	

résistantes de <i>D. melanogaster</i>	53
3.3.4.1. Effet des concentrations de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur la mortalité.....	53
3.3.4.2. Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur les souches résistantes <i>D. melanogaster</i>	53
3.3.5. Effets différés de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le comportement sexuel des souches résistantes de <i>D. melanogaster</i>	54
3.3.5.1. Les effets des concentrations sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur la fréquence d'accouplement.....	54
3.3.5.2. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur les temps de déclenchement des séquences de la parade nuptiale.....	55
3.3.5.3. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur la durée d'accouplement.....	55
3.3.6. Etude des effets différés de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le comportement d'oviposition des souches résistantes de <i>D. melanogaster</i>	56
3.3.6.1. Les effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de <i>P. harmala</i> sur le nombre d'œufs pondus.....	56
4. Discussion.....	57
5. Conclusion.....	69
6. Références bibliographiques.....	71

Introduction

1. Introduction :

Les insectes nuisibles représentent une menace majeure pour la santé humaine, le bien-être animal et la productivité agricole. Ils provoquent d'importantes pertes économiques en endommageant les cultures, en réduisant la qualité et le rendement des productions agricoles, et en transmettant de nombreux agents pathogènes responsables de maladies chez l'homme, les animaux et les plantes (**Reckhaus, 2019**).

La lutte contre les insectes nuisibles repose aujourd'hui sur une approche intégrée combinant différentes méthodes de contrôle, notamment les méthodes culturales, physiques, biologiques et chimiques (**Baker et al., 2020 ; Sharma, 2023 ; Civolani et al., 2025**). Parmi ces stratégies, la lutte chimique demeure la méthode la plus largement utilisée en raison de sa rapidité d'action, de son efficacité et de sa capacité à contrôler un large spectre d'espèces nuisibles (**Siddiqui et al., 2023**).

Cependant, l'utilisation intensive et parfois inappropriée des insecticides chimiques en agriculture et dans d'autres secteurs entraîne d'importantes préoccupations environnementales et sanitaires. En raison de leur persistance dans l'environnement et de leur potentiel d'accumulation dans les organismes vivants, ces substances peuvent contaminer les écosystèmes, altérer la qualité de l'air, de l'eau et des sols, affecter les organismes non ciblés et présenter des risques pour la biodiversité, la santé humaine et la sécurité alimentaire (**Zhou et al., 2025**). Malgré les impacts environnementaux et sanitaires préoccupants associés à leur utilisation, les insecticides chimiques restent largement employés en raison de leur efficacité dans le contrôle des populations d'insectes et des ravageurs (**Araújo et al., 2023**). Bien que ces composés offrent une forte efficacité à court terme, leur efficacité durable est de plus en plus compromise par l'émergence et la dissémination de résistances aux insecticides (**Nauen et al., 2019 ; Sparks et Nauen, 2015**).

Face à ces limites, les recherches se sont progressivement orientées vers le développement de solutions de lutte plus respectueuses de l'environnement. L'objectif est de concevoir des insecticides présentant une dégradation rapide après application, une faible toxicité pour les organismes non ciblés et les mammifères, une bonne sélectivité envers les ravageurs et un impact environnemental réduit, tout en restant compatibles avec une agriculture durable (**Hermawan et al., 1997 ; Miresmailli et Isman, 2014**).

Dans ce contexte, les bioinsecticides apparaissent comme des alternatives prometteuses aux insecticides conventionnels. Issus de sources naturelles, notamment végétales et microbiennes, ils présentent généralement une bonne efficacité contre plusieurs

insectes ravageurs tout en réduisant les effets négatifs sur l'environnement et les organismes non ciblés (**Ahmed et al., 2021**).

Parmi les plantes présentant un potentiel insecticide, *P. harmala* constitue une source intéressante de molécules bioactives aux propriétés insecticides (**Wink, 1988 ; Hartmann, 1991 ; Kartal et al., 2003**). Le spinosad, bioinsecticide d'origine microbienne issu de la fermentation bactérienne, agit par contact et par ingestion et appartient au groupe 5 de l'IRAC (**Begum et Islam, 2022 ; Niger, 2017**). Ces deux bioinsecticides présentent ainsi un intérêt dans la lutte contre les insectes ravageurs.

Cependant, comme les insecticides conventionnels, les bioinsecticides peuvent également exercer une pression de sélection sur les populations d'insectes lorsqu'ils sont utilisés de manière répétée. Cette pression peut favoriser la survie et la reproduction des individus moins sensibles aux traitements et conduire progressivement à l'évolution de résistances. Des cas de résistance ont notamment été rapportés chez certains ravageurs exposés à des bioinsecticides (**Siegwart et al., 2015 ; Bilbo et al., 2023 ; Afzal et al., 2024 ; Sparks et al., 2025**). Toutefois, les connaissances sur ces résistances restent limitées, soulignant l'importance de leur étude pour une utilisation durable des bioinsecticides. L'étude de la résistance aux insecticides permet de mieux comprendre les mécanismes évolutifs et leurs implications économiques (**Wojciechowska et al., 2016**).

La résistance aux insecticides constitue aujourd'hui une contrainte majeure pour la protection des cultures et la lutte contre les insectes nuisibles. Elle peut entraîner une diminution progressive de l'efficacité des traitements, rendant le contrôle des populations de ravageurs plus difficile et nécessitant parfois le recours à des stratégies de lutte supplémentaires, avec une augmentation des coûts associés aux programmes de protection (**Smith et al., 2026**). Plus de 600 espèces d'insectes ont ainsi développé une résistance à une ou plusieurs molécules insecticides, compromettant les programmes de lutte agricole et de santé publique (**Khudhair et al., 2025**). Ce phénomène, observé depuis plus d'un siècle, a été décrit pour la première fois en 1914 chez la cochenille *Quadraspidiotus perniciosus*, devenue résistante à la bouillie nantaise (**Melander, 1914**).

Depuis les premiers cas de résistance associés aux insecticides organochlorés, notamment au DDT à la fin des années 1940 (**Brown, 1956**), ce phénomène s'est étendu à la majorité des familles d'insecticides utilisées en agriculture et en santé publique, notamment les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrénoïdes, les néonicotinoïdes et les régulateurs de croissance (**Moyes et al., 2017**).

Cette évolution met en évidence le rôle de la pression de sélection exercée par les insecticides dans l'augmentation de la résistance au sein des populations. L'utilisation répétée des insecticides favorise la survie et la reproduction des individus présentant une plus grande tolérance aux traitements, entraînant ainsi une augmentation progressive de la fréquence des caractères associés à la résistance au fil des générations (**Abbas et al., 2025**).

Le développement de la résistance est un phénomène complexe, influencé par l'interaction de nombreux facteurs génétiques, physiologiques, comportementaux et écologiques (**Al Nagggar et al., 2025**). Il est notamment influencé par le mode d'action des insecticides et la fréquence des expositions (**Belinato et Martins, 2016**).

La vitesse d'apparition et d'augmentation de la résistance dépend également de certaines caractéristiques biologiques des insectes, telles qu'une courte durée de génération, une forte fécondité, une capacité élevée de dispersion et une importante variabilité génétique, qui peuvent favoriser l'évolution de la résistance au sein des populations (**Liu, 2015 ; Zhu et al., 2016**). Ces changements peuvent toutefois être associés à des coûts biologiques susceptibles d'affecter certains traits essentiels chez les individus tolérants, notamment leur développement, leur reproduction et leur aptitude biologique. Ainsi, l'adaptation à une exposition répétée aux insecticides peut s'accompagner de modifications de certains traits biologiques et comportementaux, pouvant influencer la survie et la reproduction des populations exposées (**Gul et al., 2023**).

Par ailleurs, l'évaluation de l'efficacité des insecticides repose généralement sur des essais toxicologiques mesurant principalement la mortalité des organismes exposés. Cependant, les concentrations sublétales, qui n'entraînent pas directement la mort des individus, peuvent provoquer des modifications importantes de la physiologie, du développement, du comportement et de la reproduction des insectes (**Lalouette et al., 2016**). Ces effets, qui peuvent apparaître après une exposition prolongée, sont susceptibles d'altérer les performances biologiques des populations exposées et fournissent des informations complémentaires sur l'impact réel des insecticides au-delà de leur seule action létale (**Denecke et al., 2015**).

Dans ce contexte, *D. melanogaster* constitue un modèle biologique particulièrement pertinent pour l'étude de la toxicité, des effets sublétaux et des mécanismes de résistance aux insecticides. Largement utilisée en écotoxicologie, cette espèce permet d'étudier les réponses physiologiques, comportementales et moléculaires des insectes exposés aux composés chimiques en raison de ses nombreuses similarités génétiques et physiologiques avec d'autres insectes (**Huang et Lee, 2023**). Elle est également largement utilisée dans l'étude des

comportements reproducteurs en raison de sa courte durée de génération, de sa forte fécondité et de ses comportements de parade sexuelle bien caractérisés (**Liu et al., 2008**).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'évolution de la résistance de *D. melanogaster* à l'extrait aqueux de *P. harmala* et au spinosad au cours de douze générations d'exposition.

Tout d'abord, nous avons évalué la toxicité de ces deux bioinsecticides chez les larves de deuxième stade de *D. melanogaster*, afin de déterminer leur toxicité initiale.

Ensuite, nous avons étudié les effets sublétaux des bioinsecticides sur différents paramètres comportementaux de *D. melanogaster*, notamment le comportement sexuel, le comportement d'oviposition et le comportement alimentaire.

Nous avons par la suite évalué l'évolution de la toxicité de l'extrait aqueux de *P. harmala* et du spinosad au cours des douze générations d'exposition.

Nous avons également étudié l'évolution des effets sublétaux induits par une exposition répétée aux deux bioinsecticides au cours des douze générations, à travers le suivi du comportement sexuel et du comportement d'oviposition.

Matériel et méthodes

2. Matériel et méthodes :

2.1. *Drosophila melanogaster* :

D. melanogaster est l'un des organismes modèles les plus largement utilisés dans de nombreuses disciplines scientifiques. Son faible coût, son temps de génération court et la disponibilité d'outils génétiques performants en ont fait un modèle indispensable en recherche fondamentale (**Tolwinski, 2017**). Elle a été introduite comme organisme modèle par Thomas Hunt Morgan au début du vingtième siècle (**Morgan, 1910**). Elle a joué un rôle fondamental dans les avancées majeures de la génétique moderne, ainsi que dans de nombreux domaines tels que la biologie cellulaire, la neurobiologie et l'évolution. Aujourd'hui, elle demeure largement utilisée pour l'étude des mécanismes biologiques fondamentaux, des comportements et des interactions entre les organismes et leur environnement (**Hales et al., 2015**).

La Drosophile est un insecte Diptère Brachycère largement répandu dans le monde. Dans la nature, elle est souvent associée à la décomposition des fruits et légumes mûrs, contribuant indirectement à la pourriture grise par le transport de champignons (**Joly, 2006**). Elle se nourrit principalement de fruits et légumes en décomposition, ainsi que de végétaux, de champignons, et de liquides fermentés et sucrés, ce qui explique sa forte abondance sur les substrats en maturation ou en fermentation dans son habitat naturel (**Reaume et Sokolowski, 2006**).

Originnaire d'Afrique subsaharienne, *D. melanogaster* a progressivement colonisé de nombreuses régions du monde (**Lachaise et al., 1988**). Sa grande plasticité écologique lui a permis de s'adapter à divers climats et environnements, y compris ceux fortement perturbés par les activités humaines (**Mansourian et al., 2018**). Cette expansion mondiale illustre son succès en tant qu'espèce opportuniste et généraliste, capable de prospérer dans des habitats naturels comme dans des environnements anthropisés (**Arguello et al., 2019**).

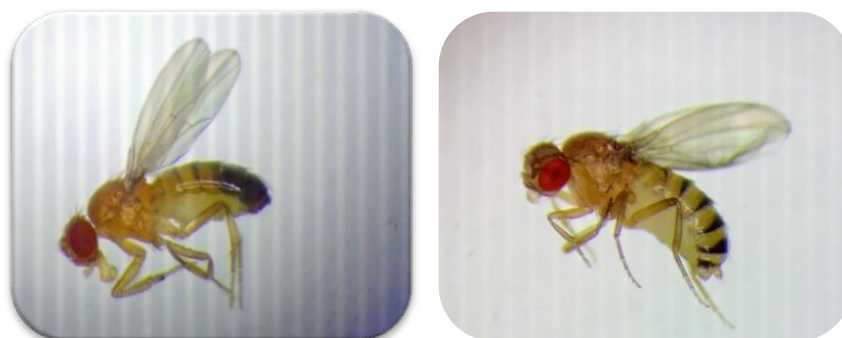


Figure 1: *Drosophila melanogaster* (photo originale)

2.1.1. Classification systématique (Meigen, 1869) :

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

2.1.2. Caractéristiques morphologiques de *D. melanogaster* :

D. melanogaster est un insecte Diptère holométabole, hygrophile et lucicole, caractérisé par une coloration jaune brunâtre. Elle mesure généralement entre 3 et 4 mm de long, et présente un poids moyen d'environ 0,5 mg (**Wixon et O'Kane, 2000**). Elle présente le plan d'organisation général des insectes, avec un corps divisé en trois parties bien distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen (**Fig. 2**). Le thorax porte une seule paire d'ailes fonctionnelles, caractéristique des Diptères, ainsi que trois paires de pattes adaptées à la locomotion et à l'exploration du milieu (**Markow et O'Grady, 2006 ; Headrick et al., 2009**). **La tête** de *D. melanogaster* est généralement globuleuse et porte deux grands yeux composés rouges, constitués d'environ 800 ommatidies, ainsi que trois ocelles situés au-dessus de la tête. Elle possède également des organes sensoriels, des pièces buccales de type lécheur et une paire d'antennes courtes à extrémité plumeuse (**Ferris, 1950 ; Bryant, 1978**).

Le thorax est formé de trois segments fusionnés (prothorax, mésothorax et métathorax), dont le mésothorax est le plus développé et renferme la musculature des ailes. Il porte trois paires de pattes articulées ainsi qu'une paire d'ailes fonctionnelles corps (**Markow et O'Grady, 2006**).

L'abdomen présente une organisation segmentée dont la surface dorsolatérale, fortement chitinisée, est constituée de plaques appelées tergites, tandis que la face ventrale est formée de sternites. Cette organisation assure à la fois la protection des organes internes et une certaine flexibilité du corps (**Markow et O'Grady, 2006**).

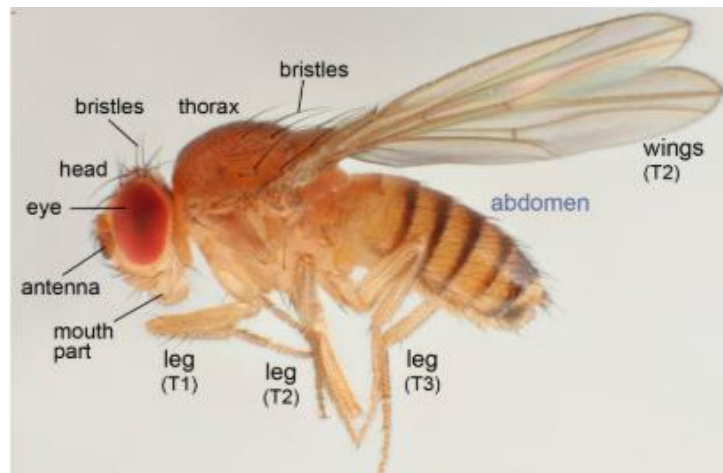


Figure 2 : Morphologie externe *D. melanogaster*

La drosophile présente un dimorphisme sexuel bien marqué, permettant de distinguer facilement les mâles des femelles à l'état adulte. Les mâles sont généralement légèrement plus petits que les femelles et se caractérisent par un abdomen plus court, dont l'extrémité est foncée, arrondie et fortement pigmentée. En revanche, les femelles possèdent un abdomen plus long, plus clair et se terminant par une extrémité pointue, adaptée à la ponte (**Parvathi et al., 2009**). Le mâle se distingue également par la présence de peignes sexuels situés sur les pattes antérieures. Ces structures correspondent à une rangée de soies épaisses et noires localisées sur le premier article du tarse, et jouent un rôle important dans le comportement reproducteur, notamment lors des interactions pré-copulatoires (**Merkey et al., 2011**).

2.1.3. Cycle de vie :

Le cycle de développement de *D. melanogaster* est holométabole et comprend quatre stades : embryon, larve, pupa et adulte. Il est caractérisé par une métamorphose, au cours de laquelle se succèdent des phases distinctes jusqu'au stade adulte. La durée du développement dépend de la température et est d'environ 12 jours à 25 °C (**Markow et al., 2009**).

- **Le stade embryonnaire :**

Le stade embryonnaire chez *D. melanogaster* dure environ 24 heures. L'œuf, d'environ 0,5 mm de longueur, est recouvert d'un chorion opaque présentant un motif hexagonal et possède deux filaments qui l'empêchent de s'enfoncer dans des substrats alimentaires mous (**Fig. 3**). La fécondation s'effectue par le micropyle, où un seul spermatozoïde fusionne avec l'ovule. Le zygote formé entre en segmentation et initie les

premières divisions embryonnaires. Après la fécondation, la femelle pond plusieurs centaines d'œufs allongés et blanchâtres (Sonnenblick, 1940; Hartenstein et Campos-Ortega, 1985).



Figure 3 : Œufs (Photo originale)

- **Stades larvaires :**

Après l'éclosion, la larve de *D. melanogaster* traverse trois stades larvaires séparés par deux mues successives (**Fig. 4**). Le troisième stade peut atteindre environ 4,5 mm de longueur. La larve est constituée de 12 segments : trois segments céphaliques, trois thoraciques et huit abdominaux, recouverts par une cuticule souple protégeant un épiderme interne. Sa transparence permet l'observation directe de ses organes internes, notamment le corps gras, l'intestin, les tubes de Malpighi et les gonades. La larve possède également des muscles segmentaires, un vaisseau sanguin dorsal, ainsi que plusieurs disques imaginaux qui se différencieront pour former les structures adultes (**Baylies et Bate, 1996**). Ce stade est caractérisé par une forte activité locomotrice, une alimentation continue et une croissance rapide et intense (**Church et Robertson, 1966**).



Figure 4 : Différents stades larvaires de *D. melanogaster* (Photo originale)

- **Stade pupal :**

Les larves déploient leurs spiracles antérieurs, sécrètent une substance gluante et se fixent sur un support. L'organisme entre alors dans le stade pré-pupal, d'une durée d'environ 12 heures, marqué par de profondes remaniements morphologiques et physiologiques. La majorité des tissus larvaires est lysée ou fortement remodelée (**Dubrovsky, 2005 ; Panagopoulos, 2012**). La dernière cuticule larvaire se transforme rapidement en puparium, enveloppe externe au sein de laquelle se déroule la métamorphose. Celui-ci perd sa segmentation larvaire et reste blanc pendant quelques minutes avant de durcir puis de noircir, atteignant une pigmentation complète environ 3,5 heures plus tard (Fig. 5). Le stade pupal débute avec la formation de la prépupe, dépourvue de tête, d'ailes et de pattes externes, toujours protégée par le puparium. À ce stade, certains organes larvaires sont détruits tandis que les structures adultes se développent à partir des disques imaginaux (**Chan et al., 2000**).



Figure 5 : Stade pupal de *D. melanogaster* (Photo originale)

- **Stade adulte :**

Une fois la métamorphose achevée, les mouches adultes émergent de la pupe, fragiles et de couleur claire. Leurs ailes ne sont pas encore complètement déployées et doivent se rigidifier à l'air avant de devenir fonctionnelles. En quelques heures, elles foncent et acquièrent l'aspect normal de la mouche adulte (**Fig. 5**) (**Bainbride et Bownes, 1981**).

Après l'émergence, les individus subissent une phase de maturation durant laquelle ils deviennent progressivement aptes à la reproduction. La copulation débute généralement entre 3 et 4 jours après l'émergence (**Mack et al., 2006**). Les femelles peuvent être fécondées après l'émergence et commencent généralement à pondre entre 24 et 48 heures après l'accouplement (**Redfield, 1966**). Elles possèdent la capacité de stocker le sperme dans des organes spécialisés de leur appareil reproducteur, ce qui leur permet d'assurer une fécondation différée des œufs (**Qazi et al., 2003**).



Figure 6 : *D. melanogaster* adultes (Photo originale)

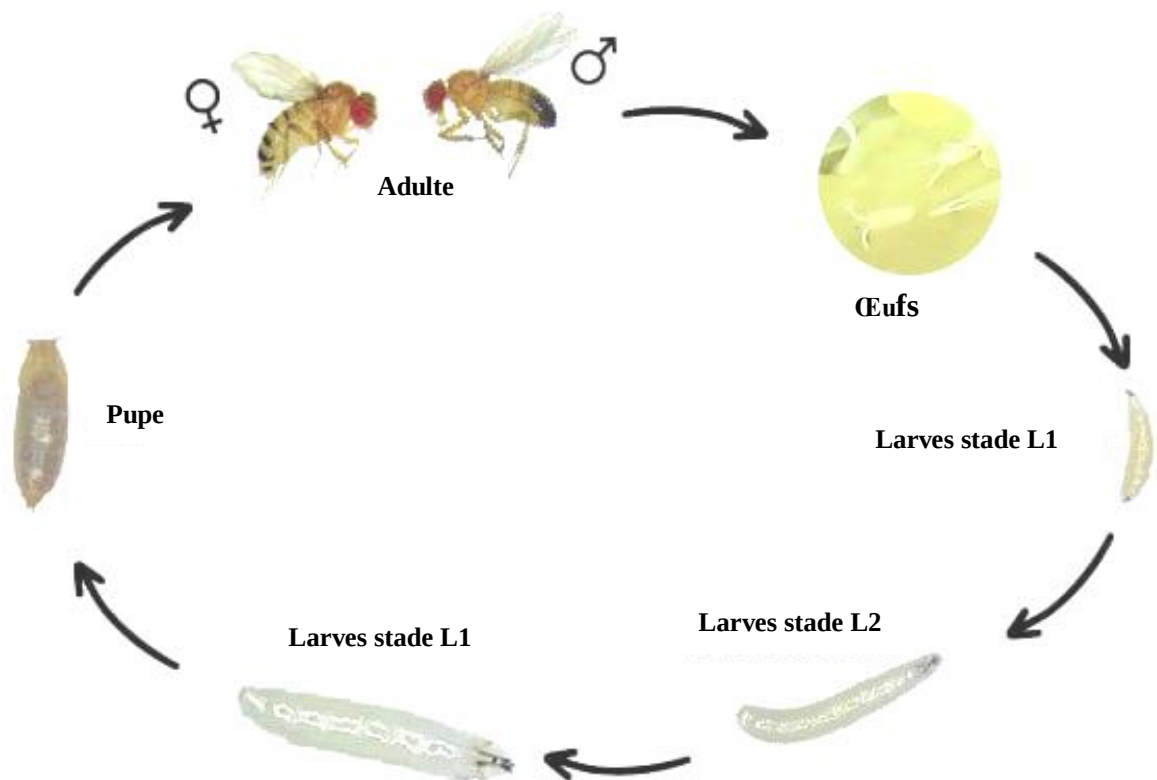


Figure 7 : Schéma du cycle de vie de *D. melanogaster* (Schéma original)

2.1.4. Perception gustative chez *D. melanogaster*:

La gustation chez la mouche du fruit joue un rôle essentiel dans le choix alimentaire et la détection des substances nutritives ou toxiques. *D. melanogaster* consomme principalement des glucides comme source d'énergie et évite les composés amers ou potentiellement toxiques (Ebbs et Amrein, 2007). La perception des stimuli gustatifs est assurée par des récepteurs spécialisés appelés sensilles gustatives. Chez les larves, ces récepteurs sont principalement localisés au niveau de la tête et des régions pharyngiennes (Liman et al., 2014), chez les adultes, ils sont répartis sur les pièces buccales, les tarses des pattes ainsi qu'autour de l'ovipositeur chez la femelle. Les ailes de *D. melanogaster* possèdent également des sensilles gustatives (Raad et al., 2016).

2.1.5. Perception olfactive chez *D. melanogaster*:

La drosophile détecte les odeurs grâce à un organe sensoriel olfactif situé dans l'antenne (Laissue et Vosshall, 2008). Les appendices olfactifs sont recouverts de sensilles qui protègent les neurones sensoriels olfactifs chargés de détecter les odeurs. Une antenne compte environ 410 sensilles olfactives (Farhadian et al., 2012). Ce processus débute par la liaison de molécules odorantes volatiles à leurs récepteurs spécifiques appelé récepteurs olfactifs exprimés sur les neurones sensoriels olfactifs. Chez les larves, le système olfactif est localisé principalement à la région de la tête, la partie de la tête des larves contient deux organe dorsal exprimant 21 les neurones sensoriels olfactifs dans chacune (Heimbec et al., 1999 ; Bose et al., 2015). Par contre, les mouches des fruits adultes détectent les odeurs à travers une paire d'antennes et de mâchoires palpes. Ces appendices sont placés sur la région de la tête, enveloppés de nombreux poils sensoriels appelés sensille. Les sensilles possèdent des neurones sensoriels olfactifs qui sont spécialisés dans la détection des odorants. Chaque antenne a environ 410 sensilles olfactives avec presque 1300 neurones sensoriels olfactifs, alors que le nombre de sensilles olfactifs est jusqu'à 60 dans chaque palpe maxillaire avec environ 120 neurones sensoriels olfactifs (Shanbhag et al., 1999 ; Semaniuk, 2015).

2.1.6. Parade sexuelle chez *D. melanogaster* :

Chez *D. melanogaster*, le succès de la copulation des mâle dépend d'un rituel de parade pré-accouplement qui consiste en une séquence d'éléments comportementaux stéréotypés requiert de nombreux signaux sensoriels comprenant (Greenspan et Faveur, 2000, Sokolowski, 2001).

Lorsqu'un mâle rencontre une partenaire potentielle, il s'oriente face à elle (**Fig. 8**) et touche son abdomen avec l'une de ses pattes avant pour percevoir son identité phéromonale. Si la femelle lui convient, il la suit pendant qu'elle se déplace tout en faisant vibrer ses ailes, produisant ainsi un signal acoustique (**Bennet-Clark et Ewing, 1970 ; Von Schilcher, 1976**). Il va également faire trembler son abdomen, créant des vibrations qui vont être transmises à la femelle via le substrat. Si la femelle est réceptive, le mâle lèche ses genitalia avec son proboscis et tente une copulation en recourbant son abdomen pour accoler son appareil génital à celui de la femelle (**Fabre et al., 2012**).

La femelle de *D. melanogaster* utilise des comportements d'acceptation ou de rejet du mâle lors de la parade sexuelle (**Sturtevant, 1915; Connolly et Cook, 1973**). Si la femelle est trop jeune ou qu'elle s'est déjà accouplée, elle rejettera le mâle et la copulation n'aura pas lieu. Mais si elle est mature, elle ralentira, ouvrira ses plaques vaginales et permettra la copulation (**Spieth, 1952; Lasbleiz et al., 2006**). Une fois accouplée, la femelle pratiquera principalement l'extrusion de l'ovipositeur pour bloquer la copulation (**Lasbleiz et al., 2006; Wang, et al., 2020; Mezzera et al., 2020**). Pendant la parade, les femelles peuvent adopter des comportements tels que se recroqueviller, battre des ailes, expulser l'ovipositeur, se défendre, décamper et donner des coups de pied (**Spieth, 1952 ; Connolly et Cook, 1973 ; Tompkins et al., 1982 ; Villella et Hall, 2008**).

Pendant l'interaction sexuelle chez *D. melanogaster*, les deux partenaires échangent des signaux appartenant à plusieurs modalités sensorielles : visuelle, auditive, olfactive et/ou tactile. La vision donne au mâle des informations directionnelles sur la position de l'autre mouche. L'olfaction et la gustation lui permettent de vérifier l'appartenance spécifique du partenaire (**Villella et Hall, 2008**). L'investissement reproductif de la femelle étant plus élevé que celui du mâle, elle doit optimiser le choix de son partenaire afin d'assurer une descendance de bonne qualité. Pour cela, elle s'appuie principalement sur des signaux olfactifs et auditifs afin d'évaluer la qualité du mâle (**Kohlmeier et al., 2021**).

Chaque signal sensoriel transféré entre les partenaires d'accouplement joue un rôle important mais non déterminant dans le succès de la reproduction. Il est probable que ces signaux agissent ensemble, de manière complémentaire, pour façonner le comportement de la femelle et du mâle, car la perturbation d'une seule modalité sensorielle n'empêche pas la parade nuptiale ni la copulation, bien qu'elle puisse en diminuer le niveau (**Villella et Hall, 2008 ; Dickson, 2008**).

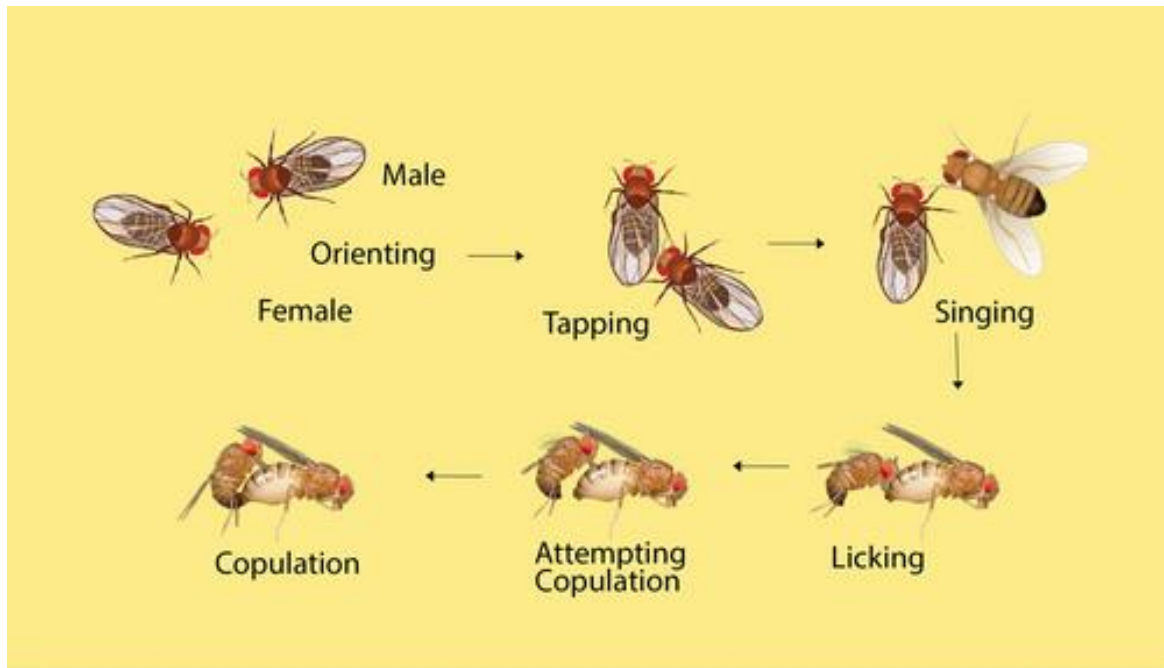


Figure 8 : Représentation schématique des principales étapes de la parade sexuelle chez *D. melanogaster*. Source : (Spieth, 1974)

2.1.7. Elevage de masse:

La souche sauvage de *D. melanogaster* est utilisée pour l'étude de l'impact des bioinsecticides sur la toxicité et certains paramètres de comportement.

