

EVALUATION DE DEUX NOUVEAUX REGULATEURS DE CROISSANCE SUR LE POTENTIEL REPRODUCTEUR D'UN RAVAGEUR DES DENREES STOCKEES

SOLTANI-MAZOUNI

Nadia*,

TAIBI Faïza*,

ZERGUINE Karima*.

RESUME

Les expérimentations visent à évaluer deux insecticides nouveaux, le KK-42 (un dérivé de l'imidazole) et le RH-0345 (un représentant de la benzoylhydrazine), respectivement antagoniste et analogue de l'hormone de mue, sur le potentiel reproducteur d'un insecte des denrées stockées, *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). Les effets sont observés sur la morphométrie de l'ovaire, l'oviposition, la fécondité, la taille des oeufs et leur viabilité. L'ensemble des résultats obtenus indiquent que le KK-42 manifeste des effets plus marqués que le RH-0345 sur la morphométrie de l'ovaire, le potentiel reproducteur et la viabilité des oeufs. Cependant, il est sans effet sur la taille des oeufs contrairement au RH-0345.

ABSTRACT

Evaluation of two insect growth regulators on the reproduction of a stored product pest. The experimentations aimed the evaluation of two new insecticides, KK-42 (an imidazole derivative) and RH-0345 (a benzoylhydrazine compound), respectively, inhibitor and agonist of the moulting hormone, on the reproductive events of an insect pest of stored products, *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). The effects were investigated on the measurements of ovaries, the oviposition, the fecundity and the size and the viability of eggs. Data obtained indicated that KK-42 exhibited marked effects on the reproductive events and eggs viability than RH-0345. However, in contrast to RH-345, it had no significant effect on the size of eggs.

Mots clés: Pesticides, Régulateurs de croissance des insectes, RH-0345, KK-42, Denrées stockées, Reproduction.

INTRODUCTION

La reproduction est un facteur de pullulation des insectes. L'hormone de mue est un stéroïde polyhydroxylé qui joue un rôle majeur dans le développement et la reproduction des insectes (Koolman, 1990; Rees, 1995; Gäde et al., 1997) et constitue de ce fait une cible recherchée en vue du contrôle des ravageurs (Dinan, 1989). Le RH-0345 est un nouveau représentant de la benzoylhydrazine à structure non stéroïdale qui mime l'action de l'hormone de mue en causant des mues létales précoces (Dhadialla et al., 1998; Smagghe & Degheele, 1998) tandis que KK-42 est un dérivé de l'imidazole qui interfère avec la croissance et le développement en agissant comme un anti-hormone juvénile ou en inhibant les taux de l'hormone de mue (Kuвано et al., 1992; Kadano-Okuda et al., 1994; Gelman et al., 1995).

L'objectif de cette étude est de tester le KK-42 et le RH-0345 sur la reproduction d'un modèle de laboratoire, *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae), en examinant plus particulièrement son impact sur le développement et la croissance des ovaires (poids des ovaires, nombre d'ovocyte et taille de l'ovocyte basal) et le potentiel reproducteur (durée des périodes de pré-oviposition et d'oviposition, fécondité et viabilité des oeufs).

MATERIEL ET METHODES

Elevage: Les adultes de *T. molitor* sont élevés dans des bacs contenant de la farine de blé maintenus à l'obscurité, à une température de 27 °C et à une humidité relative voisine de 80 %. Les femelles sont élevées en groupe, en présence d'un nombre égal de mâles (20 couples). La datation des adultes se fait en jours après l'exuviation imaginale.

Traitement: Le mimétique des ecdystéroïdes, RH-0345 et le KK-42 ont été aimablement fournis par le Dr. G. Smagghe (Belgique) par le Pr. Kuвано (Japon), respectivement. Les composés sont dilués dans l'acétone (3 µl par femelle) et administrés à différentes doses (1, 5 et 10 µg/femelle) par application topique aux femelles nouvellement exuviées.

Mensurations de l'ovaire: Les ovaires sont prélevés à différents âges au cours de la maturation sexuelle. Le poids frais des ovaires, le nombre d'ovocytes et la longueur de l'ovocyte basal sont déterminés.

Paramètres de la reproduction: Les couples sont suivis individuellement pour déterminer les durées des périodes de pré-oviposition et de ponte et la fécondité. La viabilité des oeufs est précisée sur des échantillons d'oeufs pondus par des femelles de lots témoins et traités.