Les mouches ont été obtenues à partir des pommes murs de la région d'Annaba en Algérie. Les pommes ont été découpées en petits morceaux et placées dans des boîtes en plastiques pour faciliter le processus de fermentation. Dès que les fruits se décomposent, on remarque de petits asticots qui se déplacent sur le milieu, ils représentent des larves du premier stade. Ces derniers sont immédiatement déplacés sur d'autres milieux préparés au laboratoire composée de 33,33 g semoule de maïs, 33,3 g levure de bière, 7g d'agar-agar, de l'eau distillée selon nécessité et d'antifongique (25 ml de méthyl-hydroxy-4-benzoate à 10% dans l'éthanol 70%). Les cultures ont été établies au laboratoire d'écologie des environnements marins et côtiers (EMMAL), Faculté des sciences, Université Badji Mokhtar d'Annaba (Algérie), et maintenues dans des flacons en verre de 250 mL fermé avec un tampon de mousse contenant des milieux alimentaires en conditions favorable contrôlées (température : 25°C ; hygrométrie : 70% ; scotophase : 12 h.). Cette culture est utilisée comme culture contrôle (Elbah *et al.*, 2016 ; Kihel *et al.*, 2022).



Figure 9 : Flacons d'élevage (Photo originale)

2.2. *Peganum harmala* :

P. harmala (Zygophyllaceae) est une plante large répandue à l'échelle mondiale. En Algérie, elle pousse spontanément dans les régions semi-arides et prédésertiques, où elle est bien adaptée aux conditions climatiques contraignantes (Ghillace *et al.*, 2025). Elle est largement utilisée en médecine traditionnelle, où ses différentes parties, en particulier les graines, sont employées pour traiter diverses affections. Ses propriétés thérapeutiques sont principalement attribuées à la présence d'alcaloïdes de type bêta-carbolines, notamment l'harmine et l'harmaline, qui constituent ses principaux composés actifs (Moloudizargari *et al.*, 2013).

Le nom du *P. Harmala* serait dérivé de celui de la ville de Hermel, au Liban, suggérant une origine géographique ou une association historique avec cette région. Cette plante est connue sous le nom d'« Espand » en Iran, d'« Harmel » en Afrique du Nord et de « rue turque » aux États-Unis (Herraiz *et al.*, 2010). En Algérie, cette espèce est connue sous le nom vernaculaire de « Harmel sahari », largement utilisé dans les contextes traditionnels (Hammiche et Merad, 1997).

2.2.1. Position systématique de *P. harmala* (Ozenda, 1991) :

Règne :	Plantae
Embranchement :	Spermatophytes
Sous embranchement :	Angiospermes
Classe :	Dicotylédones
Sous classe :	Rosidae
Ordre :	Sapindales
Famille :	Zygophyllaceae
Genre :	<i>Peganum</i>
Espèce :	<i>Peganum harmala</i> L

2.2.2. Description de *P. harmala* :

P. harmala est une plante vivace appartenant à la famille des angiospermes. Elle atteint généralement une hauteur comprise entre 40 et 70 cm, avec un diamètre pouvant aller jusqu'à 1 m. La plante se caractérise par une croissance rapide de ses tiges, pouvant former un buisson composé de 60 à 80 rameaux. Les tiges sont souples et présentent une coloration verdâtre à bleuâtre. Les feuilles sont fines, composées et disposées de manière alternée le long des tiges. De forme ovale, elles peuvent atteindre environ 10 cm de longueur et ne présentent pas de stipules. Le système racinaire est fibreux, de couleur brun foncé, et s'enfonce profondément dans le sol, ce qui permet à la plante de s'adapter aux environnements arides (Quézel et Santa, 1963).

La floraison survient généralement entre mars et mai. Les fleurs, de grande taille et de couleur blanche, peuvent atteindre jusqu'à 4 cm de diamètre. Le fruit, qui arrive à maturité en juin, est une capsule globuleuse contenant de nombreuses graines brunâtres, communément appelées graines d'encens. (Akramova, 2024).



Figure 10: Différentes parties de la plante *P. harmala*. Source : (healthyhomegardening.com)

2.2.3. Répartition géographique :

- **Distribution :**

P. harmala est originaire des zones arides et semi-arides des déserts d'Afrique du Nord (Tunisie, Algérie, Libye, Égypte) et d'Asie, d'où elle s'est progressivement étendue vers plusieurs régions du monde, notamment le sud-ouest des États-Unis et le nord du Mexique, ainsi que d'autres zones arides d'Asie centrale et du Moyen-Orient, où elle est largement répandue et fortement adaptée aux conditions de sécheresse (Abbott *et al.*, 2007; Mahmoudian *et al.*, 2002). En Algérie, *P. harmala* est une espèce caractéristique des régions arides et semi-arides. Elle se développe principalement dans les terrains sableux, les lits d'oueds et d'autres milieux favorables, où sa répartition est influencée par les caractéristiques physico-chimiques du sol (Ababou *et al.*, 2013).

- **Habitat et exigence écologiques:**

P. harmala est largement distribué dans les régions arides et semi-arides, ainsi que dans les terrains salés et les pâturages désertiques. Sa répartition est étroitement liée aux sols sableux, aux lits d'oueds et aux milieux anthropisés tels que les agglomérations ainsi qu'aux champs incultes secs, aux décombres et aux steppes terreuses (**Maire, 1933**).

Elle exige des lieux ouverts, ensoleillés, des endroits secs et sols pierreux, il résiste très bien aux sécheresses. Il se développe lorsque le taux de nitrate dans le sol est important celui qui se trouve, surtout, au niveau des stationnements d'animaux (**Aimé, 1988**).

2.2.4. Usage thérapeutique:

Les différentes parties de *P. harmala* sont largement utilisées en médecine traditionnelle pour le traitement de diverses affections humaines, notamment en raison de leurs propriétés antispasmodiques et antipyrétiques (**Chopra et al., 1956**). Cette plante est également associée à plusieurs activités pharmacologiques importantes, incluant des effets antimicrobiens, antibactériens, anti-inflammatoires, antidiabétiques, anticancéreux, hypothermiques et hallucinogènes (**Abdel-Fattah et al., 1995 ; Abdel Aziz et al., 2011 ; Abbas et al., 2021 ; Wang et al., 2022 ; Akdoğan et al., 2025 ; Khazaei et al., 2025 ; Muddather et al., 2025**). Elle est également utilisée dans le traitement de nombreuses affections telles que la fièvre, le paludisme, les maladies cardiovasculaires, la maladie de Parkinson, la maladie d'Alzheimer, l'arthrite et les douleurs (**Abdel-Fattah et al., 1995 ; Berrougui et al., 2006 ; Astulla et al., 2008 ; Farouk et al., 2008 ; Moloudizargari et al., 2017 ; Rasul et al., 2022**).

2.2.5. Toxicité de la plante :

L'utilisation excessive de fortes doses d'extrait de *P. harmala* peut entraîner une toxicité hépatique, rénale et neuropathique grave (**Gökkaya et al., 2023**). Les effets observés incluent notamment des troubles visuels, une hypersensibilité aux sons, une sensation de vertige ainsi que des bourdonnements d'oreilles (**Mohammadi et al., 2016**). Elle a également été associée à des hallucinations visuelles et auditives, une ataxie locomotrice, des nausées, des vomissements, de la confusion et de l'agitation (**Frison et al., 2008**), ainsi qu'à des troubles de la conscience, une contraction utérine et une oligurie (**Berdai et al., 2014**).

La toxicité est liée à la présence de différents alcaloïdes β -carbolines, notamment l'harmine, l'harmaline et la tétrahydroharmine, présents dans les différentes parties de la plante. Ces composés peuvent agir sur le système nerveux central en modulant le métabolisme

des neurotransmetteurs et en interagissant avec certains récepteurs, ce qui explique les effets neurologiques et physiologiques observés (**Frison et al., 2008**).

2.2.6. Aspects phytochimiques :

Les composants phytochimiques de *P. harmala* mettent en évidence une grande richesse en métabolites secondaires biologiquement actifs. Les analyses phytochimiques révèlent la présence de plusieurs groupes de composés chimiques, notamment les flavonoïdes, les alcaloïdes, les saponines, les tanins, les glycosides, les terpénoïdes ainsi que les stéroïdes (**Ghillace et al., 2025**). Cette diversité chimique explique l'intérêt pharmacologique important accordé à cette plante aussi bien dans la médecine traditionnelle (**Liu et al., 2022**).

Les principaux composés actifs de la plante sont des alcaloïdes de type bêta-carboline, notamment l'harmane ($C_{12}H_{10}N_2$), l'harmaline ($C_{13}H_{14}N_2O$), l'harmine ($C_{13}H_{12}N_2O$) et l'harmalol ($C_{12}H_{12}N_2O$) (**Fig.11**) (**Faskhutdinov et al., 2000 ; Lamchouri et al., 2000**). La teneur en alcaloïdes s'élève brusquement en été, durant la phase de mûrissement du fruit, au moment de la récolte de la graine. L'harmaline est un méthoxy harmalol et une dihydroharmine, elle constitue les 2/3 des alcaloïdes totaux de la graine (**Tahrouch et al., 2002**).

La composition des alcaloïdes dans les graines et les racine est plus riche, suivie par les feuilles et les tiges, la présence de ces composants et d'autres métabolites secondaires pourrait expliquer l'effet toxique de la plante sur les animaux

(**Saeedeh et al., 2022**).

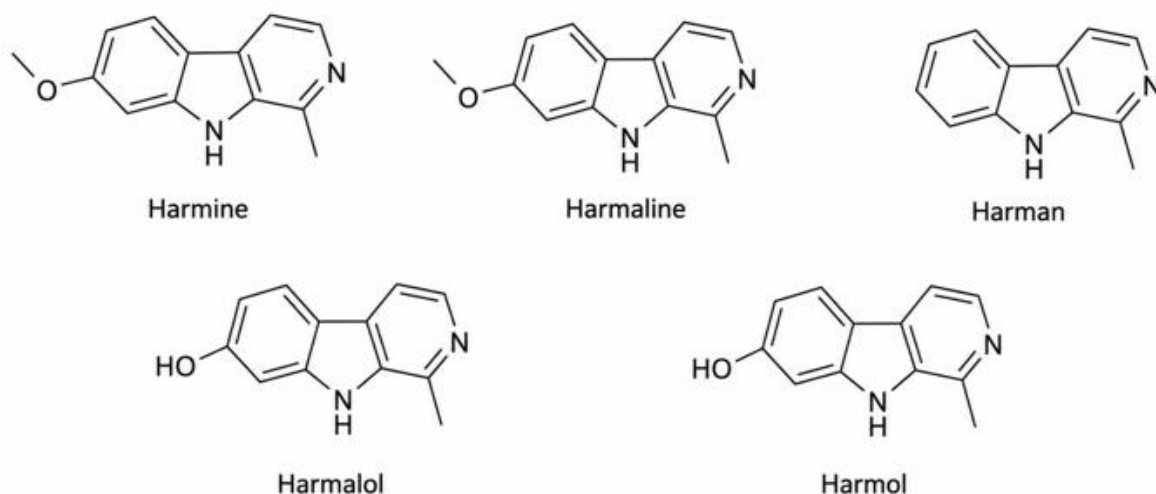
Dérivés de β -carbolines

Figure 11 : Les structures des alcaloïdes de *P. harmala*. Source : (Bensalem *et al.*, 2014)

2.2.7. Préparation de l'extrait aqueux :

Les plantes de *P. harmala* ont été collectées dans la région d'El Harmilia, située dans la province d'Oum El-Bouaghi en Algérie (35°55'25 » N, 6°37'09 » E). Un extrait aqueux a été préparé en laboratoire à l'aide de 500 g de feuilles fraîches de *P. harmala*, qui ont été soigneusement rincées et hachées finement avant d'être bouillies dans 1,5 litre d'eau distillée. La décoction a été maintenue à ébullition pendant 30 minutes pour faciliter l'extraction des composés bioactifs. Après le refroidissement, le mélange a été filtré à travers un papier filtre Whatman pour séparer la phase liquide des résidus végétaux. L'extrait aqueux obtenu, correspondant à une solution mère d'une concentration initiale de 500 mg/mL, a été recueilli dans une fiole stérile.

2.3. Spinosad :

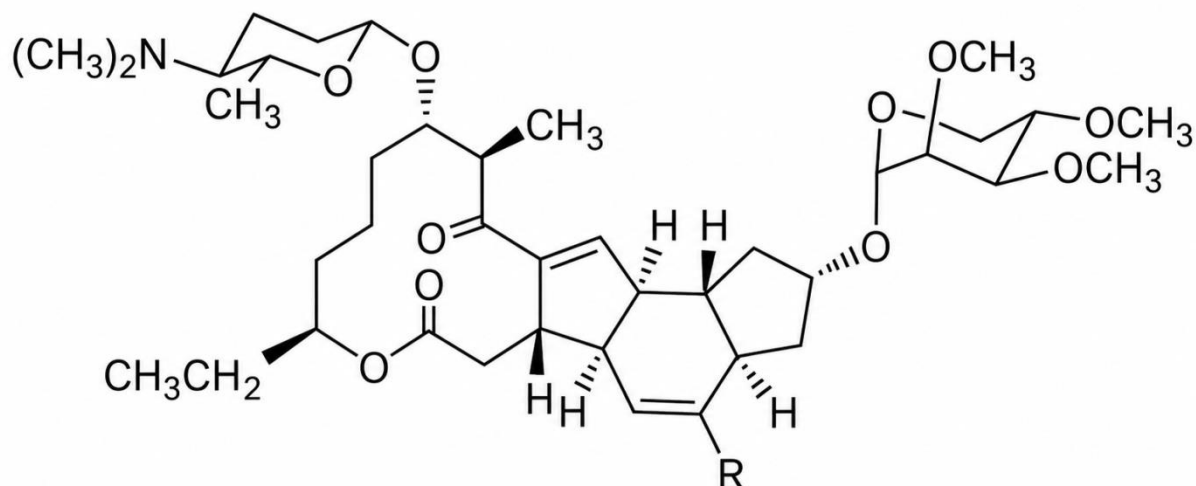
Le spinosad est un biopesticide d'origine naturelle, reconnues pour leur forte activité insecticide grâce à son efficacité contre de nombreux ravageurs agricoles et certains vecteurs de maladies comme *Aedes aegypti*, il est largement utilisé en agriculture et en santé publique, il présente plusieurs avantages, tels qu'une grande efficacité à faibles doses et une dégradation relativement rapide dans l'environnement. En raison de ces caractéristiques, il est considéré comme une alternative intéressante aux pesticides (Santos et Pereira, 2019).

Le spinosad est constitué d'un mélange de deux lactones macrocycliques, la spinosyne A ($C_{41}H_{65}NO_{10}$) et la spinosyne D ($C_{42}H_{67}NO_{10}$) (Fig. 12). Ces molécules sont produits naturellement par la *Saccharopolyspora spinosa* (Actinomycétales : Pseudonocardiaaceae), isolée et identifiée dans les années 1980 (Mertz et Yao, 1990 ; Spark et al., 1998).

2.3.1. Propriétés physiques et chimiques du spinosad :

Le spinosad est constitué d'un mélange naturel de spinosyne A et de spinosyne D. La spinosyne A est le composé le plus abondamment synthétisé lors de la fermentation de *S.spinosa* suivie de la spinosyne D (Fig. 12, 13) (Kirst, 2010). Sur le plan structural, ces composés sont des macrolides et possèdent un système tétracyclique unique auquel sont liés deux sucres différents. Après la fermentation, le spinosad est extrait et transformé en une suspension aqueuse conventionnelle hautement concentrée, facilitant son utilisation et sa distribution. Le spinosad est un solide cristallin de couleur gris clair à blanc, à odeur terreuse légère (Thompson et al., 2000).

Le spinosyne A et le spinosyne D présentent des propriétés physicochimiques relativement proches, bien que certaines différences soient observées. Le spinosyne A possède une formule moléculaire de $C_{41}H_{65}NO_{10}$ et une masse moléculaire de 731,9 g/mol, tandis que le spinosyne D possède une formule moléculaire de $C_{42}H_{67}NO_{10}$ avec une masse moléculaire légèrement plus élevée de 745,9 g/mol. Le point de fusion du spinosyne A est de 120 °C, alors que celui du spinosyne D atteint 170 °C. Leur solubilité varie fortement selon le solvant : le spinosyne A est beaucoup plus soluble dans l'eau, le méthanol et l'acétone que le spinosyne D. Les deux composés présentent une très faible pression de vapeur, ce qui indique une faible volatilité. Enfin, leurs coefficients de partage octanol/eau élevés montrent qu'ils sont relativement lipophiles, le spinosyne D étant légèrement plus lipophile que le spinosyne A (Sparks et al., 2001).



spinosyn A, R = H-

spinosyn D, R = CH₃-

Figure 12 : Structure chimique du spinosad. Source : (Sarfraz *et al.*, 2005).

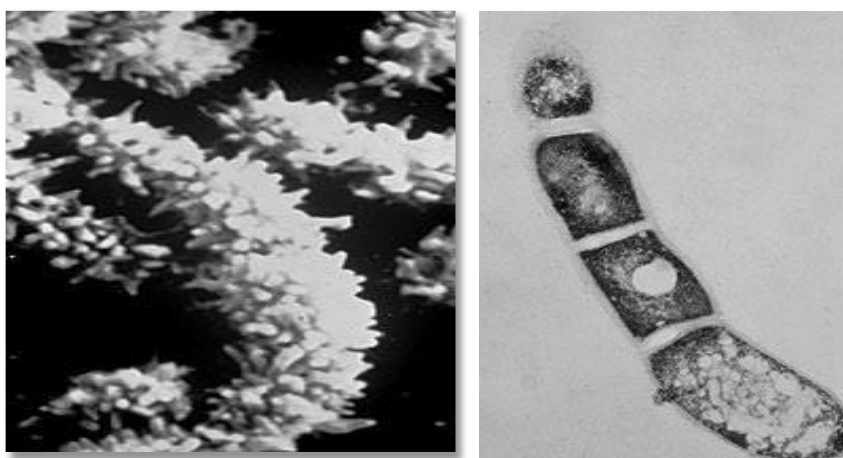


Figure 13 : *Saccharopolyspora spinosa* : surface épineuse de l'actinomycète (à gauche) et vue transitoire du stade végétatif (à droite). Source : (Thompson *et al.*, 1999)

2.3.2. Mode d'action:

Le spinosad présente une activité de contact et d'ingestion rapide chez les insectes, ce qui est inhabituel pour un produit biologique. Le mode d'action du spinosad est caractérisé par l'excitation du système nerveux de l'insecte, entraînant des contractions musculaires involontaires, une prostration avec tremblements et une paralysie. Ces effets sont compatibles

avec l'activation des récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine par un mécanisme qui est clairement nouveau et unique parmi les produits de lutte contre les insectes connus.

Le spinosad a également des effets sur la fonction du récepteur GABA qui peuvent contribuer davantage à l'activité de ses insectes. Ce mode d'action est unique (Salgado, 1998). Dans l'environnement, il se dégrade principalement par photolyse et action microbienne. Sa toxicité est faible pour les mammifères, les oiseaux et la plupart des insectes utiles (Santos et Pereira, 2020).

2.3.3. Usage et applications du spinosad :

Le spinosad, composé des spinosynes naturelles A et D, se distingue par son mode d'action unique et sa forte bioactivité. Il présente également un profil environnemental et toxicologique favorable, ce qui en fait une alternative intéressante pour les programmes de lutte intégrée contre les ravageurs (Waldron *et al.*, 2000 ; Crouse *et al.*, 2018).

Les produits à base de spinosad sont actuellement utilisés dans plus de 85 pays et concernent plusieurs domaines d'application, notamment les cultures agricoles, les céréales et grains stockés, les environnements urbains ainsi que les animaux de compagnie. Certaines formulations sont également autorisées en agriculture biologique. Depuis les années 2000, des formulations spécifiques ont été développées pour la lutte contre les moustiques dans différents habitats, avec des résultats efficaces rapportés à l'échelle mondiale (Elkins et Spiegelman, 2021). En général, le spinosad est utilisé pour lutter efficacement contre divers ravageurs appartenant principalement aux ordres des Lépidoptères, des Diptères (Wang *et al.*, 2021; Elsayed *et al.*, 2020). Il présente également une toxicité envers certaines espèces de Coléoptères, d'Hyménoptères, d'Isoptères, de Siphonaptères, de Dermaptères et de Lépidoptères (Nayak *et al.*, 2007 ; Dryden *et al.*, 2017; Tunca et Çayci ; Ahissou *et al.*, 2024 ; El sayed *et al.*, 2023 ; 2024 ; Hassan *et al.*, 2024 ; Agrafioti *et al.*, 2025).

2.4. Conception expérimentale :

2.4.1. Préparation de la culture expérimentale et des contrôles :

Les tests ont été réalisés en utilisant l'extrait aqueux de *P. harmala* (préparé selon la méthode décrite précédemment) et le spinosad (240 SC, Dow AgroScience, Algérie), dilués dans l'eau distillée aux concentrations appropriées.

Les traitements à base de spinosad et l'extrait aqueux de la plante *P. harmala* ont été administrés par ingestion aux larves de 2^e stade (un volume de 10ml d'extrait aqueux de *P. harmala* et le spinosad ont été introduits dans 40 g du milieu nutritif), un groupe témoin a

été inclus dans les expériences, dans lequel les individus ont été traités uniquement avec de l'eau distillée. Les adultes nouvellement émergés ont ensuite été maintenus individuellement dans des tubes contenant le substrat traité ou témoins dans des conditions de laboratoire contrôlées ($24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$; 65 à 75% d'humidité relative) (Elbah *et al.*, 2016 ; Kihel *et al.*, 2022).

2.4.2. Test de toxicité :

L'efficacité de l'extrait aqueux de *P. harmala* et du spinosad (280 SC) sur la mortalité de *D. melanogaster* a été évaluée en laboratoire, selon quatre concentrations pour chaque traitement :

-Le spinosad (0,025, 0,050 , 0,100, 0,200 mg/mL).

-L'extrait aqueux de *P. harmala* (50, 100, 200, 300 mg/mL).

Un volume de 10 mL des différentes concentrations de l'extrait aqueux de *P. harmala* et du spinosad est mélangé à 40 g de nourriture. Ce mélange est ensuite réparti dans trois tubes, dans lesquels 20 larves de deuxième stades issues de la culture contrôle sont ajoutées à chaque tube. Un quatrième tube, contenant le même milieu de culture traité avec 10 mL d'eau distillée et recevant également 20 larves de deuxièmes stades, sert de témoin.

Le suivi de la mortalité se fait quotidiennement pendant 15 jours, les paramètres toxicologiques, les concentrations et temps létaux (CL_{20} , CL_{50} , CL_{90} , TL_{20} , TL_{50} et TL_{90}) ont été calculés.

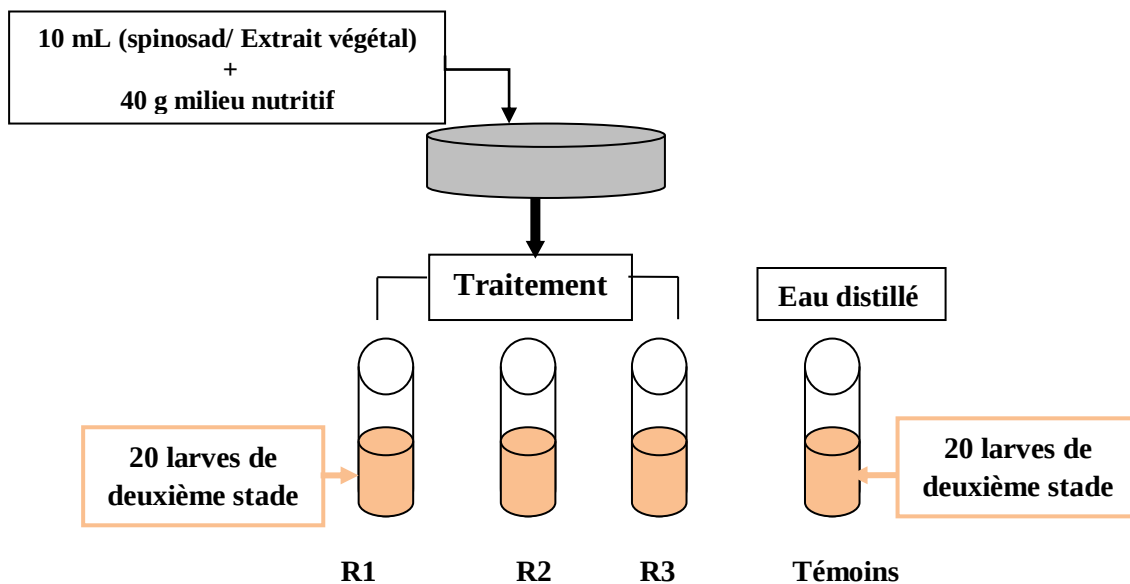


Figure 14 : Représentation schématique du traitement des larves de deuxième stade (Schéma original)

2.4.3. Isolation de la souche résistante:

Après des essais toxicologiques d'un extrait aqueux de *P. harmala* et de spinosad contre les larves de deuxième stade de *D. melanogaster*. Nous avons isolé les individus survécus provenant des divers traitements pendant douze générations dans un milieu traité à différentes concentrations de l'extrait de la plante (50,100, 200, 300 mg/mL) et le spinosad (0,025, 0,050, 0,100, 0,200 mg/mL). Au cours de chaque génération, les individus survivants ont été conservés et regroupés dans de nouveaux milieux traités afin de favoriser leur accouplement et la production d'une nouvelle génération. Parallèlement, une souche témoin a été maintenue dans les mêmes conditions expérimentales, mais sur un milieu de culture non traité, additionné uniquement d'eau distillée. Cette souche témoin a été élevée sur douze générations successives.

Cette méthode vise à enrichir la population en individus conduisant à l'obtention d'une souche potentiellement résistante aux traitements étudiés. Celle-ci est ensuite être utilisée pour les testes de toxicités et comportement sexuel ainsi que l'étude de l'oviposition.

- **Test de toxicité sur la souche résistante de *D. melanogaster* :**

La résistance à la toxicité a été évaluée chez les souches résistantes de *D. melanogaster* exposées à différentes concentrations de l'extrait aqueux de *P. harmala* et du spinosad.

Les larves issues de ces populations ont été soumises aux mêmes protocoles toxicologiques que ceux décrits précédemment. L'évaluation de la toxicité a été réalisée tous les deux générations sur des larves de deuxième stade (L2), et ce pendant douze générations successives.

Les paramètres toxicologiques ont ensuite été déterminés, notamment les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) ainsi que les temps létaux (TL₅₀ et TL₉₀), afin d'évaluer l'évolution du niveau de tolérance au cours des générations.

2.4.4. Test du comportement sexuel :

Les tests de comportement sexuel visaient à évaluer l'impact de la concentration sublétales de la plante de *P. harmala* et le spinosad sur la parade nuptiale de *D. melanogaster*. Des groupes de Vingt-cinq mouches femelles et mâles âgées de 3 à 5 jours issu de différentes cultures contrôles et expérimentales (traités avec une concentration sublétales de spinosad et l'extrait aqueux de la plante *P. harmala*) ont été introduits dans une

cellule comportementale pour étudier certaines activités de la parade nuptiale (**Spieth et al., 1983**).

Les tests ont toujours lieu entre 9h et 13h, période qui correspond au pic d'activité comportementale des mouches (**Grillet et al., 2006**).

La séquence de la parade sexuelle a été directement observée, durant une période de 30 minutes. La description de l'observation de comportement sexuel est réalisée selon **Hegde et Krishnamurthy en (1979)**, les événements nuptiaux orientation, tapotement, vibration, léchage, tentation de copuler (**Liimatainen et Hoikkala, 1998**). Ainsi que la latence et la durée de la copulation de chaque paire sont notés. Ces tests sont réalisés selon quatre types de croisements :

- Mâle témoin X femelle témoin,
- Mâle traité X femelle traitée,
- Mâle témoin X femelle traitée,
- Mâle traité X témoin traitée.

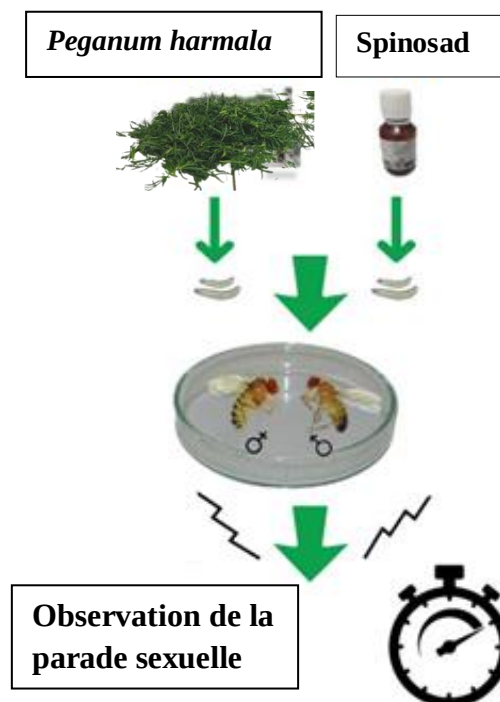


Figure 15 : Représentation schématique du teste de comportement sexuel
(Schéma original)

2.4.5. Test du comportement d'oviposition :

L'oviposition c'est l'action de déposer des œufs dans un milieu le plus favorable pour permettre une éclosion optimale et avoir un meilleur rendement. Une expérience a évalué les effets du spinosad et de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur la fécondité par ingestion et par contact.

Vingt-cinq femelles accouplées lors des tests comportementaux ont été placées individuellement dans des chambres de ponte en plastique, chacune comportant deux substrats distincts : l'un contenant le milieu de culture non traité (témoin) et l'autre contenant un milieu traité avec la concentration sublétalement du composé testé. Après une période de 48 heures, les œufs déposés ont été comptés à l'aide d'un stéréomicroscope CetiSteddy (**Renou et al., 1997**). En parallèle, une analyse détaillée des sites de ponte a été réalisée afin de déterminer les préférences spatiales des femelles et d'identifier si le traitement influençait le choix du site de ponte.

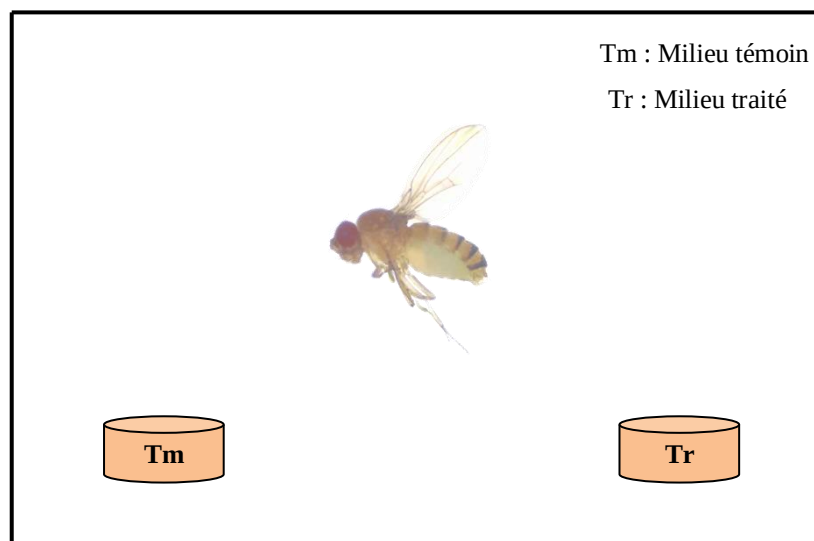


Figure 16 : Représentation schématique du teste d'oviposition (**Schéma original**)

2.4.6. Etude comportementale des souches résistantes :

Pour étudier l'effet différé du traitement à une concentration sublétalement sur le comportement sexuel et l'oviposition des souches résistantes de *D. melanogaster*, un protocole expérimental rigoureux a été mis en place au sein du laboratoire, garantissant la continuité et la reproductibilité de l'expérience sur plusieurs générations. L'ensemble des manipulations a été réalisé dans des conditions strictement contrôlées,

À chaque génération, les femelles et les mâles nouvellement émergés, âgés de 3 à 5 jours issus des groupes témoins et traités, ont été soumis au test de comportement sexuel précédemment décrit. Chaque couples a été observé de manière individuelle afin d'évaluer différents paramètres du comportement reproducteur, tels que la latence à l'accouplement, la durée de l'accouplement.

Cette approche a permis d'assurer un suivi longitudinal des effets de la concentration sublétales sur le comportement sexuel, en distinguant les influences directes du traitement sur les individus exposés et les effets transgénérationnels sur leurs descendants.

L'effet du traitement sur l'oviposition a été évalué conformément au protocole précédemment décrit. Les femelles accouplées ont été placées dans des conditions standardisées pour la ponte, et le nombre d'œufs déposés sur les substrats témoins et traités a été enregistré. Cette méthode a permis de mesurer la production d'œufs et d'évaluer l'impact du traitement à la concentration sublétales sur la reproduction des femelles résistantes.

L'ensemble de ces observations comportementales et reproductives a été réalisé sur 12 générations successives, permettant ainsi d'apprécier les effets du traitement sur la potentiel de reproduction.

2.4.7. Comportement alimentaire :

- **Test de préférence larvaire:**

Le test olfactif a été réalisé selon la méthode décrite par **Cobb et al., (1992)**, dans le but d'évaluer la réponse des larves de troisième stade de *D. melanogaster* à différentes sources odorantes. Cette approche permet d'analyser leur attraction ou leur répulsion vis-à-vis d'un milieu témoin et un milieu traité, offrant ainsi une mesure précise de leur comportement olfactif.

L'expérience consiste à placer les larves dans des conditions contrôlées où ils peuvent choisir entre des sources odorantes, afin d'analyser leur préférence et leur comportement face aux stimuli olfactifs.

L'essai d'attraction olfactive a été réalisé en utilisant des boîtes de Pétri standard de 90 mm de diamètre et 20 mm de hauteur, choisies pour offrir une surface suffisante permettant aux larves de se déplacer librement et facilitant l'observation de leur comportement. Chaque boîte a été recouverte d'une fine couche de gélose préparée à partir d'eau distillée, à laquelle 2 % d'agar ont été ajoutés afin d'obtenir un substrat solide. La gélose a été préalablement chauffée jusqu'à ébullition pour assurer une dissolution complète

de l'agar, puis refroidie après d'être versée uniformément dans chaque boîte. Cette surface permettait le déplacement libre des larves.

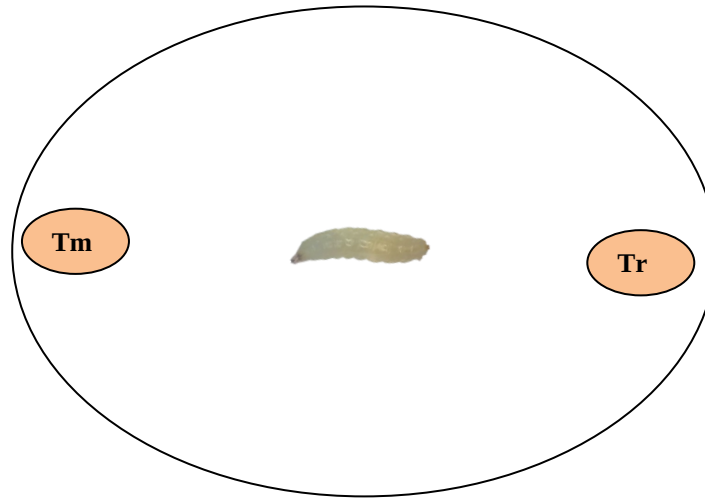


Figure 17 : Schéma du test d'olfaction (Schéma original)

- **Suivi des larves :**

Des groupes de 20 larves de troisième stade (L3), issues des séries témoins et des lots traités par des concentrations sublétales (spinosad et extrait aqueux de *P. harmala*), ont été sélectionnés de manière aléatoire pour l'expérimentation. Les larves ont été collectées à l'aide d'un pinceau fin, puis transférées individuellement dans des boîtes de Pétri, préalablement préparées pour les tests comportementaux.

Le comportement des larves a été observé pendant une durée de 30 minutes pour chaque individu. Les paramètres enregistrés comprenaient le choix du substrat (orientation vers un milieu donné) et le temps de latence avant la détection des substances odorantes.

Les larves témoins et traitées ont été exposées à différentes combinaisons de milieux afin d'évaluer leur réaction aux substances testées :

- Milieu témoin vs Milieu traité (n = 20),
- Milieu traité vs Milieu traité (n = 20),
- Milieu traité vs Milieu traité (n = 20).

2.5. Analyse statistique :

- **Tests de toxicité :**

La normalité est vérifiée par le test de Shapiro-Wilk à travers les taux de mortalité de *D. melanogaster*.

Les concentrations létales (CL₂₀, CL₅₀, CL₉₀) et les temps létaux (TL₂₀, TL₅₀, TL₉₀) ainsi que leurs intervalle de confiance 95% et ses valeurs chi-carré (χ^2), ont été estimés par l'analyse des probits, en ajustant un modèle de régression probit à la relation entre le taux de la mortalité de *D.melanogaster* et les concentrations logarithmiques de spinosad et l'extrait aqueux de *P. Harmala* (Finney, 1971).

Toutes les données de mortalité en pourcentage ont été corrigées à l'aide de la formule d'Abbott :

MC

$$= \frac{\text{Mortalité observée chez insctes traités} - \text{Mortalité observée chez les insectes témoins}}{100 - \text{Mortalité observés chez les insectes témoins}}$$

La mortalité enregistrée chez les témoins étant nulle, les valeurs de mortalité corrigée sont identiques aux valeurs de mortalité observée.

Le pourcentage de mortalité observée a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Mo\%} = \frac{\text{Nombre des individus morts après traitement}}{\text{Nombre total des individus}} \times 100$$

Toutes les analyses statistiques et représentations graphiques ont été traitées par le logiciel statistique SPSS version 27 (IBM SPSS, 2020).

Les rapports de résistance (RR) ont été calculés à l'aide de la formule suivante :

$$\text{RR} = \frac{\text{CL}_{50}}{\text{CL}_{50} \text{ de la souche susceptible}}$$

- **Tests comportementaux:**

Les différents paramètres mesurés ont été analysés statistiquement à l'aide de méthodes descriptives, comprenant les moyennes, les écarts-types. Les résultats ont été comparés à l'aide d'une analyse de la variance (ANOVA) réalisée avec le logiciel XLSTAT software, version 2024.

Les résultats des tests de choix obtenus ont été comparés en utilisant la simulation de Monté-Carlo, basée sur un test Chi2 au seuil $\alpha = 0,05$ (Vaillant et Derrij, 1992).

La fréquence d'accouplement ont été calculé a l'aide de la formule suivante :

$$\text{Fréquence d'accouplement} = \frac{\text{Nombre d'accouplements réussis}}{\text{Nombre d'accouplements total}} \times 100$$

Un Indice de Préférence d'oviposition (IPO) est calculé selon (Flaven-Pouchon *et al*, 2014) comme suit :

$$\text{OPI} = \frac{(\text{nombre d'œufs sur un milieu traité}) - (\text{nombre d'œufs sur milieu témoin})}{(\text{nombre d'œufs sur le milieu traité}) + (\text{nombre d'œufs sur le milieu témoin})}$$

L'indice de réponse olfactif a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{IR} = \frac{(\text{Nombre des traités} - \text{Nombre des témoins})}{\text{Nombre total}} \times 100$$

Résultats

3. Résultats :

3.1. Etude des effets toxiques et différés du spinosad sur *D. melanogaster* :

3.1.1. Effets toxiques du spinosad sur *D. melanogaster* :

3.1.1.1. Effets des concentrations du spinosad sur la mortalité :

Les résultats ont montré que le taux de mortalité de *D. melanogaster* augmentait de manière significative en fonction des concentrations appliquées et de la durée d'exposition ($F = 162,76$; $p < 0,001$). En effet, plus la concentration du traitement et la durée d'exposition augmentaient, plus la mortalité des individus était élevée. Après 15 jours de traitement, le taux de mortalité a atteint 100 % à la concentration la plus élevée (0,200 mg/mL) et 80 % à la concentration de 0,100 mg/mL. En revanche, les concentrations les plus faibles (0,025 mg/mL et 0,050 mg/mL) ont provoqué une mortalité relativement faible après deux jours de traitement, avec des taux respectifs de 8,33 % et 18,33 % (Fig. 18).

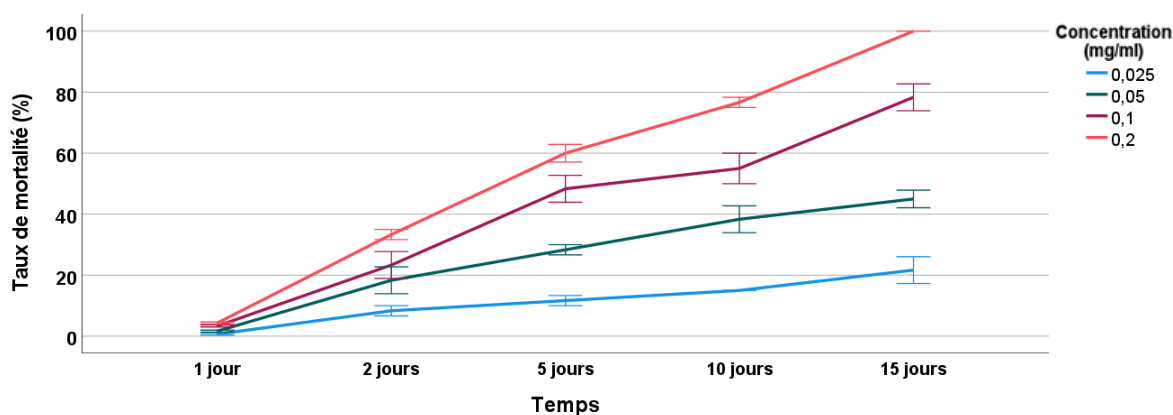


Figure 18: évolution du taux de mortalité de *D. melanogaster* en fonction des concentrations du spinosad au cours du temps (Moyenne $\pm$ SE)

3.1.1.2. Paramètres toxicologiques du spinosad sur *D. melanogaster* :

Les résultats ont mis en évidence l'existence d'une corrélation positive entre les différentes concentrations du spinosad appliquées et le taux de mortalité de *D. melanogaster* ; le coefficient de détermination « R^2 » est de 0,770 à 0,919. En effet, l'augmentation des concentrations s'est accompagnée d'une augmentation progressive de la mortalité des individus. Après 15 jours d'exposition, une mortalité de 50 % des individus a été obtenue à la concentration de 0,060 mg/mL, tandis qu'une mortalité de 90 % a été atteinte à la concentration de 0,121 mg/mL (Tab. 1).

Tableau 1 : Paramètres toxicologiques du spinosad (Concentrations létales) sur *D. melanogaster*

Temps (Jours)	Droite de Régression (R ²)	CL ₂₀ Intervalle de confiance à 95% (mg/mL)	CL ₅₀ Intervalle de confiance à 95% (mg/mL)	CL ₉₀ Intervalle de confiance à 95% (mg/mL)
1	Y = -1,61 + 4,54X (0,770)	0,171 (0,126 - 0,294)	0,349 (0,251 - 0,763)	0,618 (0,419 - 1,497)
2	Y = -1,33 + 4,83X (0,785)	0,095 (0,035 - 0,142)	0,287 (0,211 - 0,576)	0,581 (0,398 - 1,316)
5	Y = -1,09 + 7,48X (0,821)	0,025 (-0,026 - 0,054)	0,145 (0,120 - 0,184)	0,327 (0,264 - 0,458)
10	Y = -0,97 + 9,06X (0,856)	0,090 (-0,033 - 0,035)	0,104 (0,085 - 0,126)	0,249 (0,209 - 0,320)
15	Y = 1,26 + 20,95X (0,919)	0,020 (0,001 - 0,032)	0,060 (0,050 - 0,070)	0,121 (0,105 - 0,148)

Selon le tableau 2, les résultats ont montré une corrélation positive entre la durée d'exposition et la mortalité des individus, avec un coefficient de détermination élevé (R² = 0,747 à 0,916), indiquant que l'augmentation de la durée d'exposition entraînait une augmentation progressive du taux de mortalité. Cette tendance met en évidence un effet dépendant du temps, où les effets toxiques du spinosad deviennent de plus en plus importants au cours de l'exposition. 90 % des individus ont été éliminés à la concentration la plus élevée de 0,200 mg/mL après 11 jours, tandis que 50 % de la population a été éliminée après 4 jours (Tab. 2).

Tableau 2 : Paramètres toxicologiques du spinosad (Temps létaux) sur *D. melanogaster*

Concentrations (mg/mL)	Droite de Régression R ²	TL ₂₀ Intervalle de confiance à 95% (Jours)	TL ₅₀ Intervalle de confiance à 95% (Jours)	TL ₉₀ Intervalle de confiance à 95% (Jours)
0,025	Y = -1,55 + 0,05X (0,747)	13,454 (9,900 - 24,007)	28,443 (20,146 - 63,080)	51,267 (34,409 - 123,915)
0,050	Y = -1,08 + 0,08X (0,742)	3,767 (0,103 - 5,986)	15,301 (12,378 - 21,299)	32,864 (25,322 - 50,364)
0,100	Y = -0,94 + 0,12X (0,868)	0,542 (2,142 - 2,306)	7,957 (6,620 - 9,487)	19,247 (16,357 - 24,030)
0,200	Y = -0,79 + 0,16X (0,916)	0,111 (1,547 - 1,288)	4,580 (3,663 - 5,469)	11,385 (9,961 - 13,472)

3.1.2. Etude des effets différés du spinosad sur le comportement sexuel de *D. melanogaster* :

3.1.2.1. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur la parade nuptiale :

Les résultats ont montré que les couples témoins réussissaient une parade complète à 100 % lors des différentes séquences, tandis que chez les couples traités, le déroulement de la parade sexuelle était perturbé, notamment au niveau du léchage et de la tentative d'accouplement, ce qui entraînait une baisse du taux de succès de copulation. De plus, le taux de réussite d'accouplement diminuait et atteignait respectivement seulement 16 %, 24 % et 52 % chez les couples dont les mâles et les femelles étaient traités, ou lorsque l'un des partenaires était traité (**Tab. 3**).

Tableau 3 : Taux de réussite des séquences de la parade nuptiale de *D. melanogaster*

Croisement	Orientation	Contact	Vibration	Léchage	Tentative	Copulation
♂Tm × ♀Tm	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
♂Tm × ♀Tr	100 %	100 %	100 %	88 %	76 %	52 %
♂Tr × ♀Tm	100 %	100 %	100 %	76 %	60 %	24 %
♂Tr × ♀Tr	100 %	100 %	100 %	80 %	52 %	16 %

(♂Tm : Mâle témoin, ♂Tr : Mâle traité ♀ Tm : Femelle témoin ; ♀ Tr : Femelle traitée)

3.1.2.2. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur les temps des séquences de la parade nuptiale :

Les résultats ont indiqué que l'apparition initiale de l'expression sexuelle a été observée chez les couples témoins avec un temps moyen de $17,84 \pm 1,03$ secondes, alors que les autres croisements traités ont présenté des durées plus longues, atteignant $181,60 \pm 5,58$ secondes chez les couples dont les mâles et les femelles étaient traités. Des niveaux d'activité sexuelle plus élevés ont été observés chez les croisements traités, tels que des vibrations, des léchages et des tentatives d'accouplement, ainsi qu'une augmentation de la latence d'accouplement, qui a atteint $995,25 \pm 48,52$ secondes. L'analyse des variances a révélé des différences très hautement significatives ($p < 0,0001^{***}$) (**Tab. 4**).

Tableau 4 : Temps de déclenchement des séquences de la parade nuptiale de *D. melanogaster* (Moyenne $\pm$ SEM)

Croisements	Orientation	Contact	Vibration	Léchage	Tentative	Copulation
♂Tm $\times$ ♀Tm	17,84 $\pm$ 1,03	26,24 $\pm$ 2,26	39,32 $\pm$ 3,08	60,96 $\pm$ 4,33	72,04 $\pm$ 4,13	114,32 $\pm$ 7,52
♂Tm $\times$ ♀Tr	66,32 $\pm$ 2,69	82,16 $\pm$ 4,37	114,68 $\pm$ 4,24	192,36 $\pm$ 7,10	238,89 $\pm$ 8,97	343,38 $\pm$ 11,82
♂Tr $\times$ ♀Tm	110,84 $\pm$ 3,20	126,80 $\pm$ 5,20	139,16 $\pm$ 5,66	241,26 $\pm$ 7,83	335,20 $\pm$ 12,52	544,33 $\pm$ 35,99
♂Tr $\times$ ♀Tr	181,60 $\pm$ 5,58	201,52 $\pm$ 8,91	248,16 $\pm$ 10,21	402,10 $\pm$ 13,02	500,07 $\pm$ 19,90	995,25 $\pm$ 48,52
F	12,620	13,358	9,231	9,680	10,843	9,048
p	< 0,0001***	< 0,0001***	< 0,0001***	< 0,0001***	< 0,0001***	0,0001***

(♂Tm : Mâle témoin, ♂Tr : Mâle traité, ♀Tm : Femelle témoin, ♀Tr : Femelle traitée, ***: Très hautement significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

3.1.2.3. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur la durée de copulation :

Selon les résultats, les croisements témoins ont enregistré la durée de copulation la plus longue, 1270,80 $\pm$ 11,82 secondes. En revanche, les couples traités ont montré une réduction significative du temps de copulation, allant de 1034,33 $\pm$ 37,86 à 784,00 $\pm$ 117,80 secondes. L'analyse des variances a révélé des différences hautement significatives ($F = 11,647$; $p = 0,0001***$) (Fig. 19).

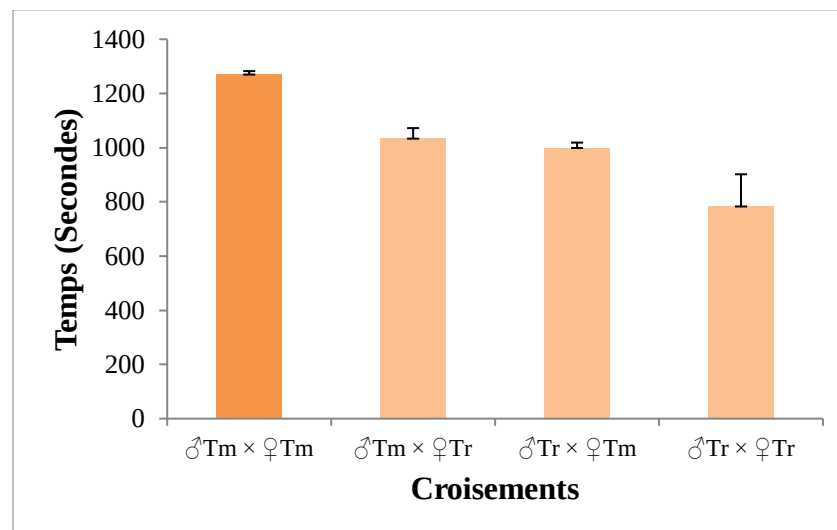


Figure 19 : Durée de copulation chez *D. melanogaster* (Moyenne $\pm$ SEM)

3.1.2.4. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le nombre de séquences de la parade nuptiale :

D'après les résultats, une augmentation prononcée du nombre de répétitions des séquences de la parade nuptiale a été observée chez les couples traités. En particulier, les couples dont seules les femelles étaient exposées au traitement présentaient les fréquences moyennes les plus élevées des séquences comportementales, alors que les couples témoins

enregistraient les fréquences les plus faibles. Cette augmentation des répétitions traduit une perturbation du déroulement normal de la parade sexuelle chez *D. melanogaster*. L'analyse des variances a révélé des différences très hautement significatives ($p < 0,0001^{***}$) (Tab. 5).

Tableau 5 : Nombre de répétition des séquences de la parade nuptiale de *D. melanogaster* (Moyenne $\pm$ SEM)

Croisement	Orientation	Contact	Vibration	Léchage	Tentative
♂Tm $\times$ ♀Tm	3,16 $\pm$ 0,80	2,44 $\pm$ 0,65	3,84 $\pm$ 0,68	3,32 $\pm$ 1,14	2,08 $\pm$ 0,81
♂Tm $\times$ ♀Tr	9,80 $\pm$ 0,41	10,00 $\pm$ 0,43	12,52 $\pm$ 0,37	6,63 $\pm$ 0,31	4,26 $\pm$ 0,28
♂Tr $\times$ ♀Tm	7,28 $\pm$ 0,26	7,72 $\pm$ 0,26	7,32 $\pm$ 0,19	7,26 $\pm$ 0,45	12,31 $\pm$ 0,64
♂Tr $\times$ ♀Tr	6,00 $\pm$ 0,91	3,56 $\pm$ 0,22	9,48 $\pm$ 0,25	5,35 $\pm$ 0,13	7,00 $\pm$ 0,46
<i>F</i>	13,473	13,768	10,574	11,538	14,646
<i>p</i>	< 0,0001***	< 0,0001***	< 0,0001***	< 0,0001***	< 0,0001***

(♂Tm : Mâle témoin, ♂Tm : Mâle traité, ♀Tm : Femelle témoin, ♀Tr : Femelle traitée, *** : Très hautement significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

3.1.3. Etude des effets différés de la concentration sublétales du spinosad sur le comportement d'oviposition de *D. melanogaster* :

3.1.3.1. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le choix des sites de ponte :

Les résultats ont indiqué une variabilité dans la répartition des œufs entre les milieux traités et témoins. Chez les couples témoins, 100 % des femelles regroupaient l'ensemble de leurs œufs dans le milieu témoin. En revanche, chez les autres croisements, où les mâles et les femelles étaient traités ou lorsque l'un des partenaires était traité, le choix du site de ponte des femelles devenait plus aléatoire. Les femelles répartissaient alors leurs œufs entre le milieu traité et le milieu témoin, avec une préférence plus marquée pour le milieu témoin (Tab. 6).

Tableau 6 : Choix du site de ponte chez les femelles *D. melanogaster*

Croisement	N	Milieux témoins		<i>p</i>	Milieux traités		<i>P</i>
		A	NA		A	NA	
♂Tm $\times$ ♀Tm	25	25	0	1 S	2	23	1 S
♂Tm $\times$ ♀Tr	13	11	2	< 0,828 NS	2	11	0,828 NS
♂Tr $\times$ ♀Tm	6	6	0	< 0,828 NS	6	0	0,828 NS
♂Tr $\times$ ♀Tr	4	4	0	< 0,828 NS	2	2	0,828 NS

(N : Nombres des femelles fécondées, ♂Tm : Mâle témoin, ♂Tr : Mâle traité, ♀Tm : Femelle témoin, ♀Tr : Femelle traitée, A : attiré, NA : Non attiré, S : Significative, NS : Non Significative)

3.1.3.2. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le nombre d'œufs pondus :

Les résultats ont montré que le nombre d'œufs pondus par les femelles des couples témoins étaient nettement plus élevés, avec un nombre moyen de 43,32 $\pm$ 2,03 œufs par femelle. En revanche, une diminution importante du nombre moyen d'œufs pondus a été

observée chez les couples traités, notamment en présence de spinosad. Seulement $7,00 \pm 2,00$ œufs ont été enregistrés chez les couples dont les mâles et les femelles étaient traités, tandis que $15,25 \pm 0,85$ œufs ont été observés chez les couples dont les mâles étaient témoins et les femelles étaient traitées (**Fig. 20**).

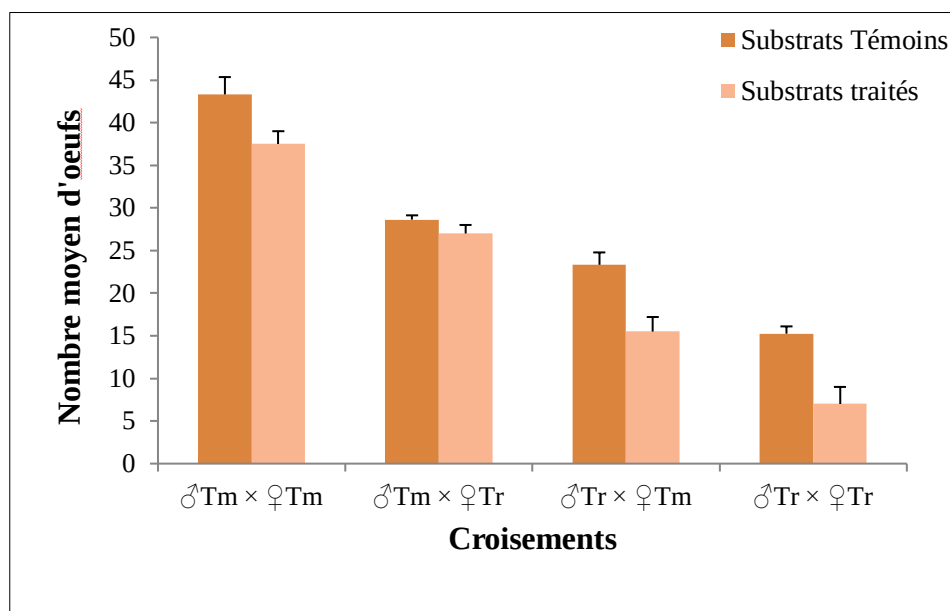


Figure 20 : Nombre d'œufs pondus de *D. melanogaster* (Moyenne $\pm$ SEM)

3.1.3.3. Indice de préférence de ponte (OPI) :

Les valeurs négatives de l'IPO (-1 ; -0,16) indiquaient une préférence marquée des femelles des couples témoins pour le milieu témoin. Cependant, chez les couples traités, où les femelles avaient été exposées au traitement, le choix du site de ponte en fonction des milieux ont montré des valeurs positives de l'IPO (0,5 ; 0,33), traduisant une faible attraction pour le milieu témoin, avec une légère tendance à préférer pour le milieu traité (**Tab. 18**).

Tableau 7 : Indice de préférence d'oviposition (OPI) des femelles de *D. melanogaster*

Croisements	♂Tm × ♀Tm	♂Tm × ♀Tr	♂Tr × ♀Tm	♂Tr × ♀Tr
OPI	-1	-0,16	0,33	0,5

(OPI : Indice de préférence d'oviposition, ♂Tm : Mâle témoin, ♂Tr : Mâle traité,
♀Tm : Femelle témoin, ♀Tr : Femelle traitée)

3.1.4. Etude des effets différés de la concentration sublétales du spinosad sur le comportement alimentaire de *D. melanogaster* :

3.1.4.1. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le temps de première détection des larves aux différentes odeurs testées :

- Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le temps de première détection des larves témoins aux différentes odeurs testées :

Les résultats ont montré que les larves témoins mettaient en moyenne $585,27 \pm 66,71$ secondes pour localiser l'odeur du spinosad. Ces larves mettaient moins de temps, avec une moyenne de $230,69 \pm 34,39$ secondes, pour localiser le milieu témoin. Une fois confrontées aux milieux traités et témoin, les larves témoins se déplaçaient plus rapidement vers le milieu témoin, avec une moyenne de $315,76 \pm 64,41$ secondes. L'analyse statistique a montré une différence très hautement significative entre les temps de détection mesurés selon les différents milieux testés ($F = 7,65$; $p = 0,0001$) (Tab. 8).

Tableau 8: Premier temps de détection des larves témoins aux différentes odeurs testées
(Moyenne $\pm$ SEM)

Zone de choix		Temps de détection	<i>F</i>	<i>p</i>
Témoin - Témoin		$230,69 \pm 34,39$	7,65	0,0001***
Traité - Traité		$585,27 \pm 66,71$		
Témoin - Traité	Témoin	$315,76 \pm 64,41$		
	Traité	$440,37 \pm 88,55$		

(SEM : Erreur standard de la moyenne, *** : Très hautement significatif)

- Effets de la concentration sublétales du spinosad sur le temps de première détection des larves traitées aux différentes odeurs testées :

Les résultats ont indiqué que les larves traitées par le spinosad mettaient plus de temps pour repérer l'une des odeurs, témoin ou traitée, par rapport aux larves témoins. Elles mettaient en moyenne $251,39 \pm 57,28$ secondes pour localiser le milieu témoin et $609,50 \pm 155,94$ secondes pour localiser le milieu traité. Lorsqu'elles étaient confrontées aux milieux traités et témoins, les larves traitées se déplaçaient plus rapidement vers le milieu traité, avec un temps moyen de $376,00 \pm 53,47$ secondes. Les temps moyens mesurés chez les larves traitées présentaient des différences significatives ($F = 2,776$; $p = 0,048$) (Tab. 9).