RESULTATS

Effets sur la croissance et le développement des ovaires

Chez les femelles de *T. molitor* nourries de farine de blé et élevées à l'obscurité et à 27°C, le processus de vitellogénèse se déroule en 2 à 4 jours tandis que la ponte intervient dès le jour 5 après l'émergence des adultes (Soltani-Mazouni, 1994). De plus, l'étude morphométrique des ovaires réalisée durant la maturation sexuelle révèle que le poids frais des ovaires ainsi que la longueur de l'ovocyte basal chez les femelles témoins augmentent progressivement de l'émergence jusqu'à 5 jours puis se stabilisent par la suite.

Age (jours)	Témoin	KK-42 5µg	KK-42 10µg
0	1,52 ± 0,39 (8)	-	-
2	3,19 ± 0,69 (5)	1,87 ± 0,16 (8)	1,20 ± 0,12 (12)
4	9,22 ± 2,48 (5)	5,20 ± 0,40 (5)	3,70 ± 0,08 (6)

Tableau 1. Effet du KK-42 administré par application topique à l'émergence des femelles de *Tenebrio molitor* sur le poids (mg) frais des ovaires ($m \pm s$, (n)).

Age (jours)	Témoin	RH-0345 5µg	RH-0345 10µg
0	1,62 ± 0,39 (8)	-	-
2	2,49 ± 0,49 (5)	1,81 ± 0,34 (7)	1,48 ± 0,15 (12)
4	13,32 ± 5,38 (5)	12,20 ± 5,40 (5)	12,70 ± 2,87 (5)

Tableau 2. Effet du RH-0345 administré par application topique à l'émersion des femelles de *Tenebrio molitor* sur le poids (mg) frais des ovaires ($m \pm s$, (n)).

L'application topique du KK-42 aux femelles adultes nouvellement exuvies perturbe la croissance et le développement des ovaires. On note une réduction significative ($p = 0,0017$) du poids des ovaires (Tableau 1). De plus, les mensurations réalisées également après traitement indiquent que le RH-0345 affecte de manière significative ($p < 0,05$) le poids des ovaires enregistré à 2 jours (Tableau 2) et la longueur de l'ovocyte basal à 2 et 4 jours uniquement avec la dose 10 µg (Tableau 3).

Age (jours)	Témoin	RH-0345 5µg	RH-0345 10µg
0	438 ± 36 (6)	-	-
2	563 ± 71 (6)	481 ± 8 (6)	455 ± 27 (6)
4	825 ± 80 (5)	556 ± 101 (6)	493 ± 46 (6)

Tableau 3. Effet du RH-0345 administré par application topique à l'émersion des femelles de *Tenebrio molitor* sur la longueur (µm) de l'ovocyte basal ($m \pm s$, (n)).

Effets sur les évènements de la reproduction

Le KK-42 provoque un allongement de la période de pré-oviposition significatif ($p=0,009$) seulement avec la dose $10\text{ }\mu\text{g}$ et une réduction de la période d'oviposition significative ($p=0,0001$) pour toutes les doses comparativement aux témoins (Tableau 4). Enfin, le traitement provoque une réduction significative de la fécondité ($p<0,0001$) et de la viabilité des oeufs pour toutes les doses testées (Tableau 5).

Concernant le RH-0345, il est sans effet significatif sur la durée de la période de pré-oviposition ($p>0,0023$) et réduit, par contre, la période d'oviposition ($p=0,0023$), la fécondité ($p=0,0719$), la viabilité des oeufs ($p=0,0013$) seulement à la dose de $10\text{ }\mu\text{g}$ (Tableaux 6 & 7).

Durée (jours)	Témoin	KK-42 $5\mu\text{g}$	KK-42 $10\mu\text{g}$
Période pré-oviposition	$5,5 \pm 1,1$ (6)	$6,5 \pm 1,5$ (5)	$7,3 \pm 1,3$ (5)
Période d'oviposition	$15,2 \pm 0,5$ (9)	$6,5 \pm 0,5$ (5)	$5,2 \pm 1,6$ (9)

Tableau 4. Effet du KK-42 administré par application topique à l'émersion des femelles de *Tenebrio molitor* sur la durée (jours) des périodes de pré-oviposition et d'oviposition ($m \pm s$, (n)).

Traitements	Témoin	KK-42 $5\mu\text{g}$	KK-42 $10\mu\text{g}$
Fécondité (oeufs /femelle)	$56,0 \pm 3,5$ (6)	$32,0 \pm 1,9$ (5)	$17,2 \pm 2,5$ (8)
Viabilité des oeufs (%)	$95,450 \pm 6,43$ (6)	$85,52 \pm 13,93$ (6)	$83,21 \pm 5,14$ (6)

Tableau 5. Effet du KK-42, administré par application topique à l'émersion des femelles de *Tenebrio molitor* sur la fécondité (nombre d'oeufs) et la viabilité des oeufs (%) ($m \pm s$, (n)).