Tableau 9: Premier temps de détection des larves traitées aux différentes odeurs testées
(Moyenne $\pm$ SEM)

Zone de choix		Temps de détection	F	p
Témoin-Témoin		251,39 $\pm$ 57,28	2,776	0,048*
Traité-Traité		609,50 $\pm$ 155,94		
Témoin-Traité	Témoin	389,23 $\pm$ 89,57		
	Traité	376,00 $\pm$ 53,47		

(SEM : Erreur standard de la moyenne, * : significatif)

3.1.4.2. L'attractivité des larves témoins et traitées aux différentes odeurs testées :

- L'attractivité des larves témoins aux différentes odeurs testées :**

Les larves témoins ont montré une forte attractivité pour le milieu témoin, avec 72 % d'orientation vers l'odeur au cours des cinq premières minutes, atteignant 92 % après 30 minutes, ce qui indiquait une attraction progressive et marquée. En revanche, elles ont présenté une faible attraction vers le milieu traité, avec 36 % d'individus attirés après 5 minutes et 48 % après 30 minutes, suggérant une préférence nettement plus faible pour ce milieu. Concernant le choix des larves témoins entre deux papiers imbibés du milieu témoin et du milieu traité, au cours des cinq premières minutes, seulement 36 % des larves ont présenté une attraction vers le milieu témoin, tandis que 24 % étaient attirées par le milieu traité. Après 30 minutes, une proportion plus élevée de larves témoins, soit 56 %, s'était dirigée vers le milieu témoin, alors que 20 % ont été attirées par le milieu traité et 24 % n'ont manifesté aucune préférence entre les deux choix. (**Tab. 10**).

Tableau 10 : Taux d'attractivité des larves témoins aux différentes odeurs testées

Temps (minutes)	Test	Milieux Tm-Tm	Milieux Tr-Tr	Milieux Tr-Tm	
				Tr	Tm
5	A	72 %	36 %	24 %	36 %
	NA	28 %	64 %	40 %	
	p	0,988	< 0,828	< 0,828	
15	A	84 %	48 %	36 %	20 %
	NA	16 %	52 %	44 %	
	p	< 0,828	< 0,828	< 0,828	
30	A	92 %	48 %	20 %	56 %
	NA	8 %	52 %	24 %	
	p	< 0,828	< 0,828	0,950	

(A : attiré, NA : Non attiré, Tm : Témoin, Tr : Traité)

• **L'attractivité des larves traitées aux différentes odeurs testées :**

Les résultats ont montré que, lorsque les larves traitées étaient placées entre deux milieux témoins, 8 % d'entre elles étaient attirées par le milieu témoin au cours des cinq premières minutes, puis ce pourcentage atteignait 40 % au bout de 30 minutes. En revanche, lorsque les larves étaient placées entre deux milieux traités, 12 % se dirigeaient vers le milieu traité au cours des cinq premières minutes, et 52 % au bout de 30 minutes. Lorsqu'elles étaient placées entre un milieu témoin et un milieu traité, 20 % des larves se dirigeaient vers le milieu témoin, tandis que 32 % se dirigeaient vers le milieu traité. Après 30 minutes d'observation, 12 % des larves traitées étaient attirées par le milieu témoin, 24 % par le milieu traité, et 64 % des larves ne manifestaient aucun choix (**Tab. 11**).

Tableau 11 : Taux d'attractivité des larves traitées aux différentes odeurs testées

Temps (minutes)	Test	Milieux Tm-Tm	Milieux Tr-Tr	Milieux Tr-Tm	
				Tr	Tm
5	A	8 %	12 %	32 %	20 %
	NA	92 %	88 %	48 %	
	p	< 0,828	< 0,828	< 0,828	
15	A	32 %	44 %	16 %	24 %
	NA	68 %	56 %	60 %	
	p	< 0,828	< 0,828	< 0,828	
30	A	40 %	52 %	24 %	12 %
	NA	60 %	48 %	64 %	
	p	< 0,828	< 0,828	< 0,828	

(A : attiré, NA : Non attiré, Tm : Témoin, Tr : Traité)

3.1.4.3. Indice d'attraction :

Les valeurs négatives obtenues de l'indice d'attraction (IA) chez les larves témoins ont indiqué un effet répulsif de l'odeur du milieu traité au cours des 5, 15 et 30 minutes. Les larves traitées ont présenté une faible attraction envers l'odeur du milieu traité après 5 minutes, comme l'indiquait la valeur négative de l'indice d'attraction, tandis que les valeurs positives confirmaient un effet attractif après 15 et 30 minutes envers le milieu traité contenant du spinosad (**Tab. 12**).

Tableau 12: Indice d'attraction (AI) olfactif des larves testées

Larves	Larves témoins			Larves traitées		
Temps (minutes)	5	15	30	5	15	30
IA	-0,16	-0,12	-0,32	-0,12	0,08	-0,12

3.2. Etude des effets toxiques et différés de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur *D. melanogaster* :

3.2.1. Effet toxique de l'extrait aqueux de *P. harmala* :

3.2.1.1. Effet des concentrations de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur la mortalité :

Les résultats ont montré que le taux de mortalité augmentait de manière significative avec les concentrations de l'extrait aqueux de *P. harmala* et le temps d'exposition ($F = 69,869$; $p < 0,001$). Plus la concentration était élevée et la durée d'exposition prolongée, plus la mortalité était importante. Le taux de mortalité était de 68,3 % et de 91,67 % après 15 jours aux concentrations les plus élevées (200 mg/mL et 300 mg/mL). Il était de 1,65 % et 5 % aux concentrations les plus faibles 50 mg/mL et 100 mg/mL après deux jours de traitement (Fig. 21).

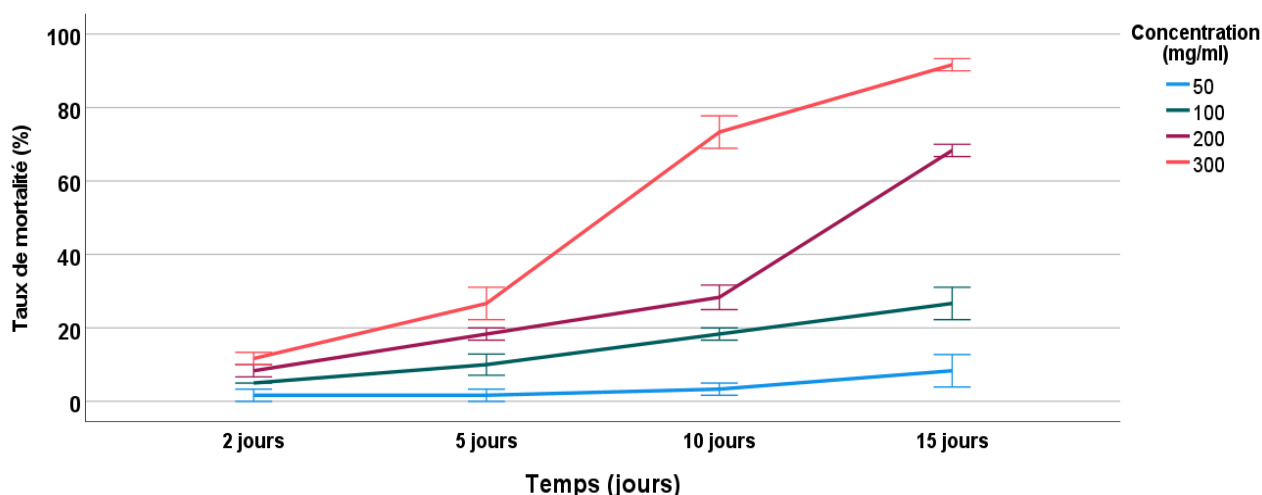


Figure 21 : Evolution de taux de mortalité des insectes en fonction des concentrations de *P. harmala* au cours du temps (Moyenne $\pm$ SE).

3.2.1.2. Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux *P. harmala* sur *D. melanogaster* :

Les paramètres toxicologiques ont mis en évidence une corrélation positive entre la concentration de l'extrait aqueux de *P. harmala* appliquée et aux individus de *D. melanogaster*. Au 15^e jour d'exposition, une très forte corrélation a été enregistrée ($R^2 = 0,976$), indiquant que l'augmentation de la concentration de l'extrait entraînait une augmentation progressive de la mortalité des individus. Après 15 jours d'exposition, les concentrations létales ont été estimées à 163,152 mg/mL pour la CL_{50} et à 280,273 mg/mL pour la CL_{90} (Tab. 13).

Tableau 13 : Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de la plante *P. harmala*
(Concentrations létales) sur *D. melanogaster*

Temps (Jours)	Droite de Régression (R ²)	CL ₂₀ Intervalle de confiance à 95 % (mg/mL)	CL ₅₀ Intervalle de confiance à 95 % (mg/mL)	CL ₉₀ Intervalle de confiance à 95 % (mg/mL)
1	Y = -1,75 + 7,27X (0,160)	449,511 (325,330 - 3453,504)	650,070 (436,487 - 6302,191)	955,466 (598,158 - 10647,526)
2	Y = -1,81 + 2,05X (0,712)	400,138 (286,632 - 1807,538)	676,276 (444,898 - 3960,500)	1096,756 (673,236 - 7251,510)
5	Y = -1,55 + 2,44X (0,693)	236,107 (190,428 - 305,636)	421,675 (339,056 - 645,661)	704,243 (533,668 - 1195,128)
10	Y = -1,95 + 8,22X (0,913)	140,336 (110,728 - 163,477)	239,166 (216,123 - 268,482)	389,657 (345,537 - 459,448)
15	Y = -1,65 + 0,01X (0,976)	86,236 (59,824 - 106,438)	163,152 (145,593 - 181,362)	280,273 (253,593 - 318,054)

Selon le tableau 14, les résultats ont montré qu'une relation positive entre la durée d'exposition et le taux de mortalité de *D. melanogaster* a été clairement mise en évidence. En effet, plus la durée d'exposition à *P. harmala* augmentait, plus le pourcentage de mortalité enregistré était élevé. Au 15e jour d'exposition, une très forte corrélation positive a été observée (R² = 0,969), à la concentration la plus élevée testée (300 mg/mL), 50 % des individus ont été éliminés après seulement 7 jours d'exposition, tandis que 90 % de la population a été éliminée après 13 jours de traitement (**Tab. 14**).

Tableau 14 : Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de la plante *P. harmala*
(Temps létaux) sur *D. melanogaster*

Concentrations (mg/mL)	Droite de Régression R ²	TL ₂₀ Intervalle de confiance à 95 % (Jours)	TL ₅₀ Intervalle de confiance à 95 % (Jours)	TL ₉₀ Intervalle de confiance à 95 % (Jours)
50	Y = -1,85 + 0,04X (0,602)	22,278 (16,132 - 64,524)	33,326 (22,748 - 112,582)	50,149 (32,422 - 186,159)
100	Y = -1,74 + 0,08X (0,851)	11,675 (9,415 - 15,213)	21,460 (17,223 - 31,341)	36,361 (27,903 - 57,110)
200	Y = -1,64 + 0,13X (0,920)	6,557 (5,122 - 7,773)	12,404 (11,050 - 14,226)	21,308 (18,622 - 25,503)
300	Y = -1,66 + 0,21X (0,969)	3,767 (2,673 - 4,670)	7,735 (6,902 - 8,644)	13,778 (12,439 - 15,597)

3.2.2. Etude des effets différés de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le comportement sexuel de *D. melanogaster* :

3.2.2.1. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux *P. harmala* sur la parade nuptiale :

Les résultats ont montré que 100 % des couples témoins réussissaient à réaliser toutes les séquences de la parade sexuelle (orientation, contact, vibration, léchage, tentative d'accouplement et accouplement). Le traitement a agi sur les autres croisements, ce qui se manifestait par une diminution de la proportion de couples accomplissant certaines séquences, telles que vibration, léchage, tentative d'accouplement et accouplement. Chez les couples traités, lorsque les deux partenaires (mâles et femelles) étaient traités, des diminutions de 92 %, 72 % et 56 % ont été observées pour les séquences vibration, léchage et tentative d'accouplement. En outre, une diminution considérable des taux d'accouplement a été enregistrée, atteignant 60 % et 48 % chez les couples l'un des partenaires était traité, et seulement 32 % des couples dont les deux partenaires étaient traités réussissaient à accomplir une copulation (Tab.15).

Tableau 15 : taux de réussite des séquences de la parade nuptiale de *D .melanogaster*

Croisements	Orientation	Contact	Vibration	Léchage	Tentative	Copulation
♂Tm × ♀Tm	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %	100 %
♂Tm × ♀Tr	100 %	100 %	100 %	84 %	80 %	60 %
♂Tr × ♀Tm	100 %	100 %	100 %	88 %	72 %	48 %
♂Tr × ♀Tr	100 %	100 %	92 %	72 %	56 %	32 %

(♂Tm : Mâle témoin, ♂Tm : Mâle traité, ♀ Tm : Femelle témoin, ♀ Tr : Femelle traitée)

3.2.2.2. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur les temps des séquences de la parade nuptiale :

Les résultats ont montré que les couples témoins présentaient la première manifestation de la parade sexuelle après un temps moyen de $17,84 \pm 1,03$ secondes, tandis que les couples traités nécessitaient un temps plus long pour initier la première orientation, avec une moyenne de $72,32 \pm 1,79$ secondes enregistrée chez les couples dont les deux partenaires étaient traités. De même, les comportements sexuels tels que la vibration, le léchage et la tentative d'accouplement s'exprimaient avec des latences plus importantes chez les couples traités. La latence d'accouplement était également élevée, variant entre $408,00 \pm 13,88$ et $585,12 \pm 31,45$ secondes. L'examen des variances a mis en évidence des différences hautement significatives ($p < 0,05$) (Tab. 16)

Tableau 16: Temps de déclenchement des séquences de la parade nuptiale de *D.melanogaster* (Moyenne $\pm$ SEM)

Croisement	Orientation	Contact	Vibration	Léchage	Tentative	Copulation
♂Tm $\times$ ♀Tm	17,84 $\pm$ 1,03	2,44 $\pm$ 0,74	39,32 $\pm$ 0,75	61,84 $\pm$ 4,28	72,88 $\pm$ 4,07	110,00 $\pm$ 4,56
♂Tm $\times$ ♀Tr	30,52 $\pm$ 0,95	77,28 $\pm$ 2,40	102,56 $\pm$ 3,30	164,63 $\pm$ 3,63	234,77 $\pm$ 7,63	360,71 $\pm$ 13,23
♂Tr $\times$ ♀Tm	53,40 $\pm$ 1,25	103,76 $\pm$ 3,16	160,32 $\pm$ 2,25	260,90 $\pm$ 8,53	350,44 $\pm$ 13,91	408,00 $\pm$ 13,88
♂Tr $\times$ ♀Tr	72,32 $\pm$ 1,79	140,68 $\pm$ 3,87	201,39 $\pm$ 3,79	374,94 $\pm$ 6,63	487,00 $\pm$ 15,60	585,12 $\pm$ 31,45
F	4,165	13,486	16,717	7,093	6,492	15,39
p	< 0,008**	< 0,0001***	< 0,0001***	0,0002***	0,001**	< 0,0001***

(♂Tm : Mâle témoin, ♂Tm : Mâle traité, ♀Tm : Femelle témoin, ♀Tr : Femelle traitée, ** : Très significatif, *** : Très hautement significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

3.2.2.3. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur la durée de copulation :

Les résultats ont montré que la durée moyenne d'accouplement la plus longue a été observée chez les couples témoins, avec un temps moyen de 1271,04 $\pm$ 16,62 secondes, tandis que la durée la plus faible avait été enregistrée chez les couples dont les deux partenaires étaient traités, avec un temps moyen de 896,50 $\pm$ 30,15 secondes. Cependant, l'analyse de variance (ANOVA) n'a révélé aucune différence significative entre les traitements ($F = 1,095$; $p = 0,359$) (Fig. 22).

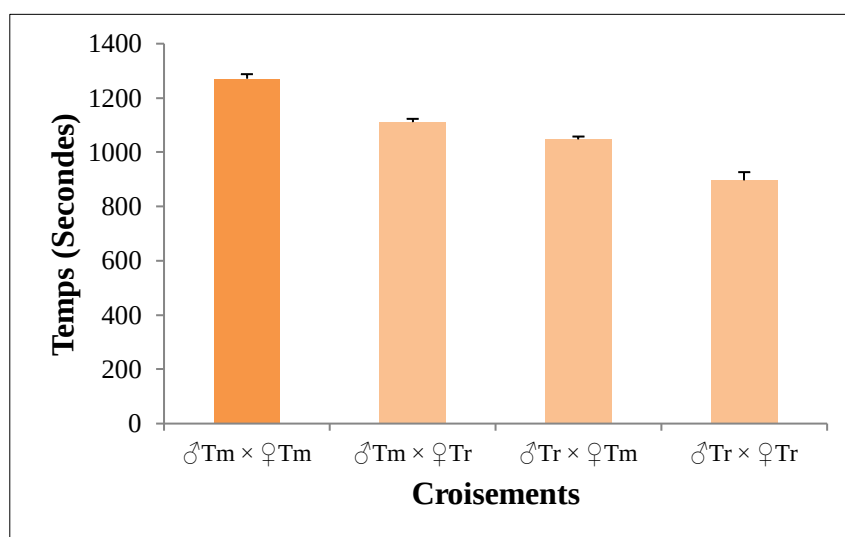


Figure 22: Durée de copulation chez *D. melanogaster* (Moyenne $\pm$ SEM)

3.2.2.4. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le nombre de séquences de la parade nuptiale :

Les résultats ont montré que les couples traités, chez lesquels les deux partenaires (mâles et femelles) étaient exposés au traitement, présentaient les fréquences moyennes les plus élevées de répétition des différentes séquences de la parade nuptiale, notamment l'orientation ($11,40 \pm 0,56$), le contact ($12,20 \pm 2,82$), la vibration ($15,40 \pm 0,41$), le léchage ($9,94 \pm 0,45$) et la tentative d'accouplement ($7,50 \pm 0,18$). À l'inverse, les couples témoins présentaient les fréquences moyennes les plus faibles pour l'ensemble des séquences comportementales considérées, avec des valeurs de $3,24 \pm 0,17$ pour l'orientation, $2,44 \pm 0,22$ pour le contact, $3,88 \pm 0,88$ pour la vibration, $3,40 \pm 0,20$ pour le léchage et $2,16 \pm 0,12$ pour la tentative d'accouplement. L'analyse de la variance (ANOVA a révélé des différences significatives entre les croisements pour les différentes séquences de la parade nuptiale de *D. melanogaster* ($p < 0,05$) (Tab. 17).

Tableau 17 : Nombre de séquences de la parade nuptiale (Moyenne $\pm$ SEM)

Croisement	Orientation	Contact	Vibration	Léchage	Tentative
♂Tm $\times$ ♀Tm	$3,24 \pm 0,17$	$2,44 \pm 0,22$	$3,88 \pm 0,88$	$3,40 \pm 0,20$	$2,16 \pm 0,12$
♂Tm $\times$ ♀Tr	$9,36 \pm 0,34$	$9,16 \pm 1,54$	$12,52 \pm 0,37$	$7,04 \pm 0,24$	$3,85 \pm 0,29$
♂Tr $\times$ ♀Tm	$5,56 \pm 0,23$	$5,56 \pm 1,19$	$6,88 \pm 0,23$	$4,45 \pm 0,21$	$5,66 \pm 0,31$
♂Tr $\times$ ♀Tr	$11,40 \pm 0,56$	$12,20 \pm 2,82$	$15,40 \pm 0,41$	$9,94 \pm 0,45$	$7,50 \pm 0,18$
F	8,652	10,837	2,154	3,566	3,674
p	$< 0,0001^{***}$	$< 0,0001^{***}$	0,099	0,018*	0,017*

(♂Tm : Mâle témoin, ♂Tm : Mâle traité, ♀Tm : Femelle témoin, ♀Tr : Femelle traitée, * : Significatif, *** : Très hautement significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

3.2.3. Etude des effets différés de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le comportement d'oviposition de *D. melanogaster* :

3.2.3.1. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le choix des sites de ponte :

Les résultats ont indiqué une variabilité dans la répartition des œufs entre les deux milieux, traité et témoin. Chez les couples témoins, 25 femelles avaient pondu tous leurs œufs dans le milieu témoin, tandis que seulement 3 femelles avaient pondu leurs œufs dans le milieu traité. En revanche, chez les autres croisements où les mâles et les femelles étaient traités ou lorsqu'un seul des partenaires l'était, le site de ponte des femelles était aléatoire : elles pondaient leurs œufs dans les deux milieux, traité et témoin (Tab. 18).

Tableau 18: Choix du site de ponte chez les femelles *D. melanogaster*

Croisements	N	Milieux témoin		p	Milieux traité		P
		A	NA		A	NA	
♂Tm × ♀Tm	25	25	0	1 S	3	22	< 0,828 NS
♂Tr × ♀Tm	16	16	0	1 S	6	10	< 0,872 NS
♂Tm × ♀Tr	12	10	2	0,978 NS	5	7	< 0,920 NS
♂Tr × ♀Tr	8	4	4	< 0,887 NS	4	4	< 0,829 NS

(N : Nombres des femelles fécondées, ♂Tm : Mâle témoin, ♂Tr : Mâle traité, ♀Tm : Femelle témoin ; ♀Tr : Femelle traitée, A : attiré, NA : Non attiré)

3.2.3.2. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le nombre d'œufs pondus:

D'après les résultats, le nombre moyen d'œufs pondus par les femelles du groupe témoin était le plus élevé, variant entre $40,96 \pm 1,73$ et $34,33 \pm 4,25$. Une diminution du nombre d'œufs a été observée chez les femelles traitées, qui ont pondu en moyenne $22,60 \pm 2,08$ œuf, tandis que les femelles du groupe traité ont pondu en moyenne $17,00 \pm 1,12$ œuf (Fig. 23).

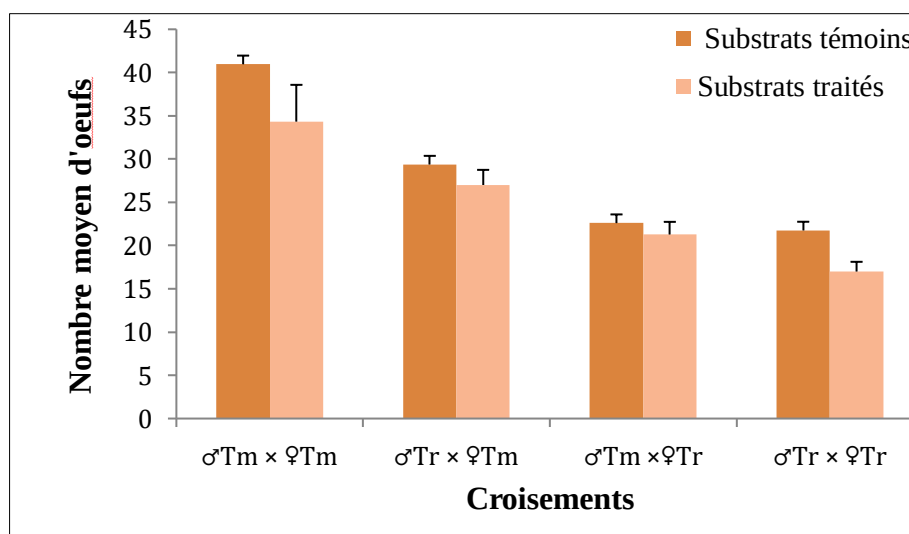


Figure 23 : Nombre d'œufs pondus chez *D. melanogaster* (Moyenne ± SEM)

3.2.3.3. Indice de préférence de ponte (OPI) :

Les valeurs négatives de l'IPO (-0,76) ont démontré une forte attraction pour la ponte dans le milieu témoin, tandis que les valeurs (-0,16 et -0,25) ont indiqué une faible attirance des femelles des couples dont un seul des partenaires était traité envers le milieu témoin. En revanche, chez les couples traités, dont les mâles et les femelles étaient exposés au traitement, les sites de ponte étaient influencés par la présence de l'extrait aqueux de la plante *P. harmala* (Tab. 19).

Tableau 19 : Indice de préférence d'oviposition (OPI) des femelles de *D. melanogaster*

Croisements	♂Tm × ♀Tm	♂Tm × ♀Tr	♂Tr × ♀Tm	♂Tr × ♀Tr
OPI	-0,76	-0,16	-0,25	0,5

(♂Tm : Mâle témoin, ♂Tm : Mâle traité, ♀Tm : Femelle témoin, ♀Tr : Femelle)

3.2.4. Etude des effets différés de la concentration sublétale de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le comportement alimentaire de *D. melanogaster* :

3.2.4.1. Effets de la concentration sublétale de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le temps de première détection des larves aux différentes odeurs testées :

- **Effets de la concentration sublétale de l'extrait de *P. harmala* sur le temps de première détection des larves témoins aux différentes odeurs testées :**

Les résultats ont montré que, en présence de deux odeurs différentes (témoin et traité), les larves témoins se déplaçaient plus rapidement vers le milieu témoin, avec un temps moyen de $177,44 \pm 12,88$ secondes, et plus lentement vers le milieu traité, avec un temps moyen de $511,47 \pm 68,99$ secondes. Une fois exposées aux mêmes sources odorantes (témoin et traité), l'attraction restait plus rapide vers le milieu témoin : les larves prenaient un temps moyen plus faible de $239,05 \pm 36,99$ secondes pour se déplacer vers le milieu témoin et un temps moyen plus long de $471,14 \pm 81,77$ secondes pour se déplacer vers le milieu traité. L'analyse statistique a montré qu'il existait une différence hautement significative entre les temps de détection mesurés selon les différents milieux testés. ($F=10,790$; $p < 0,0001$) (**Tab. 20**).

Tableau 20 : Premier temps de détection des larves témoins aux différentes odeurs

(Moyenne $\pm$ SE)

Zone de choix	Temps de détection	F	p
Témoin-Témoin	$177,448 \pm 12,88$	10,790	< 0,0001***
Traité-Traité	$511,474 \pm 68,99$		
Témoin-Traité	Témoin $239,050 \pm 36,99$		
	Traité $471,143 \pm 81,77$		

(*** : Très hautement significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

- **Effets de la concentration sublétale de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le temps de première détection des larves traitées aux différentes odeurs testées :**

Les résultats ont montré que les larves traitées mettaient en moyenne $220,44 \pm 52,90$ secondes pour détecter l'odeur provenant du milieu témoin. Les durées de détection enregistrées s'élevaient en moyenne à $656,62 \pm 93,41$ secondes pour repérer les papiers imprégnés du milieu traité avec l'extrait aqueux de *P. harmala*. En présence de deux odeurs distinctes (témoin et traité), les larves traitées se déplaçaient plus rapidement vers le milieu traité, avec un temps moyen de $397,80 \pm 57,94$ secondes, et mettaient plus de temps, $459,82 \pm$

87,61 secondes, pour atteindre le milieu témoin. L'analyse statistique a montré qu'il existait une différence hautement significative entre les temps de détection mesurés selon les différents milieux testés. ($F = 17,630$; $p < 0,0001$) (Tab. 21).

Tableau 21: Premier temps de détection des larves traités aux différentes odeurs
(Moyenne $\pm$ SEM)

Zone de choix		Temps de détection	F	p
Témoin-Témoin		220,43 $\pm$ 52,90	17,630	< 0,0001
Traité-Traité		656,61 $\pm$ 93,41		
Témoin-Traité	Témoin	397,80 $\pm$ 57,94		
	Traité	459,818 $\pm$ 87,61		

(*** : Très hautement significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

3.2.4.2. L'attractivité des larves témoins et traitées aux différentes odeurs testées :

- L'attractivité des larves témoins aux différentes odeurs testées :**

Les résultats ont montré que, les larves témoins ont montré une forte préférence pour le milieu témoin, avec 72 % d'attraction après 5 minutes et 92 % après 30 minutes. Lorsque les larves témoins étaient placées entre deux papiers imprégnés du milieu traité, 36 % des larves avaient montré une attraction pour l'odeur du papier traité dans les cinq premières minutes, et après 30 minutes, 44 % des larves s'étaient déplacées vers le milieu traité. Concernant le choix des larves témoins lorsqu'elles étaient confrontées à un papier imprégné du milieu témoin et un papier imprégné du milieu traité, dans les cinq premières minutes, seulement 48 % des larves avaient été attirées vers le milieu témoin et 20 % vers le milieu traité. Après 30 minutes, 60 % des larves s'étaient dirigées vers le milieu témoin, tandis que 24 % s'étaient dirigées vers le milieu traité (Tab. 22).

Tableau 22 : Taux d'attractivité des larves témoins aux différents milieux testés

Temps (minutes)	Test	Milieux Tm-Tm	Milieux Tr-Tr	Milieux Tm-Tr	
				Tm	Tr
5	A	72 %	36 %	48 %	20 %
	NA	28 %	64 %	32 %	
	p	0,988	< 0,828	< 0,828	
15	A	48 %	48 %	52 %	28 %
	NA	52 %	52 %	20 %	
	p	< 0,828	< 0,828	< 0,828	
30	A	92 %	44 %	60 %	24 %
	NA	8 %	56 %	16 %	
	p	1	< 0,828	< 0,828	

(A : attiré, NA : Non attiré, Tm : Témoin, Tr : Traité)

• **L'attractivité des larves traitées aux différentes odeurs testées :**

Les résultats ont montré qu'au bout de 5 minutes, lorsque les larves traitées étaient placées entre deux milieux témoins, 28 % d'entre elles préféraient le milieu traité, et après 30 minutes, ce nombre augmentait à 64 %. En revanche, lorsque les larves se trouvaient entre deux milieux traités, 16 % d'entre elles faisaient leur choix pour le milieu traité au bout de 5 minutes et 52 % au bout de 30 minutes. Lorsque les larves traitées étaient placées entre un milieu témoin et un milieu traité, 12 % faisaient leur choix pour le milieu témoin tandis que 28 % se dirigeaient vers le milieu traité. Après 30 minutes d'observation, 40 % des larves traitées se trouvaient dans le milieu témoin, tandis que 24 % se dirigeaient vers le milieu traité (Tab. 23).

Tableau 23: Taux d'attractivité des larves traités aux différents milieux testés

Temps (minutes)	Test	Milieux Tm- Tm	Milieux Tr- Tr	Milieux Tm- Tr	
				Tm	Tr
5	A	28 %	16 %	12 %	28 %
	NA	72 %	84 %	60 %	
	p	< 0,828	< 0,828	< 0,828	
15	A	44 %	40 %	20 %	35 %
	NA	56 %	60 %	45 %	
	p	< 0,828	< 0,82	< 0,828	
30	A	64 %	52 %	24 %	40 %
	NA	36 %	48 %	36 %	
	p	< 0,828	< 0,82	< 0,828	

(A : attiré, NA : Non attiré, Min : minute, Tm : Témoin, Tr : Traité)

3.2.4.3. Indice d'attraction :

Les valeurs négatives obtenues de l'indice d'attraction (IA) pour les larves témoins indiquaient un effet répulsif envers l'odeur du milieu traité pendant 5, 15 et 30 minutes. En revanche, les valeurs positives obtenues pour les larves traitées confirmaient un effet attractif envers le milieu traité pendant 5, 15 et 30 minutes (Tab. 24).

Tableau 24: Indice d'attraction (IA) olfactif des larves testées

Larve	Larves témoins			Larves traitées		
Temps (minutes)	5	15	30	5	15	30
IA	-0,28	-0,24	-0,36	0,16	0,12	0,16

3.3. Evaluation de la résistance de *D. melanogaster* au spinosad et à l'extrait aqueux de *P. harmala* :

3.3.1. Effets toxiques du spinosad sur les souches résistantes de *D. melanogaster* :

3.3.1.1. Effet des concentrations du spinosad sur la mortalité :

Les résultats ont montré que le taux de mortalité a diminué de manière significative en fonction des concentrations de spinosad testées (0,025 ; 0,050 ; 0,1 et 0,200 mg/mL) et du temps d'exposition au spinosad ($F = 147,37$; $p < 0,001$). La mortalité a diminué progressivement d'une génération à l'autre jusqu'à devenir nulle à partir de la douzième génération, cette réduction étant plus marquée aux concentrations les plus élevées. En effet, à la concentration de 0,200 mg/mL, le taux de mortalité est passé de 80 % à 5 % à la dixième génération, avant de devenir nul à la douzième génération. À l'inverse, pour la concentration la plus faible (0,025 mg/mL), la mortalité, initialement faible (8,33 %), est devenue nulle dès la douzième génération (Fig. 24).

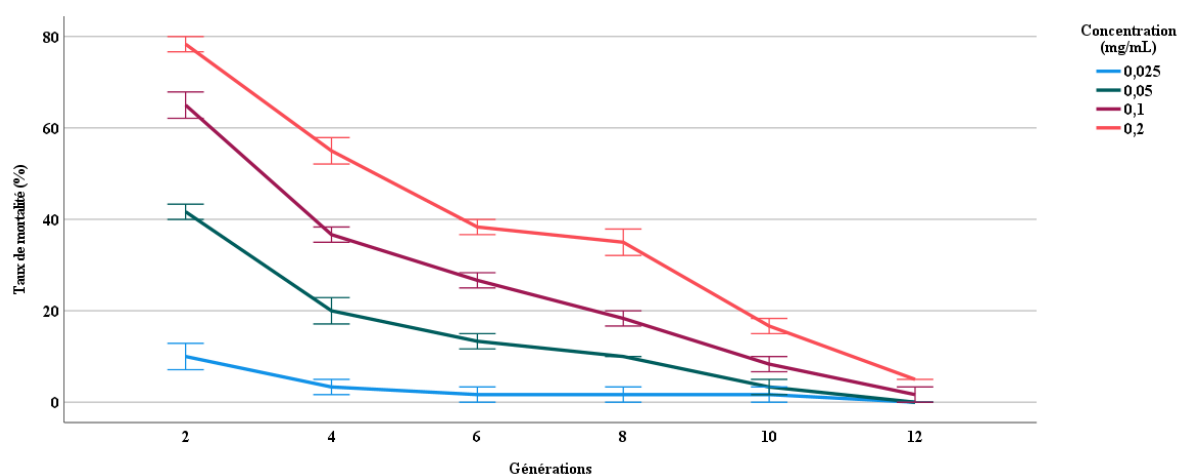


Figure 24 : Evolution du taux de mortalité de *D. melanogaster* en fonction des concentrations du spinosad au cours du temps (Moyenne $\pm$ SE)

3.3.1.2. Paramètres toxicologiques du spinosad sur les souches résistantes de *D. melanogaster* :

Les résultats ont montré une augmentation progressive des concentrations létales (CL_{50} et CL_{90}) du spinosad au fil des générations de *D. melanogaster*, traduisant le développement progressif d'une résistance au traitement. En effet, la CL_{50} est passée de 0,096 mg/mL à la deuxième génération à 0,453 mg/mL à la douzième génération, tandis que la CL_{90} a augmenté de 0,227 mg/mL à 0,647 mg/mL. Cette augmentation indique que des

concentrations de plus en plus élevées étaient nécessaires pour provoquer la mortalité des individus au cours des générations. Par ailleurs, le rapport de résistance (RR) a augmenté progressivement, passant de 1,6 à la deuxième génération à 7,55 à la douzième génération, ce qui confirme l'apparition d'une résistance croissante au spinosad (**Tab. 25**).

Tableau 25: Paramètres toxicologiques (Concentrations létales) du spinosad sur les souches résistantes de *D. melanogaster* (15 jours) d'exposition.

Générations	CL ₅₀ Intervalle de confiance à 95 % mg/mL	CL ₉₀ Intervalle de confiance à 95 mg/mL	X ²	RR
2	0,096 (0,069 - 0,125)	0,227 (0,182 - 0,326)	16,360	1,600
4	0,171 (0,146 - 0,210)	0,325 (0,269 - 0,429)	9,148	2,850
6	0,225 (0,187 - 0,302)	0,401 (0,318 - 0,583)	7,625	3,750
8	0,244 (0,201 - 0,335)	0,419 (0,330 - 0,621)	2,791	4,066
10	0,358 (0,264 - 0,718)	0,576 (0,403 - 1,264)	3,717	4,960
12	0,453*	0,647*	4,085	7,550

(χ^2 : valeur du test du chi carré, RR : Rapport de résistance, *CI n'a pas pu être calculé)

3.3.2. Etude des effets différés des concentrations sublétales du spinosad sur le comportement sexuel chez les souches résistantes de *D. melanogaster* :

3.3.2.1. Effets de la concentration sublétale du spinosad sur la fréquence de copulation :

Les résultats ont montré une augmentation progressive de la fréquence de copulation de *D. melanogaster* au fil des générations. Celle-ci est passée de 24 % à la deuxième génération, puis a augmenté régulièrement pour atteindre 60 % à la sixième génération, 92 % à la dixième génération, avant d'atteindre 100 % à la douzième génération (**Tab. 26**).

Tableau 26: Fréquences de copulation des souches résistantes de *D. melanogaster* au fil des générations.

Générations	Fréquence de copulation %
2	24
4	36
6	60
8	76
10	92
12	100

3.3.2.2. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur les temps des séquences de la parade nuptiale :

Les résultats ont révélé une évolution globale des comportements de cour de *D. melanogaster* au cours des générations, caractérisée par une réduction progressive des durées moyennes des différentes séquences du comportement reproducteur.

L'orientation a fortement diminué entre la deuxième génération ($159,28 \pm 4,76$) et la douzième génération ($83,20 \pm 3,08$), avec une différence hautement significative ($F = 6,537$; $p < 0,0001$). Le temps de contact a également diminué progressivement au cours des générations, passant de $159,92 \pm 4,67$ à $102,72 \pm 3,94$ entre la deuxième et la douzième génération (Tab. 27).

Les durées moyennes de vibration, de léchage et de tentative de copulation ont suivi la même tendance, avec une diminution progressive au cours des générations, traduisant une accélération des différentes étapes du comportement de cour. Ces variations étaient significatives ($p < 0,05$) (Tab. 27).

La latence de copulation a également diminué au cours de la sélection, passant de $718,33 \pm 18,36$ à $251,90 \pm 11,96$ secondes. Malgré des fluctuations observées entre les générations intermédiaires, une réduction nette a été enregistrée à la fin de la sélection. Cette diminution était significative ($F = 3,075$; $p = 0,002$) (Tab. 27).

Tableau 27 : Temps de déclenchement des séquences de la parade sexuelle des souches résistantes de *D. melanogaster* (Moyenne $\pm$ SEM)

G	Orientation	Contact	Vibration	Léchage	Tentative	Latence de copulation
2	$159,28 \pm 4,76$	$159,92 \pm 4,67$	$190,80 \pm 7,42$	$254,80 \pm 8,56$	$273,12 \pm 10,04$	$718,33 \pm 18,36$
4	$150,00 \pm 3,33$	$169,36 \pm 2,89$	$185,60 \pm 4,95$	$219,04 \pm 7,67$	$226,00 \pm 8,76$	$488,07 \pm 19,80$
6	$147,12 \pm 1,98$	$161,08 \pm 2,78$	$184,80 \pm 4,77$	$210,34 \pm 6,57$	$235,15 \pm 8,07$	$333,28 \pm 11,63$
8	$121,64 \pm 2,68$	$136,72 \pm 2,68$	$171,12 \pm 6,41$	$203,76 \pm 7,30$	$218,15 \pm 5,73$	$398,61 \pm 18,81$
10	$117,80 \pm 3,60$	$133,48 \pm 3,29$	$147,92 \pm 3,43$	$168,28 \pm 3,74$	$190,56 \pm 4,58$	$331,75 \pm 17,25$
12	$83,20 \pm 3,08$	$102,72 \pm 3,94$	$121,00 \pm 21,31$	$139,36 \pm 4,45$	$156,40 \pm 4,05$	$251,90 \pm 11,96$
F	6,537	1,713	2,369	2,826	3,952	3,075
p	< 0,0001***	0,135	0,042*	0,018*	0,002**	0,002*

(G : Générations, * : Significatif, ** : Très significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

3.3.2.3. Effets de la concentration sublétales du spinosad sur la durée de copulation :

Les résultats ont indiqué que la durée d'accouplement a augmenté progressivement au fur et à mesure que les générations se sont succédé. Chez les mouches de la deuxième

génération, la durée moyenne d'accouplement était de $905,66 \pm 28,72$ secondes et a augmenté progressivement d'une génération à l'autre pour atteindre $1253,21 \pm 17,36$ secondes à la dixième génération. Une légère diminution a ensuite été observée à la douzième génération, avec une durée moyenne de $1150,08 \pm 59,15$ secondes. L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé une différence significative entre les durées de copulation de *D. melanogaster* au fil des générations ($F = 2,509$; $p = 0,036$) (Tab. 28).

Tableau 28 : Durée de copulation des souches résistantes de *D. melanogaster*
(Moyenne $\pm$ SEM)

Génération	Durée de copulation	F	p
2	$905,66 \pm 28,72$	2,509	0,036*
4	$953,22 \pm 11,48$		
6	$1125,80 \pm 15,34$		
8	$1206,73 \pm 13,74$		
10	$1253,21 \pm 17,36$		
12	$1150,08 \pm 59,15$		

(* : Significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

3.3.3. Effets différés de la concentration sublétales du spinosad sur le comportement d'oviposition des souches résistantes de *D. melanogaster* :

3.3.3.1. Les effets sublétaux du spinosad sur le nombre d'œufs pondus :

Les résultats ont indiqué une augmentation progressive du nombre d'œufs pondus au cours des générations, passant de $20,83 \pm 0,94$ œufs à $41,71 \pm 1,22$ œufs. Cette augmentation traduit une adaptation progressive des insectes à l'exposition sublétales au spinosad. L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé des différences significatives entre le nombre d'œufs pondus par *D. melanogaster* au fil des générations ($p < 0,05$) (Tab. 29).

Tableau 29 : Nombres d'œufs pondus des souches résistantes de
D. melanogaster (Moyenne $\pm$ SEM)

Génération	Nombres d'œufs pondus	F	p
2	$20,83 \pm 0,94$	2,569	0,033*
4	$26,11 \pm 0,84$		
6	$30,11 \pm 1,06$		
8	$33,47 \pm 1,03$		
10	$35,22 \pm 0,98$		
12	$41,70 \pm 1,22$		

(* : Significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

3.3.4. Etude des effets toxiques de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur les souches résistantes de *D. melanogaster* :

3.3.4.1. Effet des concentrations de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur la mortalité :

Les résultats ont montré que le taux de mortalité a diminué de manière significative en fonction des concentrations de spinosad testées (50, 100, 200 et 300 mg/mL) et du temps d'exposition ($F = 147,37$; $p < 0,001$). La mortalité a diminué progressivement d'une génération à l'autre jusqu'à devenir nulle à partir de la douzième génération. À la concentration la plus élevée (300 mg/mL), le taux de mortalité est passé de 78 % à 5 % à la dixième génération, avant de devenir nul à la douzième génération. En revanche, à la concentration la plus faible (50 mg/mL), le taux de mortalité, initialement de 8,33 %, est devenu nul dès la dixième génération (**Fig. 25**).

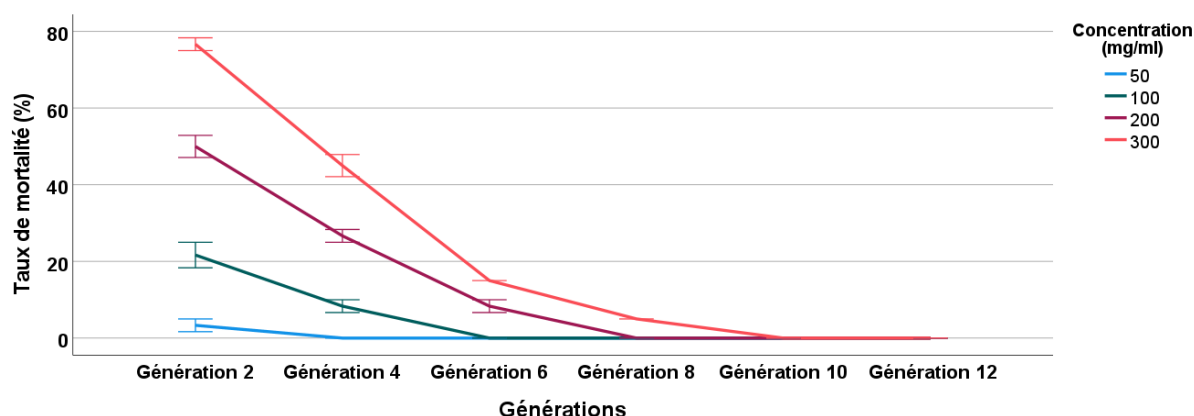


Figure 25 : Evolution du taux de mortalité de *D. melanogaster* en fonction des concentrations du *P. harmala* au cours du temps (Moyenne $\pm$ SE)

3.3.4.2. Paramètres toxicologiques de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur les souches résistantes *D. melanogaster* :

Les résultats ont mis en évidence une augmentation progressive des valeurs de CL_{50} et de CL_{90} au fil des générations. En effet, la CL_{50} est passée de 181,933 mg/mL à la deuxième génération à 602,790 mg/mL à la dixième génération. De même, la CL_{90} a augmenté de 316,714 mg/mL à 851,402 mg/mL. Cette augmentation indique que des concentrations de plus en plus élevées étaient nécessaires pour provoquer la mortalité des individus au cours des générations. Par ailleurs, le rapport de résistance (RR) est passé de 1,115 à 4,075. Cette augmentation a confirmé le développement progressif d'une résistance au spinosad au fil des générations (**Tab. 30**).

Tableau 30 : Paramètres toxicologiques (Concentrations létales) de *P. harmala* sur les souches résistantes de *D. melanogaster* (15 jours)

Génération	CL ₅₀ Intervalle de confiance à 95 % mg/mL	CL ₉₀ Intervalle de confiance à 95 % mg/mL	X ²	RR
2	181,933 (162,537 - 202,801)	316,714 (284,584-363,832)	3,83	1,115
4	228,404 (203,739 - 259,817)	399,597 (349,672-481,479)	2,953	1,399
6	431,891 (349,081- 655,550)	692,376 (528,804 - 1159,291)	3,358	2,641
8	513,330 (390,783 - 990,976)	799,055 (572,400 - 1716,606)	6,635	3,146
10	602,790*	851,402*	4,673	4,075
12	-	-	-	-

(χ^2 : valeur du test du chi carré, RR : Rapport de résistance, *CI n'a pas pu être calculé)

3.3.5. Effets différés de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le comportement sexuel des souches résistantes de *D. melanogaster* :

3.3.5.1. Les effets des concentrations sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur la fréquence de copulation :

Les résultats ont montré que la fréquence d'accouplement avait augmenté progressivement au fil des générations. Elle est passée de 40 % à la deuxième génération à 98 % à la douzième génération, traduisant une augmentation de l'activité reproductive. Toutefois, quelques fluctuations ont été observées, notamment une légère diminution à la huitième génération (52 %) par rapport à la sixième génération (60 %). Malgré ces variations, la fréquence de copulation a globalement augmenté au cours des générations (**Tab. 31**).

Tableau 31 : Fréquences de copulation des souches résistantes de *D. melanogaster* au fil des générations.

Génération	Fréquence de copulation %
2	40
4	52
6	60
8	52
10	84
12	98

3.3.5.2. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur les temps de déclenchement des séquences de la parade nuptiale :

Les résultats ont montré une évolution globale des différents paramètres comportementaux de la parade nuptiale au fil des générations. Une tendance générale à la diminution des durées a été observée pour la majorité des étapes du comportement reproducteur, notamment le contact, la vibration, le léchage et la tentative de copulation. Cette diminution était particulièrement marquée à partir de la sixième génération jusqu'à la douzième, indiquant un raccourcissement progressif des durées des séquences comportementales. De plus, la latence de copulation a diminué progressivement au fil des générations, passant de $647,50 \pm 10,233$ à $341,90 \pm 10,052$ secondes, ce qui a suggéré une accélération graduelle de l'activité reproductive. L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé des différences significatives entre les temps de latence de la parade nuptiale chez *D. melanogaster* ($p < 0,05$) (Tab. 32).

Tableau 32: Temps de déclenchement des séquences de la parade sexuelle des souches résistante de *D. melanogaster* (Moyenne $\pm$ SEM)

G	Orientation	Contact	Vibration	Léchage	Tentative	Latence de copulation
2	$64,9 \pm 1,34$	$144,44 \pm 5,58$	$181,78 \pm 2,05$	$310,55 \pm 8,45$	$404,85 \pm 8,02$	$647,50 \pm 10,23$
4	$63,88 \pm 1,66$	$150,32 \pm 6,47$	$181,78 \pm 2,09$	$353,00 \pm 5,64$	$413,44 \pm 9,82$	$588,07 \pm 11,02$
6	$60,32 \pm 1,36$	$135,24 \pm 6,14$	$150,76 \pm 1,62$	$297,95 \pm 7,27$	$426,90 \pm 12,69$	$534,00 \pm 10,97$
8	$53,56 \pm 1,50$	$129,88 \pm 4,92$	$141,36 \pm 1,67$	$259,13 \pm 6,79$	$431,90 \pm 11,26$	$498,61 \pm 15,30$
10	$44,76 \pm 0,96$	$115,36 \pm 21,81$	$122,48 \pm 2,10$	$240,39 \pm 3,68$	$383,35 \pm 8,66$	$431,75 \pm 8,91$
12	$39,56 \pm 1,45$	$96,76 \pm 1,45$	$114,08 \pm 2,10$	$196,54 \pm 7,43$	$257,40 \pm 7,16$	$341,90 \pm 10,05$
F	1,40	2,56	2,342	3,429	3,274	3,075
p	0,227	0,030*	0,045*	0,006**	0,008**	0,013*

(G : Générations, * : Significatif, ** : très significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

3.3.5.3. Effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur la durée d'accouplement :

Les résultats ont montré que la durée d'accouplement augmentait progressivement au fil des générations. Chez les mouches de deuxième génération, la durée moyenne d'accouplement était de $959,81 \pm 7,86$ secondes et elle a augmenté progressivement d'une génération à l'autre pour atteindre $1264,33 \pm 3,87$ secondes à la douzième génération. Cependant, l'analyse de la variance a révélé des différences très significatives dans la durée d'accouplement de *D. melanogaster* au fil des générations (Tab. 33).

Tableau 33: Durée de copulation des souches résistantes de *D. melanogaster*
(Moyenne $\pm$ SEM)

Générations	Durée de copulation	<i>F</i>	<i>p</i>
2	959,81 $\pm$ 7,86	3,363	0,008**
4	996,46 $\pm$ 11,74		
6	1092,60 $\pm$ 8,80		
8	1118,11 $\pm$ 9,24		
10	1147,20 $\pm$ 13,07		
12	1264,33 $\pm$ 3,87		

(** : Très significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

3.3.6. Etude des effets différés de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le comportement d'oviposition des souches résistantes de *D. melanogaster* :

3.3.6.1. Les effets de la concentration sublétales de l'extrait aqueux de *P. harmala* sur le nombre d'œufs pondus :

Les résultats ont montré que le nombre d'œufs pondus a augmenté progressivement au fil des générations, passant de 18,63 $\pm$ 0,96 œufs à la deuxième génération à 38,45 $\pm$ 0,95 œufs à la douzième génération, ce qui traduit une adaptation progressive des insectes à l'exposition sublétales au spinosad. L'analyse de la variance (ANOVA) a révélé des différences hautement significatives entre les générations concernant le nombre d'œufs pondus ($F = 4,96$; $p = 0,0001$) (Tab. 35).

Tableau 34 : Nombre d'œufs pondus des souches résistantes de *D. melanogaster*
(Moyenne $\pm$ SEM)

Générations	Nombres des œufs pondus	<i>F</i>	<i>p</i>
2	18,63 $\pm$ 0,96	4,96	0,0001***
4	25,61 $\pm$ 0,88		
6	28,73 $\pm$ 0,89		
8	32,61 $\pm$ 1,48		
10	34,57 $\pm$ 0,54		
12	38,45 $\pm$ 0,95		

(*** : Hautement Significatif, SEM : Erreur standard de la moyenne)

Discussion

4. Discussion :

Etude toxicologique :

La gestion des ravageurs est confrontée à des limites environnementales et économiques liées à l'utilisation intensive des pesticides de synthèse. Ces contraintes ont renforcé l'intérêt pour les pesticides d'origine naturelle, reconnus pour leur biodégradabilité et leur moindre toxicité (Ngegba *et al.*, 2022). Dans ce contexte, la présente étude a porté sur une analyse des effets toxiques des différentes concentrations d'extraits aqueux des feuilles de la plante *P. harmala* et du spinosad sur la mortalité de *D. melanogaster*. Nos résultats mettent en évidence une activité insecticide marquée, corrélée à une relation concentration-réponse significative pour les deux bioinsecticides.

Chez *D. melanogaster*, l'extrait de *P. harmala* a induit une mortalité progressive, atteignant 91,67 % à la concentration maximale de 300 mg/mL après 15 jours d'exposition, indiquant une forte activité toxique. Cette activité biologique pourrait être liée à la richesse de la plante en alcaloïdes de type β -carboline et quinazoline, reconnus pour leurs propriétés neurotoxiques, insecticides et pharmacologiques (Herraiz *et al.*, 2010 ; Pulpati *et al.*, 2008). Par ailleurs, Cui *et al.* (2020) ont montré que les molécules isolées de cette plante, notamment l'harmine ainsi que d'autres β -carboline naturelles, possèdent une activité insecticide, mettant en évidence l'intérêt de cette plante dans le développement de bioinsecticides.

Les paramètres toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀), ainsi que les temps létaux (TL₅₀ et TL₉₀), mettant en évidence une relation concentration-réponse et une relation temps-réponse. L'augmentation de la mortalité en fonction de la concentration et de la durée d'exposition traduit une évolution de l'effet toxique de l'extrait au cours du temps. Nos résultats concordent avec les observations rapportées par Elbah *et al.* (2023), qui ont montré que les extraits aqueux de *P. harmala* exercent un effet toxique sur *D. melanogaster* et induisent une mortalité significative. De même, la décoction des feuilles de *P. harmala* provoque une mortalité progressive chez *D. melanogaster* (Habbachi *et al.*, 2013). La toxicité de *P. harmala* a également été signalée chez plusieurs Diptères, notamment *Culex pipiens* (Habachi *et al.*, 2014 ; Matoug *et al.*, 2017 ; Yang *et al.*, 2020 ; Al-Mekhlafi *et al.*, 2021), *Aedes aegypti* (Benhissen *et al.*, 2018) et *Musca domestica* (Zahoor *et al.*, 2019). Elle a également été rapportée chez certains Coléoptères et Lépidoptères, tels que *Trogoderma granarium* (Almadiy *et al.*, 2018), *Tribolium castaneum*, (Ahmad *et al.*, 2023), *Batrachedra amydraula* (Shaaban *et al.*, 2021), *Ectomyelois ceratoniae* (Lebbouz *et al.*, 2016) et *Spodoptera exigua* (Abbassi *et al.*, 2003).

Plusieurs espèces végétales ont démontré une activité insecticide notable contre *D. melanogaster*, confirmant le potentiel des extraits botaniques comme alternatives aux insecticides (Ghabeish, 2015 ; Anjum *et al.*, 2017 ; Men *et al.*, 2022 ; De Campos *et al.*, 2021 ; Saadane *et al.*, 2021a ; Abubakar *et al.*, 2023)

Les résultats obtenus dans cette étude mettent en évidence les effets toxiques de l'extrait des feuilles de *P. harmala* chez *D. melanogaster*, confirmant son potentiel insecticide, en particulier son effet sur la mortalité par ingestion.

Le spinosad est un insecticide très efficace, largement utilisé à haute teneur contre les Diptères, avec une faible toxicité pour les organismes non ciblés (Wang *et al.*, 2021). Il est considéré comme un insecticide biologique dont le mode d'action se fait par contact ou par ingestion, à n'importe quelle étape du cycle de vie d'un insecte (Bacci *et al.*, 2016).

Les résultats obtenus mettent en évidence des effets toxiques significatifs du spinosad chez *D. melanogaster*, comme l'indiquent les taux de mortalité croissants observés pour les quatre concentrations utilisées au cours de la période d'exposition, atteignant 100 % pour les concentrations les plus élevées. Ces effets s'expliquent par l'action neurotoxique du spinosad ciblant les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine et les récepteurs GABAergiques, du système nerveux des insectes, entraînant des troubles neuromusculaires, une paralysie, puis la mort des individus exposés (Watson, 2001 ; Salgado et Sparks, 2005). Ces résultats confirment la toxicité du spinosad sur *D. melanogaster*, entraînant une mortalité dépendante de la concentration et du temps.

Les paramètres toxicologiques (CL₅₀ et CL₉₀, TL₅₀, TL₉₀) ont mis en évidence une corrélation positive entre les concentrations appliquées de spinosad, la durée d'exposition et le taux de mortalité. Cela démontre que le spinosad possède une action larvicide significative contre *D. melanogaster*. Plusieurs études utilisant le modèle *D. melanogaster* ont confirmé la toxicité du spinosad même à faibles concentrations de spinosad (Frank *et al.*, 2012 ; Aciole *et al.*, 2014). Des études ont montré une diminution notable du taux de survie de ces individus (Mendonça *et al.*, 2019). La mortalité des larves jusqu'au stade adulte a été évaluée avec des concentrations comprises entre 0,05 et 0,5 ppm de spinosad (Nguyen *et al.*, 2021). Des recherches antérieures, notamment celles de Martelli *et al.* (2023), ont rapporté que le spinosad provoque la mortalité de plus de 95 % des larves de *D. melanogaster*. La toxicité du spinosad a également été testée sur d'autres espèces de *Drosophila*, telles que *Drosophila suzukii* (Pavlova *et al.*, 2017 ; Sial *et al.*, 2019 ; Perez-Landa *et al.*, 2022) et sur *Ceratitis capitata* (Cortez-Vega *et al.*, 2023). Le spinosad a montré une efficacité insecticide sur plusieurs espèces de Diptères, notamment *A. aegypti* (Williams *et al.*, 2019; Sisodiya *et al.*,

2021), *C. pipiens* (Sayed *et al.*, 2020) et *Culex quinquefasciatus* (Hamdy *et al.*, 2023). Des effets significatifs ont également été observés chez les Lépidoptères, tels que *Ephestia kuehniella* (Sohrabi *et al.*, 2021), *Plutella xylostella* (Wang *et al.*, 2021), *Diparopsis castanea* et *Helicoverpa armigera* (Jimu *et al.*, 2023), ainsi que chez divers Coléoptères, notamment *Cryptolestes pusillus* (Begum *et al.*, 2022), *Rhyzopertha dominica* (Subasramanyam *et al.*, 2012) et *T. confusum* (Khanbabayi *et al.*, 2019).

L'utilisation d'autres bioinsecticides sur *D. melanogaster* été rapportée dans des études antérieures, notamment, néonicotinoïdes (Komori *et al.*, 2023), le spiromésifène (Kissoum *et al.*, 2020) et *Bacillus thuringiensis* (Nawrot-esposito *et al.*, 2020).

Nos observations, confirment que le traitement à des faibles concentrations de la formulation insecticide spinosad induit une mortalité significative chez *D. melanogaster*.

Comportement sexuel :

Une exposition sublétales aux pesticides peut perturber la physiologie et le comportement des insectes, notamment la reproduction, la locomotion et la perception des phéromones (Bartling *et al.*, 2024). Chez *D. melanogaster*, l'activité d'accouplement est fortement modulée par des signaux environnementaux transmis par les voies gustatives et olfactives (Gorter et Billeter, 2017), ce qui fait de cette espèce un modèle pertinent pour l'étude du comportement sexuel.

Dans ce contexte, nous avons examiné les effets de concentrations sublétales d'un extrait aqueux de *P. harmala* et du spinosad sur le comportement sexuel de *D. melanogaster*, en analysant les différentes étapes de la parade nuptiale menant à la copulation, ainsi que le potentiel de ponte des femelles après l'accouplement. Les deux bioinsecticides testés ont perturbé significativement le comportement de la parade nuptiale et la fécondité de *D. melanogaster*, l'effet étant plus marqué avec le spinosad qu'avec l'extrait aqueux de *P. harmala*.

Nos résultats indiquent que l'extrait de *P. harmala* et le spinosad altèrent significativement la parade nuptiale chez *D. melanogaster*. Les couples exposés ont présenté une réduction de l'accomplissement des différentes séquences de la parade nuptiale ainsi qu'une diminution de la fréquence de copulation, probablement liée à des perturbations de la communication chimique médiée par les phéromones cuticulaires (Yew et Chung, 2015). De plus, les mâles traités ont mis plus de temps à s'orienter vers les femelles, ce qui s'est accompagné d'une diminution de la fréquence des répétitions de la séquence, suggérant une altération de la perception visuelle des femelles, un élément clé de l'orientation des mâles chez cette espèce (Agrawal *et al.*, 2014 ; Coen *et al.*, 2014, 2016 ; Clemens *et al.*, 2018).

Nos résultats démontrent que l'exposition aux bioinsecticides prolonge la durée de la parade nuptiale chez *D. melanogaster* par rapport aux témoins. Alors que les couples témoins achevaient rapidement les séquences, l'exposition à des concentrations sublétales retardait considérablement le déroulement des comportements sexuels. Cette prolongation reflète probablement des perturbations de la communication chimique et de la coordination motrice entre mâles et femelles, deux processus essentiels à la réussite de la reproduction (**Greenspan et Ferveur, 2000 ; Vosshall, 2008 ; McKinney et al., 2015**).

Etant donné que les différentes séquences de la parade nuptiale, comprenant l'orientation, le tapotement, la vibration, le léchage et la tentative de copulation, sont innées et hautement conservées, une réduction de la réalisation de certaines séquences de la parade nuptiale chez les couples traités, conduisant ainsi à une parade nuptiale incomplète pourrait être liée à une perturbation de la coordination des comportements reproducteurs. Ces observations pourraient être liées au rôle des voies gustatives et olfactives dans la communication sexuelle chez *Drosophila* (**Vosshall, 2008 ; McKinney et al., 2015**).

Les altérations comportementales observées chez les couples traités avec l'extrait aqueux de *P. harmala* sont liées à la présence d'alcaloïdes β -carboliniques, notamment l'harmaline et l'harmine, qui possèdent des effets neurotoxiques et déprimeurs sur le système nerveux central (**Mahmoudian et al., 2002**). Ces composés peuvent perturber les voies de signalisation neuronale régulant la communication sexuelle et la reproduction.