Durée (jours)	Témoin	RH-0345 5µg	RH-0345 10µg
Période pré-oviposition	4,37 ± 1,06 (9)	5,00 ± 1,00 (8)	5,50 ± 1,29 (7)
Période d'oviposition	11,88 ± 1,61 (9)	11,16 ± 1,47 (8)	9,28 ± 0,95 (7)

Tableau 6. Effet du RH-0345 administré par application topique à l'émersion des femelles de *Tenebrio molitor* sur la durée (jours) des périodes de pré-oviposition et d'oviposition ($m \pm s$, (n)).

Traitements	Témoin	RH-0345 5µg	RH-0345 10µg
Fécondité (oeufs /femelle)	65,00 ± 10,00 (9)	57,00 ± 10,58 (8)	46,75 ± 8,53 (8)
Viabilité des oeufs (%)	98,00 ± 4,47 (6)	95,09 ± 3,42 (6)	31 ± 5,14 (6)

Tableau 7. Effet du RH-0345 administré par application topique à l'émersion des femelles de *Tenebrio molitor* sur la fécondité (nombre d'oeufs) et la viabilité des oeufs (%) ($m \pm s$, (n)).

Effets sur la taille des oeufs pondus

La taille (longueur et largeur) des oeufs pondus par les femelles des différentes séries témoins et traitées a été mesurée et le volume calculé. Les résultats sont présentés dans les tableaux 8 et 9. Le dérivé de l'imadazole (KK-42) est sans effet significatif sur la taille et le volume des oeufs pondus (Tableau 8). Quant au RH-0345, administré par application topique à l'émersion des femelles adultes, il réduit de manière significative ($p < 0,029$) la taille des oeufs pondus pour les deux doses testées (Tableau 9).

Traitements	Témoin	KK-42 5µg	KK-42 10µg
Longueur (µm)	1820 ± 84 (10)	1720 ± 174 (25)	1716 ± 126 (16)
Largeur (µm)	770 ± 60 (9)	765 ± 76 (24)	736 ± 68 (20)
Volume (mm ³)	0,577 ± 0,097 (10)	0,529 ± 0,115 (22)	0,511 ± 0,110 (20)

Tableau 8. Effet du KK-42 administré par application topique à l'émersion des femelles de *Tenebrio molitor* sur la taille (µm) et le volume (mm³) des oeufs (m ± s, (n)).

Traitements	Témoin	RH-0345 5µg	RH-0345 10µg
Longueur (µm)	1815 ± 108 (27)	1631 ± 153 (23)	1618 ± 170 (22)
Largeur (µm)	763 ± 86 (22)	710 ± 63 (23)	709 ± 66 (22)
Volume (mm ³)	0,560 ± 0,128 (19)	0,456 ± 0,110 (23)	0,435 ± 0,110 (22)

Tableau 9. Effet du RH-0345 administré par application topique à l'émersion des femelles de *Tenebrio molitor* sur la taille (µm) et le volume (mm³) des oeufs (m ± s, (n)).

DISCUSSION

Il est généralement admis que l'hormone de mue joue un rôle important dans le développement et la reproduction (Koolman, 1990; Rees, 1995; Gäde et al., 1997). Le KK-42 et le RH-0345 sont des insecticides sélectifs qui interfèrent avec la croissance et le développement des organismes visés par rapport aux insecticides conventionnels. Le KK-42 est un dérivé de l'imidazole qui agirait selon les auteurs soit sur les hormones (anti-hormone juvénile ou inhibiteur des ecdystéroïdes) soit sur les diapauses (Kuwano et al., 1992; Kadano-Okuda et al., 1994; Gelman et al., 1995).

Plusieurs régulateurs de croissance des insectes ont été évalués sur la reproduction chez *T. molitor* ou d'autres ravageurs. Chez *T. molitor*, le diflubenzuron, un dérivé de la benzoylurée, réduit la fécondité (Soltani, 1987), la synthèse d'ADN et de protéines ovariennes (Soltani-Mazouni & Soltani, 1994; Soltani et al., 1996) et l'épaisseur de l'épithélium folliculaire (Soltani-Mazouni, 1994) tandis que le KK-42 perturbe le développement des ovaires et la production d'ecdystéroïdes ovariens *in vitro* (Soltani et al., 1997). Le diflubenzuron est par contre sans effet significatif sur l'incorporation de la leucine tritiée et le profil électrophorétique des protéines du corps gras (Soltani-Mazouni & Soltani, 1995). Chez *Cydia pomonella*, le diflubenzuron affecte la composition biochimique des ovaires (Soltani & Soltani-Mazouni, 1992).