Conformément à nos résultats, **Elbah et al. (2016)** ont rapporté que l'extrait de *P. harmala* réduisait l'activité de cour et la ponte chez *D. melanogaster*. Des altérations similaires ont été documentées chez d'autres insectes, notamment *Bactrocera oleae* (**Rehman et al., 2009**) et *Plutella xylostella* (**Abbasipour et al., 2010**).

Les métabolites secondaires d'origine végétale sont de plus en plus reconnus comme de puissants perturbateurs de la communication sexuelle et de la reproduction des insectes, comme l'ont montré des études réalisées avec des extraits de *Drimia maritima* (**Saadane et al., 2021a**), *Ruta chalepensis* (**Amrani et al., 2022**), *Citrullus colocynthis* (**Kihel et al., 2022**), *Ricinus communis* (**Ai et al., 2021**), *Curculigo orchoides* (**Kushalan et al., 2022**), ainsi que *Solanum nigrum* et *Azadirachta indica* (**Chowanski et al., 2018**).

En revanche, le spinosad semble provoquer des perturbations plus sévères en raison de son mode d'action. Il agit principalement sur les récepteurs nicotiniques de l'acétylcholine et, dans une moindre mesure, sur les récepteurs GABAergiques, entraînant ainsi des perturbations importantes de la transmission neuronale et des déficits comportementaux plus marqués (**Sparks et al., 2001 ; Watson, 2010**).

Ces différences mécanistiques se traduisent par une intensité d'effets plus importante, le spinosad provoque des retards et des réductions plus prononcés de la performance de cour. Ce résultat concorde avec des études antérieures ayant montré les effets sublétaux du spinosad sur le comportement sexuel de nombreuses espèces d'insectes, notamment *T. confusum* et *Cryptolestes ferrugineus* (Vayias *et al.*, 2010), *C. pipiens* (Benhissen *et al.*, 2023), *Aedes albopictus* et *Culex pipiens pallens* (Zhang *et al.*, 2025), *Glyphodes pyloalis* (Piri *et al.*, 2014) et *Spodoptera littoralis* (Pineda *et al.*, 2007). Des perturbations comparables ont également été rapportées chez *D. melanogaster* exposée à d'autres insecticides, tels que l'acephate (Mandi *et al.*, 2020) et l'azadirachtine (Boulahbel *et al.*, 2015).

Au-delà de la parade nuptiale, le spinosad a également été montré comme influençant le comportement de ponte chez diverses espèces d'insectes, notamment *C. pipiens* (Michaelakis *et al.*, 2018), *H. armigera* (Yao *et al.*, 2021), *D. sukii* (Pavlova *et al.*, 2017 ; Shaw *et al.*, 2019) et *Rhagoletis indifferens* (Yee, 2018).

Notre étude démontre que l'exposition à des concentrations sublétales des deux bioinsecticides testés perturbe significativement le comportement sexuel et la ponte chez *D. melanogaster*, principalement en altérant la progression temporelle des séquences de la parade nuptiale. Le bioinsecticide commercial a produit des effets plus marqués que l'extrait végétal, traduisant une perturbation plus importante du comportement reproducteur. Néanmoins, l'extrait naturel de *P. harmala* a également exercé des effets significatifs, soulignant son potentiel en tant que source de bioinsecticide dans le cadre de stratégies de lutte antiparasitaire durable.

Comportement alimentaire :

Les insectes détectent les nutriments grâce à des neurones récepteurs gustatifs externes. *D. melanogaster* possède de multiples organes gustatifs répartis sur l'ensemble de son corps. Elle est capable de discriminer la texture des aliments et d'intégrer leurs propriétés chimiques et physiques (Sánchez-Alcañiz *et al.*, 2017). À partir de ces capacités sensorielles, l'alimentation s'organise comme une séquence comportementale précise. Chez la drosophile, elle débute par la détection de la nourriture, puis entraîne l'arrêt de la locomotion, l'extension de la trompe et enfin l'ingestion (Pool et Scott, 2014).

Notre étude visait à examiner l'effet des concentrations sublétales de l'extrait de *P. harmala* et du spinosad sur les réponses olfactives des larves de troisième stade.

Nous avons mis en évidence que les larves témoins de *D. melanogaster* sont capables de percevoir à distance les signaux olfactifs émis par le milieu de culture témoin et de s'orienter vers cette source odorante. La majorité des larves témoins (92 %) a montré une

attraction pour cet environnement d'origine après 30 minutes d'exposition. À l'inverse, l'odeur associée au traitement a induit chez les larves témoins un comportement d'éloignement. Ces résultats confirment le rôle central de l'olfaction dans la détection et la discrimination des signaux chimiques environnementaux, favorisant l'attraction vers les sources nutritives et l'évitement des substances potentiellement toxiques (**Hernandez et al., 2025**).

Les larves traitées avec l'extrait de *P. harmala* présentent des réponses variables lors du choix d'une odeur. Leur capacité à détecter les signaux olfactifs semble altérée, rendant les choix comportementaux plus aléatoires. Chez certaines larves, le déplacement et la prise de décision apparaissent ralentis, suggérant une perturbation de la perception olfactive. D'autres, en revanche, ne manifestent aucune orientation vers le milieu odorant, ce qui pourrait traduire une inhibition de la discrimination des stimuli odorants. La réponse des larves aux composés toxiques ou amers est médiée par des récepteurs gustatifs et peut induire un comportement aversif conduisant à l'arrêt de la prise alimentaire (**Marella et al., 2006 ; Hückesfeld et al., 2016**). Les traitements à base de *P. harmala*, riches en alcaloïdes bioactifs, pourraient ainsi perturber les mécanismes sensoriels impliqués dans la perception olfactive et modifier le comportement des larves face aux différentes sources odorantes.

Plusieurs études ont montré l'effet des composés végétaux bioactifs sur l'olfaction de *D. melanogaster*, mettant en évidence leur capacité à modifier les réponses comportementales de cette espèce. L'étude de **Bouzar et al. (2022)** a notamment montré que l'exposition à l'extrait aqueux de *Nicotiana glauca* Graham entraîne des perturbations du comportement olfactif et alimentaire chez *D. melanogaster*. Les extraits éthanoliques de *Ramalina farinacea* perturbent également le comportement alimentaire de *D. melanogaster* en altérant la perception des odeurs liées à son milieu (**Saadane et al., 2021b**). *D. melanogaster* est naturellement attirée par les odeurs de son milieu de culture, notamment celles des acides gras insaturés, qui jouent un rôle important dans son orientation et son comportement alimentaire (**Fourgeron, 2011**). D'autres études ont montré l'efficacité des composés végétaux dans la modification du comportement de différents insectes (**Egigu et al., 2011 ; Zang et al., 2024**).

Par ailleurs, les larves traitées au spinosad présentent un ralentissement plus important de la détection des odeurs, qu'il s'agisse de l'odeur témoin ou de l'odeur traitée, suggérant une altération globale des capacités olfactives. Chez *D. melanogaster*, la réception des stimuli sensoriels joue un rôle central dans la modulation du comportement. La perception gustative déclenche l'alimentation lorsqu'une source nutritive appropriée est détectée, entraînant l'arrêt de la locomotion et une augmentation de la durée du contact avec le substrat alimentaire (**Pool**

et Scott, 2014 ; Ledue et al., 2015). Ces résultats suggèrent que le spinosad peut influencer de manière significative les mécanismes sensoriels impliqués dans l'orientation et la prise alimentaire chez *D. melanogaster*.

Les résultats montrent que l'odeur du spinosad exerce un effet irritant sur les larves témoins, déclenchant un comportement d'évitement. Les larves s'éloignent des zones traitées et modifient leur trajectoire de déplacement lorsqu'elles sont exposées à cette odeur. On observe également une diminution de l'attraction vers le milieu traité, certaines larves ne se dirigeant pas vers celui-ci. Le traitement induit également un comportement plus aléatoire chez les larves traitées au spinosad, accompagné d'une détection plus lente des odeurs. Toutefois, certains individus peuvent être attirés par l'odeur du milieu traité. L'évitement des larves témoins face au spinosad indique une perturbation de la perception olfactive et du comportement de recherche alimentaire, possiblement liée à une altération des récepteurs sensoriels. Ces modifications comportementales peuvent être mises en relation avec les gènes impliqués dans la recherche de nourriture chez *D. melanogaster*, qui présentent une relation dose-dépendante avec les traits liés à l'alimentation, influençant la longueur du trajet larvaire et le comportement d'ingestion (**Allen et al., 2017**).

Par ailleurs, ces effets peuvent également s'expliquer par le mode d'action neurotoxique du spinosad, connu pour agir sur le système nerveux des insectes en perturbant la transmission synaptique, ce qui entraîne des altérations des fonctions sensorielles et comportementales chez *D. melanogaster*, notamment au niveau de la détection olfactive et du comportement alimentaire (**Salgado, 1998**).

Un traitement à des concentrations sublétales de spinosad est susceptible d'altérer le fonctionnement des récepteurs olfactifs chez les insectes, compromettant ainsi la perception correcte des signaux chimiques de l'environnement. **Rahman et al. (2011)** ont montré que le spinosad exerce un effet répulsif précoce chez *Frankliniella occidentalis*, les individus évitant les zones traitées. **Dos Santos et al. (2019)** ont montré que le spinosad provoque des effets comportementaux et physiologiques chez les ouvrières de *Partamona helleri*, notamment une diminution de l'activité sociale et une altération de l'épithélium intestinal. Par ailleurs, **Bezzar-Bendjazia et al. (2017)** ont rapporté que le traitement à l'azadirachtine entraîne une diminution significative de l'ingestion alimentaire chez les larves de *D. melanogaster*. **Tatarko et al. (2023)** ont montré que les néonicotinoïdes perturbent la perception olfactive ainsi que les comportements guidés par les odeurs chez la drosophile.

Les résultats obtenus montrent que les traitements au spinosad et à *P. harmala* influencent significativement le comportement des larves de *D. melanogaster* en modifiant

leurs temps de réponse et leur capacité de détection des odeurs. Le spinosad induit un effet plus marqué, caractérisé par un ralentissement plus important de la détection olfactive, comparativement à *P. harmala*. Ces observations suggèrent une perturbation des mécanismes sensoriels impliqués dans la perception des stimuli environnementaux, susceptible d'affecter l'orientation ainsi que les réponses comportementales des larves face aux différentes sources odorantes chez *D. melanogaster*.

Etude de la résistance :

La résistance aux insecticides chez *D. melanogaster* est largement documentée, ce qui en fait un modèle biologique de référence pour l'étude des mécanismes d'adaptation et de sélection sous pression chimique (**Perry et al., 2011**). *D. melanogaster* présente une variabilité génétique naturelle qui peut contribuer à la tolérance aux composés xénobiotiques, incluant différents insecticides (**Mateo et al., 2014**).

Dans cette étude, nous avons suivi l'évolution de la résistance afin d'analyser les effets toxicologiques d'expositions répétées à différentes concentrations de spinosad et d'extraits aqueux de *P. harmala*, administrés par ingestion et par contact, sur une souche résistante de *D. melanogaster*. Les traitements ont entraîné une diminution progressive des taux de mortalité au fil des générations, traduisant une perte de sensibilité des populations exposées. Les extraits de la plante ont conduit à une mortalité nulle à partir de la 10^e génération, tandis que pour le spinosad, aucune mortalité n'a été observée dès la 12^e génération. Cette diminution de la sensibilité pourrait être liée à des mécanismes de détoxification, notamment à l'activation d'enzymes telles que les cytochromes P450, impliquées dans la dégradation des composés toxiques chez les drosophiles, comme l'a montré **Wilson (2001)**. Chez cette espèce, l'exposition répétée à des insecticides peut conduire à une sélection progressive de populations plus tolérantes. **Mertz et al. (2022)** ont montré que les populations peuvent développer une résistance sous pression de sélection, parfois à des niveaux élevés, traduisant une forte capacité d'adaptation face aux agents toxiques.

Ces résultats suggèrent ainsi un processus progressif d'adaptation et de tolérance des populations exposées aux composés bioactifs testés.

Concernant l'extrait aqueux de *P. harmala*, une augmentation progressive des valeurs de CL₅₀ et de CL₉₀ a été observée au fil des générations. L'augmentation de ces paramètres indique que des concentrations de plus en plus élevées de l'extrait sont nécessaires pour induire les mêmes niveaux de mortalité. Le rapport de résistance a également augmenté, atteignant 4,07 à la 10^e génération. Cette augmentation indique une diminution de la sensibilité relative au traitement au cours des générations. Des études ont également montré

qu'une exposition prolongée à des composés d'origine végétale, notamment des alcaloïdes, peut conduire à une adaptation progressive et à une augmentation de la tolérance chez certaines espèces de *Drosophila* (**Danielson et al., 1997 ; Fogleman et al., 1998**).

L'exposition répétée à l'extrait aqueux de *P. harmala* semble favoriser une adaptation progressive de *D. melanogaster*, caractérisée par une diminution de la sensibilité et une augmentation de la tolérance au cours des générations.

L'application du spinosad a entraîné une diminution progressive des taux de mortalité au fil des générations, accompagnée d'une augmentation des valeurs de CL₅₀ et de CL₉₀, traduisant une diminution de la sensibilité des individus. De plus, les ratios de résistance (RR), compris entre 1,60 et 7,55, indiquent une faible résistance à partir de la 10^e génération selon **Pan et al. (2005)**. La faible résistance observée au spinosad pourrait être liée à des mécanismes décrits chez *D. melanogaster*, notamment des mutations et des mécanismes de détoxification (**Somers et al., 2015 ; Denecke et al., 2015**).

Les résultats indiquent une adaptation des populations exposées, associée à une faible résistance et à une diminution de la sensibilité chez *Drosophila*. Plusieurs études ont montré que la résistance au spinosad peut atteindre différents niveaux au fil des générations. **Zimmer et al. (2016)** ont montré que des mutations spécifiques peuvent entraîner une résistance de *D. melanogaster* jusqu'à 66 fois plus élevée au spinosad. Ainsi, **Perry et al. (2007)** et **Watson et al. (2010)** ont montré l'apparition rapide de souches tolérantes chez *D. melanogaster*. Par ailleurs, chez *D. suzukii*, une évolution rapide de la résistance au spinosad a été observée sous pression de sélection, se traduisant par une augmentation progressive des valeurs de CL₅₀ au fil des générations (**Disi et Sial, 2021 ; Ganjisaffar et al., 2022**). De plus, une tolérance au spinosad a été rapportée chez cette espèce, indiquant une résistance 4 à 7 fois plus élevée que dans des populations non exposées, ce qui suggère l'émergence et la progression de la résistance au sein de certaines populations (**Gress et Zalom, 2019**).

La résistance au spinosad a été largement étudiée chez différents insectes, aussi bien en conditions de laboratoire qu'en milieu naturel. Ces travaux montrent que la sensibilité au spinosad peut varier selon les populations et évoluer sous pression de sélection, avec des cas d'augmentation progressive de la résistance, notamment chez certaines espèces de Diptères (**Markussen et Kristensen, 2012 ; Hou et al., 2014 ; Khan et al., 2014 ; Schnaars-Uvino et Baker, 2021 ; Gad et al., 2023 ; Kaplanoglu et al., 2024**). Ainsi, chez les Lépidoptères et les Coléoptères, la résistance au spinosad a également été étudiée (**Baxter et al., 2010 ; Okuma et al., 2018 ; Khalid et al., 2023 ; Wang et al., 2024**).

La résistance aux insecticides chez *D. melanogaster* a également été mise en évidence pour d'autres molécules, notamment l'azadirachtine (Liang *et al.*, 2025) et certains insecticides de synthèse tels que le zeta-cyperméthrin, le malathion et l'acétamipride, avec des augmentations de tolérance observées dans des souches sélectionnées en laboratoire ou issues du terrain (Mertz *et al.*, 2023 ; Scotta, 2022).

Le spinosad induit une d'adaptation chez *D. melanogaster*, caractérisé par une diminution progressive de la sensibilité au cours des générations. Les populations restent globalement sensibles au début de l'exposition, tandis qu'une tolérance plus marquée apparaît principalement dans les générations tardives, cette évolution traduit l'installation progressive d'une résistance au cours des générations.

Dans cette étude, l'exposition prolongée à des concentrations sublétales de spinosad et d'extrait aqueux de *P. harmala* a entraîné des modifications significatives des paramètres comportementaux et reproductifs chez *D. melanogaster* au cours de 12 générations. Ces résultats suggèrent une réponse adaptative des populations exposées à une pression exercée par les bioinsecticides.

Une diminution progressive des comportements reproducteurs, notamment du temps consacré aux séquences de parade sexuelle, a été observée au fil des générations chez *D. melanogaster*, avec une réduction plus marquée dans les dernières générations, suggérant une modification des réponses comportementales sous l'effet d'une exposition prolongée aux bioinsecticides. Cette évolution pourrait traduire une réorganisation adaptative des stratégies reproductives au cours du temps, certaines pressions de sélection étant capables d'altérer la parade nuptiale, la fréquence d'accouplement et la durée de copulation chez cette espèce, comme l'ont rapporté Mital *et al.* (2021).

Les résultats montrent que l'augmentation du taux de réussite des accouplements, atteignant jusqu'à 100 % chez les couples exposés au spinosad et 98 % chez ceux traités par l'extrait de plante, ainsi que l'allongement de la durée de copulation observé chez *D. melanogaster*, peuvent être interprétés comme une réponse adaptative à l'exposition répétée aux bioinsecticides. Plusieurs études ont montré que l'adaptation à différents stress environnementaux influence le succès reproducteur et les performances d'accouplement, traduisant un compromis entre résistance au stress et reproduction, comme l'ont rapporté Gefen et Gibbs (2009). Ces modifications des traits reproductifs pourraient ainsi s'inscrire dans une réponse adaptative globale face à la pression exercée par les composés testés, cette espèce présentant une forte capacité d'adaptation génétique aux stress environnementaux (Fanara *et al.*, 2024). Plusieurs travaux ont également montré que l'exposition aux

insecticides peut modifier différents traits comportementaux et physiologiques, notamment les performances reproductives, comme l'ont indiqué **Guedes et al. (2017)**, bien que, dans certaines conditions, l'adaptation à ces stress puisse s'accompagner d'un compromis entre résistance au stress et reproduction, entraînant une modification du succès reproducteur et des performances d'accouplement (**Gefen et Gibbs, 2009**).

Une augmentation du nombre d'œufs pondus a été observée au fil des générations chez *D. melanogaster* en réponse à l'exposition aux bioinsecticides. Cette augmentation suggère que, malgré la pression exercée par le spinosad et l'extrait aqueux de *P. harmala*, les populations maintiennent, voire augmentent, leur capacité de ponte au cours du temps. Chez les insectes, le comportement de ponte constitue un trait clé directement influencé par les conditions environnementales et les pressions de sélection, car il détermine à la fois le succès reproducteur des adultes et les conditions de développement de la descendance (**Nylin et Gotthard, 1998 ; Silva-Soares et al., 2017**). Chez *D. melanogaster*, la sélection induite par les insecticides peut influencer les décisions de ponte et les performances reproductives, traduisant une interaction directe entre la résistance et les traits d'histoire de vie, comme l'a montré **Jaenike (1983)**. Des variations du comportement de ponte ont également été observées chez des souches résistantes, suggérant que les mécanismes de résistance peuvent affecter non seulement la survie, mais aussi des traits comportementaux liés à la reproduction et au choix du site de ponte (**Nogueira et al., 2026**). **Alves et al. (2025)** montrent également que les insecticides modifient le comportement de ponte en influençant le choix des sites de dépôt des œufs, ce qui a un impact direct sur la survie des larves.

Chez d'autres espèces d'insectes, l'exposition au spinosad peut entraîner des coûts de fitness associés à la résistance, notamment une réduction de la fécondité et des performances reproductives chez *F. occidentalis*, selon **Hua et al. (2023)**, tandis que chez *P. xylostella*, la résistance au spinosad affecte le développement, la ponte et la dynamique des populations, comme l'ont montré **Sayyed et al. (2008)** et **Guillem-Amat et al. (2020)**. Chez *Ceratitis capitata*, elle entraîne une baisse du succès d'accouplement et des performances reproductives, mettant en évidence un compromis entre survie et reproduction.

L'exposition répétée au spinosad et à l'extrait aqueux de *P. harmala* entraîne des modifications progressives du comportement reproducteur chez *D. melanogaster* au cours des générations. Cette évolution se manifeste par une amélioration progressive de plusieurs paramètres du comportement sexuel, notamment le début de la parade, la fréquence des copulations et certaines caractéristiques de la copulation. Par ailleurs, l'augmentation du nombre d'œufs pondus au fil des générations indique une amélioration des performances

reproductives, suggérant que les populations parviennent progressivement à maintenir leur reproduction malgré l'exposition répétée aux bioinsecticides.

Conclusion

Conclusion :

Cette étude a permis d'évaluer l'évolution de la résistance de *D. melanogaster* aux bioinsecticides, à travers l'analyse de la mortalité et des réponses comportementales, afin d'apporter des éléments utiles à l'orientation de stratégies de lutte intégrée plus efficaces.

Les bioinsecticides naturels représentent des alternatives prometteuses pour la lutte contre les insectes nuisibles, grâce à leur efficacité insecticide et à leur intérêt dans le cadre d'une lutte intégrée plus durable. Dans ce cadre, le spinosad et l'extrait aqueux de *P. harmala* ont exercé une toxicité significative sur *D. melanogaster*, se traduisant par des taux de mortalité élevés. Ces résultats confirment leur impact sur les individus traités et soulignent leur intérêt potentiel pour une gestion durable des insectes ravageurs.

Au-delà de l'effet toxique direct, l'exposition des concentrations de spinosad et d'extrait aqueux de *P. harmala* entraîne des altérations des comportements sexuels, reproductifs et alimentaires chez *D. melanogaster*, se traduisant par un allongement du temps d'accouplement, une modification de la parade, une réduction du nombre d'œufs pondus ainsi qu'une perturbation de la réponse aux signaux odorants.

Ces travaux mettent en évidence un risque d'installation progressive de résistance suite à l'exposition répétée de *D. melanogaster* au spinosad et à l'extrait aqueux de *P. harmala* sur douze générations, caractérisée par une diminution de la mortalité au fil du temps et une adaptation des populations exposées.

L'exposition prolongée à une concentration sublétales sur douze générations a également entraîné des modifications des comportements sexuels et reproductifs, se traduisant par un allongement du temps d'accouplement, une modification de la parade sexuelle et une réduction du nombre d'œufs pondus. Cependant, une amélioration progressive de plusieurs paramètres du comportement sexuel et de la reproduction a été observée au cours des générations suivantes.

À l'avenir, il serait intéressant de compléter ce travail par :

- L'analyse de la composition chimique des extraits de *P. harmala* afin d'identifier les composés responsables de l'activité insecticide observée.
- L'évaluation de l'activité biologique des principaux composés actifs de *P. harmala* et le développement de formulations à base de ces extraits en vue de leur utilisation potentielle comme biopesticides naturels contre les insectes ravageurs.
- L'étude des mécanismes génétiques, biochimiques et physiologiques impliqués dans le développement de la résistance chez *D. melanogaster*.

- L'évaluation de la toxicité des deux bioinsecticides sur les organismes non cibles afin de déterminer leur innocuité et d'observer d'éventuels effets comportementaux.
- Une étude écologique visant à évaluer l'impact potentiel des bioinsecticides sur les interactions au sein des communautés écologiques (pollinisateurs, prédateurs, décomposeurs) afin de minimiser les perturbations environnementales.
- Tester l'efficacité de la combinaison de plusieurs bioinsecticides ou extraits de plantes afin de limiter l'apparition de résistance.
- Réaliser une étude en conditions naturelles afin d'évaluer la stabilité de la résistance aux bioinsecticides et de comparer les résultats obtenus au laboratoire à ceux observés sur le terrain.
- L'intégration de ces résultats dans des stratégies de lutte intégrée durables.

Références
Bibliographiques

6. Références bibliographiques :

- Ababou, A., Chouieb, M., Bouthiba, A., Saidi, D., Bouzina, M. M. H., & Mederbal, K. (2013).** Spatial pattern analysis of *Peganum harmala* on the salted lower Chelif plain, Algeria. *Turkish Journal of Botany*, 37(1), 111-121.
- Abbas, A., Hafeez, F., Hasnain, A., Iftikhar, A., Khan, M. H., Ullah, F., Elkady, A. M. M., Zhao, C. R., & Sun, X. (2025).** Chlorantraniliprole resistance and associated fitness costs in fall armyworm (Spodoptera frugiperda): Implications for resistance management. *Insects*, 16(12), 1232.
- Abbas, M. W., Hussain, M., Qamar, M., Ali, S., Shafiq, Z., Wilairatana, P., & Moubarak, M. S. (2021).** Effets antioxydants et anti-inflammatoires des extraits de *Peganum harmala* : une étude in vitro et in vivo. *Molecules*, 26(19), 6084.
- Abbasipour, H., Mahmoudvand, M., Rastegar, F., & Basij, M. (2010).** Insecticidal activity of *Peganum harmala* seed extract against the diamondback moth, *Plutellaxy lostella*. *Bulletin of Insectology*, 63(2), 259-263.
- Abbassi, K., Mergaoui, L., Atay-Kadiri, Z., Stambouli, A., Ghaout, S., & (2003).** Effets des extraits de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskål, 1775). *Zoologica baetica*, 13(14), 203-217.
- Abbott, L. B., Lepak, D., & Daniel, D. L. (2007).** Phénologie végétative et reproductive de la rue africaine (*Peganum harmala*) dans le nord du désert du Chihuahua. *The Southwestern Naturalist*, 52(2), 209-218.
- Abdel Aziz, H. G., Abdel Kader, S. M., El-Sayed, M. M., El-Malt, E. A., & Shaker, E. S. (2011).** Novel β -carboline alkaloid from *Peganum harmala* as antibacterial agent. In *Proceedings of the Tenth Radiation Physics and Protection Conference* (No. INIS-EG--221, pp. 359-368).
- Abdel-Fattah, A. F. M., Matsumoto, K., Gammaz, H. A. K., & Watanabe, H. (1995).** Hypothermic effect of harmala alkaloid in rats: involvement of serotonergic mechanism. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 52(2), 421-426.
- Abubakar, B., Giaze, R. T., Nasir, I., & Aminu, N. (2023).** Toxicity assessment of methanol extract of *Combretum micranthum* in *Drosophila melanogaster*. *CaJoST*, 5(2), 204-211.
- Aciole, E. H. P., Guimaraes, N. N., Silva, A. S., Amorim, E. M., Nunomura, S. M., Garcia, A. C. L., Cunha, K. S., & Rohde, C. (2014).** Genetic toxicity of dillapiol and spinosad larvicides in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Pest management science*, 70(4), 559-565.

- Afzal, M. B. S., Ijaz, M., Abbas, N., Shad, S. A., & Serrão, J. E. (2024).** Resistance of lepidopteran pests to *Bacillus thuringiensis* toxins: evidence of field and laboratory evolved resistance and cross-resistance, mode of resistance inheritance, fitness costs, mechanisms involved and management options. *Toxins*, 16(7), 315.
- Agrafioti, P., Gourgouta, M., Kateris, D., & Athanassiou, C. G. (2025).** Insecticidal and Residual Effects of Spinosad, Alpha-Cypermethrin, and Pirimiphos-Methyl on Surfaces Against *Tribolium castaneum*, *Sitophilus granarius*, and *Lasioderma serricorne*. *Agriculture*, 15(11), 1133.
- Agrawal, S., Safarik, S., & Dickinson, M. (2014).** The relative roles of vision and chemosensation in mate recognition of *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 217(15), 2796-2805.
- Ahissou, B., Sawadogo, W., Sankara, F., Kambiré, F., Bokonon-ganta, A., Somda, I., & Verheggen, F. (2024).** Fall armyworm in West Africa: Earwig predation potential and insecticide selectivity. *Base. Biotechnology, Agronomy, Society and Environment*, 28 (2), 82 – 90.
- Ahmad, F., Javaid, A., Zaheer, T., Saeed, Q., Ali, Z., Shabbir, A., & Naseem, S. (2023).** Bioactivity of medicinal plant extracts from *Peganum harmala* and *Cichorium intybus* against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae). *International Journal of Environmental Science and Technology*, 20(1), 769-776.
- Ahmed, N., Alam, M., Saeed, M., Ullah, H., Iqbal, T., Al-Mutairi, K. A., Shahjeer, k., Ullah, R., Ahmed, S., Ahmed, N. A. H., Khater, H. F. & Salman, M., (2021).** Botanical insecticides are a non-toxic alternative to conventional pesticides in the control of insects and pests. In *Global decline of insects*. IntechOpen.
- Ai, T. T. T., Phien, H. H., Men, T. T., & (2021).** Phytochemical constituents and toxicity of the ethanol extract of *Ricinus communis* (L.) in *Drosophila melanogaster*. *Asian Journal of Biology*, 13(4): 12-21.
- Aimé, S. (1988).** Aspects écologiques de la présence de quelques espèces steppiques (*Stipa tenacissima*, *Lygeum spartum*, *Artemisia herba-alba*, *Noaea mucronata*) en Oranie littorale. *Biocénoses. Bull. Ecol. Terr*, 3(12), 16-24.
- Akdoğan, M., Tekman, E., Yuca, H., Karakaya, S., Bona, G. E., & Kazaz, C. (2025).** Exploration of hallucinogenic compounds in *peganum harmala*, a popular incense in folk culture, coupled with anatomical analysis. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 49(1), 79-90.

- Akramova, G. (2024).** Medicinal properties of “*Péganum hármala*” plant. In *BIO Web of Conferences* (Vol. 93, p. 02018). EDP Sciences.
- Allen, A. M., Anreiter, I., Neville, M. C., & Sokolowski, M. B. (2017).** Feeding-related traits are affected by dosage of the foraging gene in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 205(2), 761-773.
- Almadiy, A. A., Nenaah, G. E., & Shawer, D. M. (2018).** Facile synthesis of silver nanoparticles using harmala alkaloids and their insecticidal and growth inhibitory activities against the *khapra* beetle. *Journal of Pest Science*, 91(2), 727-737.
- Al-Mekhlafi, F. A., Abutaha, N., Alhaga, S. K., & Al-Wadaan, M. (2021).** Effects of *Peganum harmala* L. seed extract on *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Brazilian Journal of Biology*, 82, e241338.
- Alves, A. N., Martelli, F., Yang, Y. T., & Wedell, N. (2025). Insecticide resistance alters oviposition preference in *Drosophila melanogaster*. *Authorea Preprints*.
- Amrani, S., Habbachi, S., Benhissen, S., Rebbas, K., & Habbachi, W. (2022).** Evaluation of insecticidal effects of *Rutachalepensis* ethanolic extract on mortality, sexual behaviour, and oviposition of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Asia Life Sciences Evaluation*, 12(11), 1485- 1492.
- Al Naggar, Y., Fahmy, N. M., Alkhaibari, A. M., Al-Akeel, R. K., Alharbi, H. M., Mohamed, A., Eleftherianos, I., El-Seedi, H. R., Giesy, J. P., & Alharbi, H. A. (2025).** Mechanisms and genetic drivers of resistance of insect pests to insecticides and approaches to its control. *Toxics*, 13(8), 681.
- Anjum, S. I., Husain, S., Khan, H. U., Attaullah, M., Rajput, S., Shah, A. H., Buner, D. I., & Shah, A. H. (2017).** Toxicity assessment of the methanol extract from *Elaeagnus angustifolia* against larvae of *Drosophila melanogaster* meign (Diptera/Drosophilidae). *J. Entomol. Zool. Stud*, 5(1), 217-220.
- Araújo, M. F., Castanheira, E. M., & Sousa, S. F. (2023).** The buzz on insecticides: a review of uses, molecular structures, targets, adverse effects, and alternatives. *Molecules*, 28(8), 3641.
- Arguello, J. R., Laurent, S., & Clark, A. G. (2019).** Demographic history of the human commensal *Drosophila melanogaster*. *Genome biology and evolution*, 11(3), 844-854.
- Astulla, A., Zaima, K., Matsuno, Y., Hirasawa, Y., Ekasari, W., Widyawaruyanti, A., Zaini, N.C., & Morita, H. (2008).** Alkaloids from the seeds of *Peganum harmala* showing antiplasmodial and vasorelaxant activities. *Journal of natural medicines*, 62(4), 470-472.

- Bacci, L., Lupi, D., Savoldelli, S., & Rossaro, B. (2016).** A review of Spinosyns, a derivative of biological acting substances as a class of insecticides with a broad range of action against many insect pests. *Journal of Entomological and Acarological Research*, 48(1), 40-52.
- Bainbridge, S. P., & Bownes, M. (1981).** Staging the metamorphosis of *Drosophila melanogaster*. *Development*, 66(1), 57-80.
- Baker, B., Green, T., & Loker, A. (2020).** Biological control and integrated pest management in organic and conventional systems. *Biological Control*, 140, 104095.
- Bartling, M. T., Brandt, A., Hollert, H., & Vilcinskas, A. (2024).** Current insights into sublethal effects of pesticides on insects. *International journal of molecular sciences*, 25(11), 6007.
- Baxter, S. W., Chen, M., Dawson, A., Zhao, J. Z., Vogel, H., Shelton, A. M., Heckel, G. D., & Jiggins, C. D. (2010).** Mis-spliced transcripts of nicotinic acetylcholine receptor $\alpha 6$ are associated with field evolved spinosad resistance in *Plutella xylostella* (L.). *PLoS Genetics*, 6(1), e1000802.
- Baylies, M. K., & Bate, M. (1996).** twist: a myogenic switch in *Drosophila*. *Science*, 272(5267), 1481-1484.
- Begum, J., & Islam, W. (2022).** Toxic and repellent potentials of spinosad against *Cryptolestes pusillus* (Schon.)(Coleoptera: Cucujidae). *International Journal of Biologie and pharmaceutical sciences Archives*, 3(2), 74-83.
- Belinato, T. A., & Martins, A. J. (2016).** Insecticide resistance and fitness cost. In *Insecticides resistance* (Vol. 12, pp. 243-261). Rijeka, Croatia: InTech.
- Benhissen S, Habbachi W, Rebbas K, Masna F. (2018).** Entomological and typological studies of larval breeding sites of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Bousaâda area (Algeria). *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, 87, 112-120.
- Benhissen, S., Habbachi, W., Hedjouli, Z., Asloum, A. Y., & Bounadji, S. (2023).** Effects of Spinosad and *Bacillus thuringiensis kurstaki* on *Culex pipiens Linnaeus*, 1758 (Diptera: Culicidae): Adults' Fertility, Fecundity and Cuticular Hydrocarbons. *Acta Zoologica Bulgarica*, 75(2), 265-272.
- Bennet-Clark, H. C., & Ewing, A. W. (1970).** The love song of the fruit fly. *Scientific American*, 223(1), 84-93.
- Bensalem, S., Soubhye, J., Aldib, I., Bournine, L., Nguyen, A. T., Vanhaeverbeek, M., Rousseau, A., Boudjeltia, Z. K., Sarakbi, A., Kauffmann, J. M., Nève, J., Prévost, M., Stévigny, C., Benabdesselam, M. F., Bedjou, P., Antwerpen, V. P., & Duez, P. (2014).**

Inhibition of myeloperoxidase activity by the alkaloids of *Peganum harmala* L.(Zygophyllaceae). *Journal of ethnopharmacology*, 154(2), 361-369.

Berdai, M. A., Labib, S., & Harandou, M. (2014). *Peganum harmala* L. intoxication in a pregnant woman. *Case reports in emergency medicine*, 2014(1), 783236.

Berrougui, H., Isabelle, M., Cloutier, M., Hmamouchi, M., & Khalil, A. (2006). Protective effects of *Peganum harmala* L. extract, harmine and harmaline against human low-density lipoprotein oxidation. *Journal of pharmacy and pharmacology*, 58(7), 967-974.

Bezzar-Bendjazia, R., Kilani-Morakchi, S., Maroua, F., & Aribi, N. (2017). Azadirachtin induced larval avoidance and antifeeding by disruption of food intake and digestive enzymes in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Pesticide biochemistry and physiology*, 143, 135-140.

Bilbo, T. R., Kennedy, G. G., & Walgenbach, J. F. (2023). Western flower thrips (*Frankliniella occidentalis*) field resistance to spinetoram in North Carolina. *Crop Protection*, 165, 106168.

Bose, C., Basu, S., Das, N., & Khurana, S. (2015). Chemosensory apparatus of *Drosophila* larvae. *Bioinformation*, 11(4), 185.

Boulahbel, B., Aribi, N., Kilani-Morakchi, S., & Soltani, N. (2015). Activity of neem oil in *Drosophila melanogaster*: toxicity and delayed effect on the progeny. *J. Entomol. Zool. Stud*, 3, 306-310.

Bouzar, A., Habbachi, S., Samai, I., Rahat, M., Boublata, N. E. I., saadane, F.Z., S., Habbachi, w., Benhissen, S., & Tahraoui, A. (2022). *Nicotiana Glauca* Graham (Solanaceae) Bioactivity and Toxic Effects on Mortality, Feeding Behavior and Pupation Choice of *Drosophila Melanogaster* Larvae (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Bioresource Management*, 9(4), 149-161.

Brown, A. W. A. (1958). The insecticide-resistance problem: a review of developments in 1956 and 1957. *Bulletin of the World Health Organization*, 18(3), 309.

Bryant, P. J. (1978). Pattern formation in imaginal discs. *The Genetics and Biology of Drosophila* Volume 2c, 229-335.

Chan, H. Y. E., & Bonini, N. M. (2000). *Drosophila* models of human neurodegenerative disease. *Cell Death & Differentiation*, 7(11), 1075-1080.

Chopra, R. N., & Nayar, S. L. (1956). *Glossary of Indian medicinal plants*. Council of scientific and Industrial Research.

Chowański, S., Chudzińska, E., Lelario, F., Ventrella, E., Marciniak, P., Miądowicz-Kobielska, M., ... & Adamski, Z. (2018). Insecticidal properties of *Solanum nigrum* and

- Armoracia rusticana* extracts on reproduction and development of *Drosophila melanogaster*. *Ecotoxicology and environmental safety*, 162, 454-463.
- Church, R. B., & Robertson, F. W. (1966).** A biochemical study of the growth of *Drosophila melanogaster*. *Journal of experimental Zoology*, 162(3), 337-351.
- Civolani, S., Bariselli, M., Osti, R., & Bernacchia, G. (2025).** Insect Pest Control from Chemical to Biotechnological Approach: Constrains and Challenges. *Insects*, 16(5), 528.
- Clemens, J., Coen, P., Roemschied, F. A., Pereira, T. D., Mazumder, D., Aldarondo, D. E., Pacheco, D. A. & Murthy, M. (2018).** of new song mode in *Drosophila* hidden structure in the sensory and neural drivers of behavior. *Current Biology*, 28(15), 2400-2412.
- Cobb, M., Bruneau, S., & Jallon, J. M. (1992).** Genetic and developmental factors in the olfactory response of *Drosophila melanogaster* larvae to alcohols. Proceedings of the Royal Society of London. *Series B: Biological Sciences*, 248(1322), 103-109.
- Coen, P., Clemens, J., Weinstein, A. J., Pacheco, D. A., Deng, Y., & Murthy, M. (2014).** Dynamic sensory cues shape song structure in *Drosophila*. *Nature*, 507(7491), 233-237.
- Coen, P., Xie, M., Clemens, J., & Murthy, M. (2016).** Sensorimotor transformations underlying variability in song intensity during *Drosophila* courtship. *Neuron*, 89(3), 629-644.
- Connolly, K., & Cook, R. (1973).** Rejection responses by female *Drosophila melanogaster*: their ontogeny, causality and effects upon the behaviour of the courting male. *Behaviour*, 142-166.
- Cortez-Vega, A., Jofré-Barud, F., Andino, N., Gómez, M. P., & López, M. L. (2023).** Toxicological interactions between spinosad and essential oils in the Mediterranean fruit fly, *Ceratitis capitata*. *Journal of Applied Entomology*, 147(9), 834-842.
- Crouse, G. D., D. A. Demeter, G. Samaritoni, C. L. McLeod, and T. C. Sparks. 2018.** De novodesign of potent, insecticidal synthetic mimics of the spinosyn macrolide natural products. *Sci. Rep.* 8:4861. doi: 10.1038/s41598-018-22894-6.
- Cui, G., Yuan, H., Jiang, Z., Zhang, J., Sun, Z., & Zhong, G. (2020).** Natural harmine negatively regulates the developmental signaling network of *Drosophila melanogaster* (Drosophilidae: Diptera) in vivo. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190, 110134.
- Danielson, P. B., MacIntyre, R. J., & Fogleman, J. C. (1997).** Molecular cloning of a family of xenobiotic-inducible drosophilid cytochrome P450s: evidence for involvement in host-plant allelochemical resistance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 94(20), 10797-10802.
- De Campos, O. C., Layole, M. P., Iheagwam, F. N., Rotimi, S. O., & Chinedu, S. N. (2021).** Phytochemical composition, antioxidant activity and toxicity of aqueous extract of

Picralima nitida in *Drosophila melanogaster*. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 4(12),1147-1153.

Denecke, S., Nowell, C. J., Fournier-Level, A., Perry, T., & Batterham, P. (2015). The wiggle index: An open source bioassay to assess sub-lethal insecticide response in *Drosophila melanogaster*. *PLoS One*, 10(12), e0145051.

Dickson, B. J. (2008). Wired for sex: the neurobiology of *Drosophila* mating decisions. *Science*, 322(5903), 904-909.

Disi, J. O., & Sial, A. A. (2021). Laboratory selection and assessment of resistance risk in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae) to spinosad and malathion. *Insects*, 12(9), 794.

Dos Santos Araujo, R., Lopes, M. P., Barbosa, W. F., Gonçalves, W. G., Fernandes, K. M., Martins, G. F., & Tavares, M. G. (2019). Spinosad-mediated effects on survival, overall group activity and the midgut of workers of *Partamona helleri* (Hymenoptera: Apidae). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 175, 148-154.

Dryden, M., Canfield, M., Niedfeldt, E., Kinnon, A., Kalosy, K., Smith, A., Foley, K., Smith, V., Bress, T., Smith, N., Endrizzi, M., & Login, J. (2017). Evaluation of sarolaner and spinosad oral treatments to eliminate fleas, reduce dermatologic lesions and minimize pruritus in naturally infested dogs in west Central Florida, USA. *Parasites & Vectors*, 10(1), 389.

Dubrovsky, E. B. (2005). Hormonal cross talk in insect development. *Trends in Endocrinology & Metabolism*, 16(1), 6-11.

Ebbs, M. L., & Amrein, H. (2007). Taste and pheromone perception in the fruit fly *Drosophila melanogaster*. *Pflügers Archiv-European Journal of Physiology*, 454(5), 735-747.

Egigu, M. C., Ibrahim, M. A., Yahya, A., & Holopainen, J. K. (2011). Cordeauxia edulis and *Rhododendron tomentosum* extracts disturb orientation and feeding behavior of *Hylobius abietis* and *Phyllodecta laticollis*. *Entomologia experimentalis et applicata*, 138(2), 162-174.

El Sayed, T. S., Sayed, R. M., Rizk, S. A., & Abdalla, R. S. (2020). Toxicological and histological studies on the effect of spinosad or vinegar on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *African Entomology*, 28(1), 175-181.

Elbah, D., Athamnia, M., & Ouakid, M. L. (2023). Comparative Bioactivity of *Peganum Harmala* (Zygophyllaceae) Leaves, Flowers and Seeds Aqueous Extracts on *Drosophila Melanogaster* (Diptera: Drosophilidae): Mortality and Growth Inhibition Impact. *Journal of Bioresource Management*, 10(1), 3.

El-Bah, D., Habbachi, W., Ouakid, M. L., & Tahraoui, A. (2016). Sublethal effects of *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) on sexual behavior and oviposition in fruit fly

Drosophila melanogaster (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4(6): 638-642.

Elkins, L. J., & Spiegelman, M. (2021). pyUserCalc: A revised Jupyter Notebook calculator for uranium-series disequilibria in basalts. *Earth and Space Science*, 8(12), e2020EA001619.

El-Sayed, M. H., Ibrahim, M. M., Elsobki, A. E., & Aioub, A. A. (2023). Enhancing the toxicity of cypermethrin and spinosad against *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) by inhibition of detoxification enzymes. *Toxics*, 11(3), 215.

Fabre, C. C., Hedwig, B., Conduit, G., Lawrence, P. A., Goodwin, S. F., & Casal, J. (2012). Substrate-borne vibratory communication during courtship in *Drosophila melanogaster*. *Current Biology*, 22(22), 2180-2185.

Fanara, J. J., Sassi, P. L., Goenaga, J., & Hasson, E. (2024). Genetic basis and repeatability for desiccation resistance in *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Genetica*, 152(1), 1-9.

Farhadian, S. F., Suárez-Fariñas, M., Cho, C. E., Pellegrino, M., & Voshall, L. B. (2012). Post-fasting olfactory, transcriptional, and feeding responses in *Drosophila*. *Physiology & behavior*, 105(2), 544-553.

Farouk, L., Laroubi, A., Aboufatima, R., Benharref, A., & Chait, A. (2008). Evaluation of the analgesic effect of alkaloid extract of *Peganum harmala* L.: possible mechanisms involved. *Journal of ethnopharmacology*, 115(3), 449-454.

Faskhutdinov, M. F., Telezhenetskaya, M. V., Levkovich, M. G., & Abdullaev, N. D. (2000). Alkaloids of *Peganum harmala*. *Chemistry of Natural Compounds*, 36(6), 602-605.

Ferris, G. F. (1950). External morphology of the adult. *Biology of Drosophila*, 368-419.

Finney, D. J. (1971). Probit Analysis (Vol. 3rd edition). London: Cambridge University Press.

Flaven-Pouchon, J., Garcia, T., Abed-Vieillard, D., Farine, J. P., Ferveur, J. F., & Everaerts, C. (2014). Transient and permanent experience with fatty acids changes *Drosophila melanogaster* preference and fitness. *PLoS One*, 9(3), e92352.

Fogleman, J. C., Danielson, P. B., & Macintyre, R. J. (1998). The molecular basis of adaptation in *Drosophila*: the role of cytochrome P450s. In *Evolutionary Biology* (pp. 15-77). Boston, MA: Springer US.

Fougeron, A. S., Farine, J. P., Flaven-Pouchon, J., Everaerts, C., & Ferveur, J. F. (2011). Fatty-acid preference changes during development in *Drosophila melanogaster*. *PloS one*, 6(10), e26899.

- Frank D. Rinkevich, Jeffrey G. Scott. (2012)**, activity affects the sensitivity of *Drosophila melanogaster* to spinosad and imidacloprid, *Pesticide Biochemistry and Physiology* Biochimie et physiologie des pesticides. 104(2), 163-169.
- Frison, G., Favretto, D., Zancanaro, F., Fazzin, G., & Ferrara, S. D. (2008)**. A case of β -carboline alkaloid intoxication following ingestion of *Peganum harmala* seed extract. *Forensic science international*, 179, e37-e43.
- Gad, H. A., Mohamed, H. A., & Oraby, H. K. (2023)**. Effectiveness of Spinosad as a larvicidal and pupacidal against *Culex* species in Beni Suef Governorate, Egypt. *Agriculture and Forestry*, 69(2), 227–235.
- Ganjisaffar, F., Gress, B. E., Demkovich, M. R., Nicola, N. L., Chiu, J. C., & Zalom, F. G. (2022)**. Spatio-temporal variation of spinosad susceptibility in *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae), a three-year study in California's Monterey Bay Region. *Journal of Economic Entomology*, 115(4), 972-980.
- Gefen, E., & Gibbs, A. G. (2009)**. Interactions between environmental stress and male mating success may enhance evolutionary divergence of stress-resistant *Drosophila* populations. *Evolution*, 63(6), 1653-1659.
- Ghabeish, I. H. (2015)**. Insecticidal Activity and Synergistic Effect of *Gundelia tournefortii* L.(Asteraceae: Compositae) Extracts and Some Pure Constituents on *Drosophila melanogaster* Meigen (Drosophilidae: Diptera). *Jordan Journal of Agricultural Sciences*, 11(2).
- Ghillace, A., Chouitah, O., Kiari, F. Z., Fergoug, Z., & Daikh, Z. (2025)**. Phytochemical composition and antimicrobial activity of essential oil from the leaves of *Peganum harmala* L. in southern Algeria. *Acta Biologica Slovenica*, 68(1), 89-103.
- Gökkaya, İ., Renda, G., Subaş, T., & Özgen, U. (2023)**. Phytochemical, pharmacological, and toxicological studies on *Peganum harmala* L.: an overview of the last decade. *Clinical and Experimental Health Sciences*, 13(3), 664-678.
- Gorter, J. A. & Billeter, J. C. (2017)**. A method to test the effect of environmental cues on mating behavior in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, (125), 55690.
- Greenspan, R. J., & Ferveur, J. F. (2000)**. Courtship in drosophila. *Annual review of genetics*, 34(1), 205-232.
- Gress, B. E., & Zalom, F. G. (2019)**. Identification and risk assessment of spinosad resistance in a California population of *Drosophila suzukii*. *Pest Management Science*, 75(5), 1270-1276.

- Guedes, R. N. C., Walse, S. S., & Throne, J. E. (2017).** Sublethal exposure, insecticide resistance, and community stress. *Current opinion in insect science*, 21, 47-53.
- Guillem-Amat, A., Ureña, E., López-Errasquín, E., Navarro-Llopis, V., Batterham, P., Sánchez, L., ... & Ortego, F. (2020).** Functional characterization and fitness cost of spinosad-resistant alleles in *Ceratitis capitata*. *Journal of Pest Science*, 93(3), 1043-1058.
- Gul, H., Gadratagi, B. G., Güncan, A., Tyagi, S., Ullah, F., Desneux, N., & Liu, X. (2023).** Coûts de la résistance aux insecticides chez les insecticides en termes de fitness. *Frontières en physiologie*, 14, 1238111
- Habbachi, W., Benhissen, S., Ouakid, M. L., & Farine, J. P. (2013).** Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala* (L.)(Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera-Drosophilidae). *Algerian Journal of Arid Environment "AJAE"*, 3(1), 82-88.
- Habbachi, W., Benhissen, S., Ouakid, M. L., Farine, J. P., & Bairi, A. (2014).** Toxicity of aqueous extracts from Mediterranean plants on *Culex pipiens* (Mosquitoes), Case of *Daphne gnidium* (Thymelaeaceae) and *Peganum harmala* (Zygophyllaceae). *Wulfenia Journal*, 21(12), 244-252.
- Hamdy, H. A., Gad, H. A., Oraby, H. K., (2023).** Effectiveness of Spinosad as a larvicidal and pupacidal against *Culex species* in Beni Suef Governorate, Egypt. *Agriculture et foresterie* 4, 100030.
- Hammiche, V., & Merad, R. (1997).** *Peganum harmala* L. PIM 402F, French)—ipcs inchem, disponible (URL) en: <http://www.inchem.org/documents/pims/plant/pim402fr.htm>.
- Hartenstein, V., & Campos-Ortega, J. A. (1985).** Fate-mapping in wild-type *Drosophila melanogaster*: I. The spatio-temporal pattern of embryonic cell divisions. *Wilhelm Roux's archives of developmental biology*, 194(4), 181-195.
- Hartmann, T. (1991).** Alkaloids In herbivores; their interaction with secondary plant metabolites. *The chemical participants*, 1, 2.
- Hassan, Z. N., Mzhr, N. N., & Shafeeq, M. A. A. (2024).** Efficacy of insecticides spinosad and imidacloprid as baiting stations to control termite *Microcerotermes diversus* (Silvestri)(Isoptera: Termitidae). *Journal of Applied and Natural Science*, 16(4), 1402.
- Headrick, D. H., & Gordh, G. (2009).** Anatomie : tête, thorax, abdomen et organes génitaux. Dans *l'Encyclopédie des insectes* (pp. 11-21). Academic Press.
- Hegde, S. N. & Krishnamurthy, N. B. (1979).** Studies on mating behaviour in the *Drosophila bipectinata* complex. *Australian Journal of Zoology*, 27(3), 421-431.

- Heimbeck, G., Bugnon, V., Gendre, N., Häberlin, C., & Stocker, R. F. (1999).** Smell and taste perception in *Drosophila melanogaster* Larva: toxin expression studies in chemosensory neurons. *Journal of Neuroscience*, 19(15), 6599-6609.
- Hermawan, W., Nakajima, S., Tsukuda, R., Fujisaki, K., Nakasuji, F. (1997).** Isolement d'un composé antiappétant d'*Andrographis paniculata* (Acanthaceae) contre la teigne des crucifères, *Plutella xylostella* (Lepidoptera : Yponomeutidae). *Appl. Entomol. Zool*, 32, 551–559.
- Hernandez, J. S., Le, N., Oramas, R., Azanchi, R., Mei, N. J., Long, A. T., ... & Kaun, K. R. (2025).** Shaping of olfactory responses by taste in a new assay for operant learning in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Experimental Biology*, 228(24), jeb251074.
- Herraiz, T., González, D., Ancín-Azpilicueta, C., Arán, V. J., & Guillén, H. (2010).** β -Carboline alkaloids in *Peganum harmala* and inhibition of human monoamine oxidase (MAO). *Food and chemical toxicology*, 48(3), 839-845.
- Hou, W., Liu, Q., Tian, L., Wu, Q., Zhang, Y., Xie, W., Wang, S., Miguel, S.K., Funderburk, J., & Scott, J. G. (2014).** The $\alpha 6$ nicotinic acetylcholine receptor subunit of *Frankliniella occidentalis* is not involved in resistance to spinosad. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 111, 60-67.
- Hua, D., Li, X., Yuan, J., Tao, M., Zhang, K., Zheng, X., ... & Wu, Q. (2023).** Fitness cost of spinosad resistance related to vitellogenin in *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Pest Management Science*, 79(2), 771-780.
- Huang, J., & Lee, Y. (2023).** The power of *Drosophila* genetics in studying insect toxicology and chemical ecology. *Crop Health*, 1(1), 12.
- Hückesfeld, S., Peters, M., & Pankratz, M. J. (2016).** Central relay of bitter taste to the protocerebrum by peptidergic interneurons in the *Drosophila* brain. *Nature communications*, 7(1), 12796.
- IBM SPSS Statistics. 2020.** Version 27.0.1.0 for Windows. Chicago, Illinois.
- Jaenike, J. (1983).** Induction of host preference in *Drosophila melanogaster*. *Oecologia*, 58(3), 320-325.
- Jimu, F., Mapuranga, R., Mubvekeri, W., & Kutywayo, D. (2023).** Efficacy of Spinosad 48SC on the Management of Cotton Bollworms *Diparopsis castanea* (Hubner) and *Herlicoverpa amigera* (Hampson) in Zimbabwe. *Asian Journal of Research in Crop Science*, 8(4), 56-63.
- Joly, D. (2006).** La drosophile: Un insecte au service de la science. *Insectes*, 128(1), 25-29.

- Kaplanoglu, E., Scott, I. M., Vickruck, J., & Donly, C. (2024).** Role of CYP9E2 and a long non-coding RNA gene in resistance to a spinosad insecticide in the *Colorado potato beetle*, *Leptinotarsa decemlineata*. *Plos one*, 19(5), e0304037.
- Kaplanoglu, E., Scott, I. M., Vickruck, J., & Donly, C. (2024).** Role of CYP9E2 and a long non-coding RNA gene in resistance to a spinosad insecticide in the Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*. *Plos one*, 19(5), e0304037.
- Kartal, M. U. R. A. T., Altun, M. L., & Kurucu, S. (2003).** HPLC method for the analysis of harmol, harmalol, harmine and harmaline in the seeds of *Peganum harmala* L. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 31(2), 263-269.
- Khalid, I., Kamran, M., Abubakar, M., Khizar, M., & Shad, S. A. (2023).** Effect of autosomally inherited, incompletely dominant, and unstable spinosad resistance on physiology of *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae): Realized heritability and cross-resistance. *Journal of Stored Products Research*, 100, 102069.
- Khan, H. A. A., Akram, W., & Shad, S. A. (2014).** Genetics, cross-resistance and mechanism of resistance to spinosad in a field strain of *Musca domestica* L.(Diptera: Muscidae). *Acta Tropica*, 130, 148-154.
- Khanbabayi, Z., Saber, M., Vojoudi, S., & Gharekhani, G. (2019).** Investigating the Effects of a Mixture of Diatomaceous Earth and Spinosad Insecticide to Control Adult Flour Weevils, *Tribolium castaneum* Herbst.(Col: Tenebrionidae). *World Journal of Environmental Biosciences*, 8(2-2019), 41-43.
- Khazaei, M., Meskaraf-Asadabadi, M., Ghanbari, E., & Khazaei, A. H. (2025).** Antidiabetic effects of *Peganum harmala* seed extract on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 15(3), 1193.
- Khudhair, I., Abbood, N. M., & El-Amier, Y. A. M. (2025).** Insecticide resistance in agricultural pests: mechanisms, case studies, and future directions. *University of Thi-Qar Journal of Science*, 12(1), 245-250.
- Kihel, H., Merabet, I., Bounaza, M., Adjami, Y., Gouri, M., Bouzdoğan, H., Ouakid, M. I., (2022).** Toxicity and sexual behavior in fruit fly *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae) treated with the fruit extract of *Citrullus colocynthis*. *Current Topics in Toxicology* 18(14), 113–121.
- Kirst, H. A. (2010).** The spinosyn family of insecticides: realizing the potential of natural products research. *The journal of antibiotics*, 63(3), 101-111.
- Kissoum N, Bensafi-Gheraibia H, Hamida Z C, Soltani N. (2020).** Evaluation of the pesticide Oberon on a model organism *Drosophila melanogaster* via topical toxicity test on

biochemical and reproductive parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 228,108666.

Kohlmeier, P., Zhang, Y., Gorter, J. A., Su, C. Y., & Billeter, J. C. (2021). Mating increases *Drosophila melanogaster* females' choosiness by reducing olfactory sensitivity to a male pheromone. *Nature ecology & evolution*, 5(8), 1165-1173.

Komori, Y., Takayama, K., Okamoto, N., Koizumi, W., Kamiya, M., Koizumi, W., Ihara, M., Misawa, D., Kamiya, K., Misawa, D., Kamiya, K., Yoshinari, Y., Seike, K., Kondo, S., Tanimoto, H., Niwa, R., Sattelle, D. B., Matsuda, K., & (2023). Functional impact of subunit composition and compensation on *Drosophila melanogaster* nicotinic receptors—targets of neonicotinoids, *PLoS Genetics*, 19(2), e1010522

Kushalan, S., D'Souza, L. C., Aloysius, K., Sharma, A., & Hegde, S. (2022). Toxicity assessment of *Curculigo orchoides* leaf extract using *Drosophila melanogaster*: a preliminary study. *International journal of environmental research and public health*, 19(22), 15218.

Lachaise, D., Cariou, M. L., David, J. R., Lemeunier, F., Tsacas, L., & Ashburner, M. (1988). Historical biogeography of the *Drosophila melanogaster* species subgroup. In *Evolutionary biology* (pp. 159-225). Boston, MA: Springer US.

Laissue, P. P., & Vosshall, L. B. (2008). The olfactory sensory map in *Drosophila*. *Brain development in Drosophila melanogaster*, 102-114.

Lalouette, L., Pottier, M. A., Wycke, M. A., Boitard, C., Bozzolan, F., Maria, A., Demondion, E., Chertemps, T., Lucas, P., Maibeche, M., & Siaussat, D. (2016). Unexpected effects of sublethal doses of insecticide on the peripheral olfactory response and sexual behavior in a pest insect. *Environmental Science and Pollution Research*, 23(4), 3073-3085.

Lamchouri, F., Settaf, A., Cherrah, Y., Zemzami, M., Lyouussi, B., Zaid, A., Atif N., Hassar, M., 1999. Principes antitumoraux des graines de *Peganum harmala*. *Thérapie*, 54(6), 753-758. .

Lasbleiz, C., Ferveur, J. F., & Everaerts, C. (2006). Courtship behaviour of *Drosophila melanogaster* revisited. *Animal Behaviour*, 72(5), 1001-1012.

Lebouz, I., Mehaoua, M. S., Merabti, I., Bessahraoui, K., & Ouakid, M. L. (2016). Ovicidal, larvicidal and adulticidal activities of essential oils from *Peganum harmala* L.(Zygophyllaceae) against date moth *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae). *Int. J. Biosci*, 8, 146-152.