L'étude morphométrique des ovaires révèle également que le KK-42 et le RH-0345 perturbent la croissance et le développement des ovaires de *T. molitor* confirmant ainsi les travaux antérieurs faits avec d'autres régulateurs de croissance (Soltani & Soltani-Mazouni, 1992; Soltani-Mazouni, 1994; Soltani & Soltani-Mazouni, 1997). Ces anomalies morphométriques de l'ovaire induites par le traitement affectent la reproduction de l'espèce avec un allongement de la période de pré-oviposition et une réduction de la période d'oviposition, de la fécondité et de la viabilité des oeufs.

Les résultats obtenus indiquent que les effets observés du KK-42 sur la croissance et le développement des ovaires de l'espèce testée semblent plus marqués que ceux induits par le RH-0345. La diminution du potentiel reproducteur engendrée par le KK-42 et le RH-0345 chez *T. molitor* est due probablement à une action via la biosynthèse des écdystéroïdes ovariens. La réduction de la production hormonale par les ovaires cultivés en présence du KK-42 (Soltani et al., 1997) supporte cette hypothèse.

REFERENCES

- DINAN L., 1989. Ecdysteroid structure and hormonal activity. In *Ecdysone: From chemistry to mode of action* (Edited by Koolman J.) pp. 345-354. Thieme, Stuttgart.
- GÄDE G., HOFFMANN K.H. & SPRING J.H., 1997. Hormonal regulation in insects: facts, gaps, and future directions. *Physiological Review* 77: 963-1032.
- GELMAN D.B., BELL R.A., DE MILO A.B. & KOCHANISKY J.A., 1995. Effect of KK-42 on growth, development, molting, and metamorphosis of the european corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Hübner). *Archives of Insect Biochemistry & Physiology* 28: 1-15.

- KADANO-OKUDA K., AMORNSAK W. & YAMASHITA O., 1994.** Controlled ecdysteroid accumulation in eggs of silkworm, *Bombyx mori*, by an imidazole compound (KK-42), and embryogenesis in these eggs. *Archives of Insect Biochemistry & Physiology* 25: 121-135.
- KOOLMAN, J. (1990).** Ecdysteroids. *Zoological Sciences* 7: 563-580.
- Kuwano E., Hisano T., Eto M., Suzuki K., Unnithan G.C. & Bowers W.S., 1992. Insect growth regulating activity of 1,5-disubstituted imidazole against *Bombyx mori* and *Oncopeltus fasciatus*. *Pesticide Science* 34: 263-268.
- REES, H.H., 1995.** Ecdysteroid biosynthesis and inactivation in relation to function. *European Journal of Entomology* 92: 9-39.
- SOLTANI N., 1987.-** Effets du diflubenzuron sur la reproduction chez *Tenebrio molitor* L.. *Annales ANPP* III (6): 471-475.
- SOLTANI N. & SOLTANI-MAZOUNI N., 1997.** Oogenesis in mealworms: cell density of germarium, thickness of chorion and production of ecdysteroids. Effects of regulators. *Mededelingen Faculteit Landbouwkundige & Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universiteit Gent* 62/2b: 565-571
- SOLTANI N., SOLTANI-MAZOUNI N., QUENNEDEY B. & DELACHAMBRE J. 1996.** Protein synthesis in developing ovaries of mealworm under in vivo and in vitro conditions: effects of diflubenzuron. *Journal of Stored Product Research* 32 (3): 205-212.
- SOLTANI N. AND SOLTANI-MAZOUNI N., 1992.** Diflubenzuron and oogenesis in codling moth, *Cydia pomonella* (L.). *Pesticide Science* 34: 257-261.
- SOLTANI, N., PITOIZET, N., SOLTANI-MAZOUNI, N., DELACHAMBRE, J. & DELBECQUE, J.P., 1997.** Activity of an anti-ecdysteroid compound (KK-42) on ovarian development and ecdysteroid secretion in mealworms. *Mededelingen Faculteit Landbouwkundige & Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universiteit* 62/2b: 531-537.
- SOLTANI-MAZOUNI N., 1994.** Effects of ingested diflubenzuron on ovarian development during the sexual maturation of mealworms. *Tissue & Cell* 26: 439-445.
- SOLTANI-MAZOUNI N. & SOLTANI N., 1994.** Diflubenzuron affected DNA synthesis in the ovaries of *Tenebrio molitor*. *Journal Invertebrate Reproduction & Development* 25: 19-21.
- Soltani-Mazouni N. & Soltani N., 1995-** The protein synthesis in the fat body of *Tenebrio molitor* (L.) during oocytes maturation: effect of diflubenzuron and starvation. *Journal of Stored Product Research* 31 (2): 117-122.

* **Département de Biologie; Faculté des Sciences Université de Annaba.**