- LeDue, E. E., Chen, Y. C., Jung, A. Y., Dahanukar, A., & Gordon, M. D. (2015).** Pharyngeal sense organs drive robust sugar consumption in *Drosophila*. *Nature communications*, 6(1), 6667.
- Liang, J., Xiao, F., Ojo, J., Chao, W., Ahmad, B., Alam, A., Abbas, S., Abdelhafez, M., Rahman, N., Khan, K., Ghramh, H., Ali, J., & Chen, R. (2025).** Insect resistance to insecticides: causes, mechanisms, and exploring potential solutions. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 118(2), e70045.
- Liimatainen, J. O., & Hoikkala, A. (1998).** Interactions of the males and females of three sympatric *Drosophila virilis*-group species, *D. montana*, *D. littoralis*, and *D. lummei*, (Diptera: Drosophilidae) in intra-and interspecific courtships in the wild and in the laboratory. *Journal of insect behavior*, 11(3), 399-417.
- Liman, E. R., Zhang, Y. V., & Montell, C. (2014).** Peripheral coding of taste. *Neuron*, 81(5), 984-1000.
- Liu, C., Gao, J., & Liang, Y. (2022).** Phytochimie, pharmacologie et toxicologie de *Peganum harmala*. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 17(4), 124-140.
- Liu, N. (2015).** Insecticide resistance in mosquitoes: impact, mechanisms, and research directions. *Annual review of entomology*, 60, 537-559.
- Liu, T., Dartevelle, L., Yuan, C., Wei, H., Wang, Y., Ferveur, J. F., & Guo, A. (2008).** Increased dopamine level enhances male–male courtship in *Drosophila*. *Journal of Neuroscience*, 28(21), 5539-5546.
- Mack, P. D., Kapelnikov, A., Heifetz, Y., & Bender, M. (2006).** Mating-responsive genes in reproductive tissues of female *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 103(27), 10358-10363.
- Mahmoudian, M., Salehian, P. & Jalilpour, H., (2002).** Toxicity of *Peganum harmala*: review and a case report. *Journal iranien de Pharmacologie et de Thérapeutique*, 1(1), 1-4.
- Maire, R. (1933).** *Etudes sur la flore et la végétation du Sahara central* (Vol. 1). Imprimerie" La Typo-litho".
- Mandi, M., Khatun, S., Rajak, P., Mazumdar, A., & Roy, S. (2020).** Potential risk of organophosphate exposure in male reproductive system of a non-target insect model *Drosophila melanogaster*. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 74, 103308.
- Mansourian, S., Enjin, A., Jirle, E. V., Ramesh, V., Rehmann, G., Becher, P. G., Pool, J.P., & Stensmyr, M. C. (2018).** Wild African *Drosophila melanogaster* are seasonal specialists on marula fruit. *Current Biology*, 28(24), 3960-3968.

- Marella, S., Fischler, W., Kong, P., Asgarian, S., Rueckert, E., & Scott, K. (2006).** Imaging taste responses in the fly brain reveals a functional map of taste category and behavior. *Neuron*, 49(2), 285-295.
- Markow, T. A., & O'Grady, P. M.(2006).** Morphological characters. In *Drosophila* (pp. 65–84).
- Markow, T. A., Beall, S., & Matzkin, L. M. (2009).** Egg size, embryonic development time and ovoviviparity in *Drosophila* species. *Journal of evolutionary biology*, 22(2), 430-434.
- Markussen, M. D., & Kristensen, M. (2012).** Spinosad resistance in female *Musca domestica* L. from a field-derived population. *Pest Management Science*, 68(1), 75-82.
- Martelli, F., Ravenscroft, T. A., Hutchison, W., & Batterham, P. (2023).** Tissue-specific transcriptome analyses in *Drosophila* provide novel insights into the mode of action of the insecticide spinosad and the function of its target, nAChR α 6. *Pest Management Science*, 79(10), 3913-3925.
- Mateo, L., Ullastres, A., & González, J. (2014).** A transposable element insertion confers xenobiotic resistance in *Drosophila*. *PLoS genetics*, 10(8), e1004560.
- Matoug, H., Merabti, B., Tadjer, W., Elbah, D, & Ouakid, M. L. (2017).** Biological control test of ethanol extracts of *Peganum Harmala* (L.) on the mortality and development of *Culex pipiens* (Diptera). *World Journal of Environmental Biosciences*, 6(4-2017), 15-19.
- McKinney, R. M., Vernier, C. & Ben-Shahar, Y. (2015).**The neural basis for insect pheromonal communication. *Current opinion in Insect Science*, 12, 86-92.
- Meigen, J. W. (1869).** *Systematische Beschreibung der bekannten europäischen zweiflügeligen Insecten* (Vol. 8). HW Schmidt.
- Melander, A. (1914).** Can insects become resistant to sprays? ¹. *Journal of Economic Entomology*, 7, 167.
- Men, T. T., Son, N. H., & Phien, H. H. (2022).** Evaluation of Toxicity of the Ethanol Extract of *Euphorbia antiquorum* L. in *Drosophila melanogaster*. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 6(7).
- Mendonça, T. P., de Aquino, J. D., da Silva, W. J., Mendes, D. R., Campos, C. F., Vieira, J. S., ... & de Moraes, C. R. (2019).** Genotoxic and mutagenic assessment of spinosad using bioassays with *Tradescantia pallida* and *Drosophila melanogaster*. *Chemosphere*, 222, 503-510.
- Merkey, A. B., Wong, C. K., Hoshizaki, D. K., & Gibbs, A. G. (2011).** Energetics of metamorphosis in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Insect Physiology*, 57(10), 1437-1445.

- Mertz, F. P. & Yao, R. C. (1990)**, *Saccharopolyspora spinosa* sp. nov. isolated from soil collected in a sugar mill rum still. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 40(1), 34-39.
- Mertz, R. W., DeLorenzo, S., Sun, H., Loeb, G., & Scott, J. G. (2023)**. Selection for, and characterization of, malathion and zeta-cypermethrin resistance in vineyard-collected *Drosophila melanogaster*. *Pest Management Science*, 79(4), 1623-1627.
- Mertz, R. W., Hesler, S., Pfannenstiel, L. J., Norris, R. H., Loeb, G., & Scott, J. G. (2022)**. Insecticide resistance in *Drosophila melanogaster* in vineyards and evaluation of alternative insecticides. *Pest management science*, 78(3), 1272-1278.
- Mezzerà, C., Brotas, M., Gaspar, M., Pavlou, H. J., Goodwin, S. F., & Vasconcelos, M. L. (2020)**. Ovipositor extrusion promotes the transition from courtship to copulation and signals female acceptance in *Drosophila melanogaster*. *Current Biology*, 30(19), 3736-3748.
- Michaelakis, A., Papachristos, D. P., Rumbos, C. I., & Athanassiou, C. G. (2018)**. Effect of the combined application of microencapsulated synthetic oviposition pheromone (MSP) with different larvicidal agents on the oviposition of *Culex pipiens* biotype molestus. *Pest management science*, 74(2), 392-397.
- Miresmailli, S., & Isman, M. B. (2014)**. Botanical insecticides inspired by plant–herbivore chemical interactions. *Trends in plant science*, 19(1), 29-35.
- Mital, A., Sarangi, M., Dey, S., & Joshi, A. (2021)**. Evolution of lower levels of inter-locus sexual conflict in *D. melanogaster* populations under strong selection for rapid development. *BioRxiv*, 2021-02.
- Mohammadi, R. S., Bidaki, R., Mirdrikvand, F., Yazdi, S. N. M., & Anari, P. Y. (2016)**. *Peganum harmala* (Aspand) intoxication; a case report. *Emergency*, 4(2), 106.
- Moloudizargari, M., Asghari, M. H., Ghobadi, E., Fallah, M., Rasouli, S., & Abdollahi, M. (2017)**. Autophagie, ses mécanismes et régulation : implications dans les maladies neurodégénératives. *Revue de recherches sur le vieillissement*, 40, 64-74.
- Moloudizargari, M., Mikaili, P., Aghajanshakeri, S., Asghari, M. H., & Shayegh, J. (2013)**. Effets pharmacologiques et thérapeutiques de *Peganum harmala* et de ses principaux alcaloïdes. *Pharmacognosy reviews*, 7(14), 199.
- Morgan, T. H. (1910)**. Chromosomes and heredity. *The American Naturalist*, 44(524), 449-496.
- Moyes, C. L., Vontas, J., Martins, A. J., Ng, L. C., Koou, S. Y., Dusfour, I., Raghavendra. K., Pinto, J., Corbel, V., David, J. D., & Weetman, D. (2017)**.

Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS neglected tropical diseases*, 11(7), e0005625.

Muddather, H. F., Nasibova, T., Szebeni, G. J., Gémes, N., Bózsity, N., Minorics, R., Garayev, E., Orhan, E. I., & Zupkó, I. (2025). Potential anticancer effects of *Peganum harmala* in human papillomavirus-related cervical and head and neck cancer cells. *Frontiers in Pharmacology*, 16, 1668827.

Nauen, R., Slater, R., Sparks, T. C., Elbert, A., & Mccaffery, A. (2019). IRAC: insecticide resistance and mode-of-action classification of insecticides. *Modern crop protection compounds*, 3, 995-1012.

Nawrot-Esposito, M. P., Babin, A., Pasco, M., Poirié, M., Gatti, J. L., Gallet, A., & (2020). *Bacillus thuringiensis* bioinsecticides induce developmental defects in non-target *Drosophila melanogaster* larvae. *Insects*, 11(10), 697.

Nayak, M. K., & Daglish, G. J. (2007). Combined treatments of spinosad and chlorpyrifos-methyl for management of resistant psocid pests (Psocoptera: Liposcelididae) of stored grain. *Pest Management Science: formerly Pesticide Science*, 63(1), 104-109.

Ngegba, P. M., Cui, G., Khalid, M. Z., & Zhong, G. (2022). Use of botanical pesticides in agriculture as an alternative to synthetic pesticides. *Agriculture*, 12(5), 600.

Nguyen, J., Ghazali, R., Batterham, P., & Perry, T. (2021). Inhibiting the proteasome reduces molecular and biological impacts of the natural product insecticide, spinosad. *Pest management science*, 77(8), 3777-3786.

Nogueira Alves, A., Martelli, F., Yang, Y. T., & Wedell, N. (2026). Insecticide Resistance Alters Oviposition Preference in *Drosophila melanogaster*. *Ecology and Evolution*, 16(2), e73067.

Nylin, S., & Gotthard, K. (1998). Plasticity in life-history traits. *Annual review of entomology*, 43(1), 63-83.

Okuma, D. M., Bernardi, D., Horikoshi, R. J., Bernardi, O., Silva, A. P., & Omoto, C. (2018). Inheritance and fitness costs of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to spinosad in Brazil. *Pest Management Science*, 74(6), 1441-1448.

Ozanda, P. (1991). Flore et végétation du Sahara.(3ème édition, augmentée). CNRS, Paris, 662.

Pan ZhiPing, P. Z., Zeng Ling, Z. L., & Lu YongYue, L. Y. (2005). Monitoring of resistance of oriental fruit fly adults to insecticides in South China.

Panagopoulos, D. J. (2012). Gametogenesis, embryonic and postembryonic development of *Drosophila melanogaster*, as a model system for the assessment of radiation and

environmental genotoxicity. *Spindler-Barth, M. Drosophila melanogaster, lifecycle, genetics*. New York, USA: Nova Science Publishers, Inc, 1-38.

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 Journal of Medicine*, 2(2): 33-38.

Pavlova, A. K., Dahlmann, M., Hauck, M., & Reineke, A. (2017). Laboratory bioassays with three different substrates to test the efficacy of insecticides against various stages of *Drosophila suzukii* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Insect Science*, 17(1), 8.

Perez-Landa, I. D., Lasa, R., Gonzalez-Chi, P. I., Bonilla-Landa, I., Olivares-Romero, J. L., & Barrera-Mendez, F. (2022). Increased insecticidal activity by photoprotection of microencapsulated spinosad in a dry phagostimulant formulation against *Drosophila suzukii*. *Crop Protection*, 155, 105911.

Perry, T., Batterham, P., & Daborn, P. J. (2011). The biology of insecticidal activity and resistance. *Insect biochemistry and molecular biology*, 41(7), 411-422.

Perry, T., McKenzie, J. A., & Batterham, P. (2007). A Dα6 knockout strain of *Drosophila melanogaster* confers a high level of resistance to spinosad. *Insect biochemistry and molecular biology*, 37(2), 184-188.

Pineda, S., Schneider, M. I., Smagghe, G., Martínez, A. M., Del Estal, P., Viñuela, E., Valle, J., & Budia, F. (2007). Lethal and sublethal effects of methoxyfenozide and spinosad on *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of economic entomology*, 100(3), 773-780.

Piri, F., Sahragard, A., & Ghadamyari, M. (2014). Sublethal Effects of Spinosad on Some Biochemical and Biological Parameters of *Glyphodes pyloalis* Walker (Lepidoptera: Pyralidae). *Plant Protection Science*, 50(3), 135–144.

Pool, A. H., & Scott, K. (2014). Feeding regulation in *Drosophila*. *Current opinion in neurobiology*, 29, 57-63.

Pulpati, H., Biradar, Y. S., & Rajani, M. (2008). High-performance thin-layer chromatography densitometric method for the quantification of harmine, harmaline, vasicine, and vasicinone in *Peganum harmala*. *Journal of AOAC international*, 91(5), 1179-1185.

Qazi, M. C. B., Heifetz, Y., & Wolfner, M. F. (2003). The developments between gametogenesis and fertilization: ovulation and female sperm storage in *Drosophila melanogaster*. *Developmental biology*, 256(2), 195-211.

Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales*. Eds. du Centre Nat. de la Recherche Scientifique. Paris, 2 tomes : 1170 p.

- Raad, H., Ferveur, J. F., Ledger, N., Capovilla, M., & Robichon, A. (2016).** Rôle gustatif fonctionnel des chimiorécepteurs dans les ailes de *Drosophila*. *Rapports de cellule*, 15(7), 1442-1454.
- Rahman, T., Spafford, H., & Broughton, S. (2011).** Compatibility of spinosad with predaceous mites (Acari) used to control *Frankliniella occidentalis* (Pergande)(Thysanoptera: Thripidae). *Pest management science*, 67(8), 993-1003.
- Rasul, A. (2022).** Appraisal of anti-arthritic and anti-inflammatory potential of folkloric medicinal plant *Peganum harmala*. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-Immune, Endocrine & Metabolic Disorders)*, 22(1), 49-63.
- Reaume, C. J., & Sokolowski, M. B. (2006).** The nature of *Drosophila melanogaster*. *Current biology*, 16(16), R623-R628.
- Reckhaus, H. D. (2019).** Insects Today and in the Future. In *Why Every Fly Counts: Value and Endangerment of Insects* (pp. 89-135). Cham: Springer International Publishing.
- Redfield, H. (1966).** Delayed mating and the relationship of recombination to maternal age in *Drosophila melanogaster*. *Genetics*, 53(3), 593.
- Rehman, J., Wang, X. G., Johnson, M. W., Daane, K. M., Jilani, G., Khan, M. A., & Zalom, F. G. (2009).** Effects of *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) seed extract on the olive fruit fly (Diptera: Tephritidae) and its larval parasitoid *Psytalia concolor* (Hymenoptera: Braconidae). *Journal of economic entomology*, 102(6), 2233-2240.
- Renou, M., Henninot-Rodes, E., Delorme, R., Augé, D. & Touton, P. (1997).** Oviposition of resistant and susceptible strains of *Drosophila melanogaster* in the presence of deltamethrin. *Entomologia Experimentalis and Applicata*, 84(2), 173-181.
- Saadane, F. Z., Boublata, N. E. I., Habbachi, S., Bouzar, A., Habbachi, W., Slimani, A., & Tahraoui, A. (2021b).** Valorisation of the Effects of Bioactive Compounds of the Ethanolic Extract of *Ramalina Farinacea* (Ramalinaceae) on the Development, Eating and Pupation Behavior of *Drosophila Melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Bioresource Management*, 8(4), 9.
- Saadane, F. Z., Habbachi, W., Habbachi, S., Boublata, N. E. I., Slimani, A. & Tahraoui, A. (2021a).** Toxic effects of ethanolic extracts of *Drimia maritima*(Asparagaceae) on mortality, development, sexual behavior, and oviposition behavior of *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Animal Behaviour and Biometeorology*, 9(1), 2102.

- Saeedeh, F., Oryan, S., Ahmadi, R., & Eidi, A. (2022b).** Evaluation of chemical components, anti-oxidant properties, and lethal toxicity of alkaloids extracted from espend (*Peganum harmala*). *Journal of Applied Biological Sciences*, 16(2), 257-265.
- Salgado, V. L. (1998).** Studies on the mode of action of spinosad: insect symptoms and physiological correlates. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 60(2), 91-102.
- Salgado, V. L., Sparks, T. C. (2005).** The spinosyns: Chemistry, biochemistry, mode of action and resistance in *Comprehensive Insect Molecular Science*. Elsevier : Boston,, pp. 137-173. Vol. 6.
- Sánchez-Alcañiz, J. A., Zappia, G., Marion-Poll, F., & Benton, R. (2017).** A mechanosensory receptor required for food texture detection in *Drosophila*. *Nature communications*, 8(1), 14192.
- Santos, V. S. V., & Pereira, B. B. (2020).** Properties, toxicity and current applications of the biolarvicide spinosad. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B*, 23(1), 13-26.
- Santos, V., & Pereira, B. (2019).** Propriétés, toxicité et applications actuelles du biolarvicide spinosad. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Partie B*, 23, 13 - 26.
- Sarfraz, M., Dosdall, L. M., & Keddle, B. A. (2005).** Spinosad: a promising tool for integrated pest management. *Outlooks on Pest Management*, 16(2), 78-84.
- Sayed, T., Sayed, R., Rizk, S., & Abdalla, R. (2020).** Toxicological and histological studies on the effect of spinosad or vinegar on *Culex pipiens* larvae (Diptera: Culicidae). *African Entomology*, 175 – 181.
- Sayyed, A. H., Saeed, S., Noor-Ul-Ane, M., & Crickmore, N. (2008).** Genetic, biochemical, and physiological characterization of spinosad resistance in *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). *Journal of Economic Entomology*, 101(5), 1658-1666.
- SCAN Niger. (2017).** Classification des pesticides et des acaricides selon le mode d'action.
- Schnaars-Uvino, K., & Baker, M. B. (2021).** High-level field-evolved resistance to spinosad in Colorado potato beetle, *Leptinotarsa decemlineata*, in organically managed fields. *Pest management science*, 77(10), 4393-4399.
- Scotta, J. G. (2022).** Selection for, and characterization of, malathion and zeta-cypermethrin resistance in. *Pest Management Science*, 79(4), 1623.
- Semaniuk, U. V. (2015).** Olfactory system in *Drosophila*. *Journal of Vasyl Stefanyk Precarpathian National University. Series of social and human sciences*, (2, no. 1), 86-93.
- Shaaban, A. D., Minati, M. H., Shaban, A. D., & Hussein, H. A. (2021).** Effect of interaction between pheromone traps and plant seeds of *harmal*, *Peganum harmala*, on lesser

date moth, *Batrachedra amydraula* (Merck), in Basra Province. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 735, No. 1, p. 012025). IOP Publishing.

Shanbhag, S. R., Müller, B., & Steinbrecht, R. A. (1999). Atlas of olfactory organs of *Drosophila melanogaster*: 1. Types, external organization, innervation and distribution of olfactory sensilla. *International Journal of Insect Morphology and Embryology*, 28(4), 377-397.

Sharma, S. (2023). Cultivating sustainable solutions: integrated pest management (ipm) for safer and greener agronomy. *Corporate Sustainable Management Journal*, 1(2), 103-108.

Shaw, B., Hemer, S., Cannon, M. F., Rogai, F. & Fountain, M. T. (2019). Insecticide control of *Drosophila suzukii* in commercial sweet cherry crops under cladding. *Insects*, 10(7), 196.

Sial, A. A., Roubos, C. R., Gautam, B. K., Fanning, P. D., Van Timmeren, S., Spies, J., Petran, A., Rogers, A. M., Liburd, E. O., Little, A. B., Curry, S., & Isaacs, R. (2019). Evaluation of organic insecticides for management of spotted-wing drosophila (*Drosophila suzukii*) in berry crops. *Journal of applied entomology*, 143(6), 593-608.

Siddiqui, J. A., Fan, R., Naz, H., Bamisile, B. S., Hafeez, M., Ghani, M. I., Wei, Y., Xu, Y., & Chen, X. (2023). Insights into insecticide-resistance mechanisms in invasive species: Challenges and control strategies. *Frontiers in Physiology*, 13, 1112278.

Silva-Soares, N. F., Nogueira-Alves, A., Beldade, P., & Mirth, C. K. (2017). Adaptation to new nutritional environments: larval performance, foraging decisions, and adult oviposition choices in *Drosophila suzukii*. *BMC ecology*, 17(1), 21.

Sisodiya, N., Tilak, R., Sharma, A., & Sarin, A. (2021). Laboratory evaluation of spinosad as a potential larvicide against immature forms of *Aedes aegypti*. *Journal of Marine Medical Society*, 23(2), 135-138.

Smith, J., Martins, B. A. B., Beffa, R., Field, L. M., Goertz, A., Le Goupil, G., Mehl, A., Langewald, J., Martineli, S., Rossi, C. V. S., & A Wiles, J. (2026). Challenges facing the management of pesticide resistance in weeds, diseases and insect pests in European agriculture and the future of effective IPM implementation. *Pest Management Science*, 82(4), 2838-2843.

Sohrabi, F., Jamali, F., & Michaud, J. P. (2021). Sublethal concentrations of spinosad synergize the pathogenicity of fungi to larvae of *Ephestia kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae). *European Journal of Entomology*, 118, 142-147.

Sokolowski, M. B. (2001). *Drosophila*: genetics meets behaviour. *Nature Reviews Genetics*, 2(11), 879-890.

- Somers, J., Nguyen, J., Lumb, C., Batterham, P., & Perry, T. (2015).** In vivo functional analysis of the *Drosophila melanogaster* nicotinic acetylcholine receptor Dα6 using the insecticide spinosad. *Insect biochemistry and molecular biology*, 64, 116-127.
- Sonnenblick, B. P. (1940).** Cytology and development of the embryos of X-rayed adult *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 26(6), 373-381.
- Sparks, T. C., & Nauen, R. (2015).** IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide biochemistry and physiology*, 121, 122-128.
- Sparks, T. C., Crouse, G. D., & Durst, G. (2001).** Natural products as insecticides: the biology, biochemistry and quantitative structure–activity relationships of spinosyns and spinosoids. *Pest management science*, 57(10), 896-905.
- Sparks, T. C., Thompson, G. D., Kirst, H. A., Hertlein, M. B., Larson, L. L., Worden, T. V., & Thibault, S. T. (1998).** Biological activity of the spinosyns, new fermentation derived insect control agents, on *Tobacco budworm* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae. *Journal of Economic Entomology*, 91(6), 1277-1283.
- Sparks, T. C., Wessels, F. J., Perry, T., Price, M. J., Siebert, M. W., & Mann, D. G. (2025).** Spinosyn resistance and cross-resistance—A 25 year review and analysis. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 210, 106363.
- Spieth, H. T. (1952).** Mating behavior within the genus *Drosophila* (Diptera). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 99, 395-474.
- Spieth, H. T. (1974).** Courtship behavior in *Drosophila*. *Annual review of entomology*, 19(1), 385-405.
- Spieth, H. T., Ringo, J. M., Ashburner, M., Carson, H. L., & Thompson, J. N. (1983).** The genetics and biology of *Drosophila*. *Mating behavior and sexual isolation in Drosophila*, 223-284.
- Sturtevant, A. H. (1915).** Experiments on sex recognition and the problem of sexual selection in *Drosoophilia*. *Journal of Animal Behavior*, 5(5), 351.
- Subramaniam, J., Kovendan, K., Kumar, P. M., Murugan, K., & Walton, W. (2012).** Mosquito larvicidal activity of *Aloe vera* (Family: Liliaceae) leaf extract and *Bacillus sphaericus*, against *Chikungunya* vector, *Aedes aegypti*. *Saudi journal of biological sciences*, 19(4), 503-509.
- Tahrouch, S., Rapior, S., Mondolot-Cosson, L., Idrissi-Hassani, L. A., Bessière, J. M., & Andary, C. (2002).** *Peganum harm*a : source combinée d'arômes et de colorants. *Critiques dans Biology and Biotechnology Vol*, 2(2), 33-37.

- Tatarko, A. R., Leonard, A. S., & Mathew, D. (2023).** A neonicotinoid pesticide alters *Drosophila* olfactory processing. *Scientific Reports*, 13(1), 10606.
- Thompson, G. D., Dutton, R. and Sparks, T. C. 2000.** Spinosad-a case study: an example from a natural products study programme. *Pest Manag. Sci.* 56:696–702.
- Thompson, G. D., Hutchins, S. H., & Sparks, T. C. (1999).** Development of spinosad and attributes of a new class of insect control products. *E£. Radcliffe and WD. Hutchinson [eds.], Radcliffe's IPM World Textbook*, URL: <http://lilpmworldMmn.edu>, University of Minnesota, Stfaul, MJJ.
- Tolwinski, N. S. (2017).** Introduction: *Drosophila*—A model system for developmental biology. *Journal of developmental biology*, 5(3), 9.
- Tompkins, L., Gross, A. C., Hall, J. C., Gailey, D. A., & Siegel, R. W. (1982).** The role of female movement in the sexual behavior of *Drosophila melanogaster*. *Behavior genetics*, 12(3), 295-307.
- Tunca, H., & Çayci, D. (2024).** New approaches to the control of *Neodiprion sertifer* (Geoffroy, 1785) (Hymenoptera: Diprionidae). *Harran Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 28(2), 192-200.
- Vaillant, J. & Derridj, S. (1992).** Statistical analysis of insect preference in two-choice experiments. *Journal of Insect Behavior*, 5(6), 773-781.
- Vayias, B. J., Athanassiou, C. G., Milonas, D. N. &Mavrotas, C. (2010).** Persistence and efficacy of spinosad on wheat, maize and barley grains against four major stored product pests. *Crop Protection*, 29(5), 496-505.
- Villella, A., & Hall, J. C. (2008).** Neurogenetics of courtship and mating in *Drosophila*. *Advances in genetics*, 62, 67-184.
- Von Schilcher, F. (1976).** The role of auditory stimuli in the courtship of *Drosophila melanogaster*. *Animal Behaviour*, 24(1), 18-26.
- Vosshall, L. B. (2008).** Scent of a fly. *Neuron*, 59(5), 685–689.
- Waldron, C., Madduri, K., Crawford, K., Merlo, D. J., Treadway, P., Broughton, M. C., & Baltz, R. H. (2000).** A cluster of genes for the biosynthesis of spinosyns, novel macrolide insect control agents produced by *Saccharopolyspora spinosa*. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 78(3), 385-390.
- Wang, F., Wang, K., Forknall, N., Patrick, C., Yang, T., Parekh, R.,Bock, D., & Dickson, B. J. (2020).** Neural circuitry linking mating and egg laying in *Drosophila* females. *Nature*, 579(7797), 101-105.

- Wang, J., Wan, Y., Zhang, Y., Yuan, J., Zheng, X., Cao, H., ... & Wu, Q. (2024).** Uridine diphosphate glucosyltransferases are involved in spinosad resistance in western flower thrips *Frankliniella occidentalis* (Pergande). *Journal of Hazardous Materials*, 466, 133575.
- Wang, J., Wang, M., Li, G. B., Zhang, B. H., Lü, H., Luo, L., & Kong, X. P., & (2021).** Evaluation of a spinosad controlled-release formulation based on chitosan carrier: insecticidal activity against *Plutella xylostella* (L.) larvae and dissipation behavior in soil. *ACS omega*, 6(45), 30762-30768.
- Wang, N., An, J., Zhang, Z., Liu, Y., Fang, J., & Yang, Z. (2022).** The antimicrobial activity and characterization of bioactive compounds in *Peganum harmala* L. based on HPLC and HS-SPME-GC-MS. *Frontiers in Microbiology*, 13, 916371.
- Watson, G. B. (2001).** Actions of insecticidal spinosyns on γ -aminobutyric acid responses from small-diameter cockroach neurons. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 71(1) : 20-28.
- Watson, G. B., Chouinard, S. W., Cook, K. R., Geng, C., Gifford, J. M., Gustafson, G. D., Hasler, J. M., Larrinua, I. M., Letherer, T.J., Mitchell, J.C., J.C., Pak, W.L., Salgado, V. L., Sparks, C. E & Stilwell, G. E. (2010).** A spinosyn-sensitive *Drosophila melanogaster* nicotinic acetylcholine receptor identified through chemically induced target site resistance, resistance gene identification, and heterologous expression. *Insect biochemistry and molecular biology*, 40(5), 376-384.
- Williams, T., Farfán, J. L., Mercado, G., Valle, J., Abella, A., & Marina, C. F. (2019).** Efficacy of spinosad granules and lambda-cyhalothrin contrasts with reduced performance of temephos for control of *Aedes* spp. in vehicle tires in Veracruz, Mexico. *Insects*, 10(8), 242.
- Wilson, T. G. (2001).** Resistance of *Drosophila* to Toxins. *Annual Review of Entomology*, 46(1), 545-571.
- Wink, M. (1988).** Plant breeding: importance of plant secondary metabolites for protection against pathogens and herbivores. *Theoretical and applied genetics*, 75(2), 225-233.
- Wixon, J., & O'Kane, C. (2000).** *Drosophila melanogaster*. *Yeast* (Chichester, England), 17(2), 146.
- Wojciechowska, M., Stepnowski, P., & Gołębiowski, M. (2016).** The use of insecticides to control insect pests. *Invertebrate Survival Journal*, 13(1), 210-220.
- Yang, S., Bai, M., Yang, J., Yuan, Y., Zhang, Y., Qin, J., Kuang, y., Sampietro, D. A., & (2020).** Chemical composition and larvicidal activity of essential oils from *Peganum harmala*, *Nepeta cataria* and *Phellodendron amurense* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Saudi Pharmaceutical Journal*, 28(5) : 560-564.

- Yao, S., Yang, Y., Xue, Y., Zhao, W., Liu, X., Du, M., Yin, X., Guan, R., Wei, J., & An, S. (2021).** New insights on the effects of spinosad on the development of *Helicoverpa armigera*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 221, 112452.
- Yee, W. L. (2018).** Spinosad versus spinetoram effects on kill and oviposition of *Rhagoletis indifferens* (Diptera: Tephritidae) at differing fly ages and temperatures. *Journal of Insect Science*, 18(4), 15.
- Yew, J. Y. & Chung, H. (2015).** Insect pheromones: An overview of function, form, and discovery. *Progress in Lipid Research*, 59, 88–105.
- Zahoor, M. K., Zahoor, M. A., Mubarik, M. S., Rizvi, H., Majeed, H. N., Zulhussnain, M., Ranian, K., Sultana, K., Imran, M., & Qamer, S. (2020).** Insecticidal, biological and biochemical response of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to some indigenous weed plant extracts. *Saudi journal of biological sciences*, 27(1), 106-116.
- Zhang, Y., Zhang, T., Wang, X., Bian, Z., Zhang, X., Yang, G., & Lu, Y. (2024).** Volatiles from essential oils of three Lamiaceae plants repel the winged cotton aphid, disturb its feeding behavior and reduce its fecundity. *Pest Management Science*, 80(9), 4253-4263.
- Zhou W, Li M, Achal V. (2025).** Un examen complet des impacts sur l'environnement et la santé humaine de l'utilisation de pesticides chimiques. *Contaminants Émergents* 11(1), 100410.
- Zhu, F., Lavine, L., O'Neal, S., Lavine, M., Foss, C., & Walsh, D. (2016).** Insecticide resistance and management strategies in urban ecosystems. *Insects*, 7(1), 2.
- Zimmer, C. T., Garrood, W. T., Puinean, A. M., Eckel-Zimmer, M., Williamson, M. S., Davies, T. E., & Bass, C. (2016).** A CRISPR/Cas9 mediated point mutation in the alpha 6 subunit of the nicotinic acetylcholine receptor confers resistance to spinosad in *Drosophila melanogaster*. *Insect biochemistry and molecular biology*, 73, 62-69.