

RENÉE DALLAIRE

**EFFETS SOUS-LÉTAUX DU TÉBUFÉNOZIDE, UN
RÉGULATEUR DE CROISSANCE D'INSECTES, SUR
LA COMMUNICATION CHIMIQUE ET LE SUCCÈS
REPRODUCTEUR CHEZ
CHORISTONEURA FUMIFERANA ET *C. ROSACEANA*
(LEPIDOPTERA : TORTRICIDAE)**

Mémoire
présenté
à la Faculté des études supérieures
de l'Université Laval
pour l'obtention
du grade de maître ès sciences (M. Sc.)

Département de biologie
FACULTÉ DES SCIENCES ET GÉNIE
UNIVERSITÉ LAVAL
QUÉBEC

JUILLET 2003

Résumé

Le tébufénozide, un régulateur de croissance d'insecte, affecte le développement ainsi que certains aspects de la communication chimique et du succès reproducteur des deux sexes chez *Choristoneura fumiferana* (Clem.) et *C. rosaceana* (Harris) (Lepidoptera : Tortricidae), traités selon deux méthodes de traitement. Cet analogue de l'ecdysone augmente le temps de développement chez les deux espèces et réduit la masse corporelle des deux sexes chez *C. rosaceana* uniquement. Chez *C. fumiferana*, le tébufénozide retarde l'heure d'émission de la phéromone chez les jeunes femelles et perturbe la capacité des mâles à détecter et localiser une source phéromonale en tunnel de vol. Chez *C. rosaceana*, ce produit provoque un ralentissement de la maturation ovarienne et conséquemment une diminution de la fécondité des femelles. Également, la production des spermatozoïdes eupyrènes par les mâles ainsi que leur succès d'accouplement sont affectés par le tébufénozide.

Avant-Propos

Au cours des deux dernières années, plusieurs personnes ont contribué à parfaire mon cheminement académique et scientifique qui a mené à la rédaction de ce mémoire. J'en profite donc pour remercier le Dr Johanne Delisle, ma directrice, qui m'a fait confiance dès notre première rencontre en m'ouvrant toutes grandes les portes de son laboratoire. Merci pour ta grande disponibilité et ton implication constante tout au long de ma maîtrise ainsi que pour m'avoir démontré que la réussite est souvent le fruit de la persévérance et de l'ardeur au travail.

J'aimerais également remercier le Dr Éric Bauce, mon co-directeur, pour ses commentaires positifs et ses questions toujours bien pertinentes. Merci au Dr Jeremy McNeil pour son implication dans mon projet d'étude, pour ses excellents conseils et pour m'avoir fait profiter de son imposant savoir entomologique.

Je profite aussi de cette occasion pour remercier les employés du Centre de Foresterie des Laurentides (Ressources naturelles Canada) de m'avoir donné accès à l'ensemble des infrastructures ainsi que pour toute l'aide et le support qu'il m'ont fourni au cours de ces deux années. Merci également à toute l'équipe de la SOPFIM (Société de protection des forêts contre les insectes et les maladies) pour avoir accepté généreusement de financer une partie de mes études graduées. Un merci tout particulier à Denise Moranville, ma superviseure en milieu pratique, pour sa compréhension et sa grande gentillesse.

Je ne pourrais passer sous silence la grande contribution de Mireille Marcotte (étudiante au doctorat en entomologie) et Alain Labrecque (biologiste) dans la réussite de cette maîtrise. Merci Mireille pour m'avoir pris sous ta tutelle dès mon arrivée dans le laboratoire et pour tout le temps et l'énergie que tu as mis dans mon projet d'étude. Tu es une véritable perle que je n'oublierai pas de si tôt. Merci aussi à Alain pour tout le travail que tu as réalisé pour mener à la réussite de mes expériences et pour avoir réparé tant de fois le maudit chromatographe! Nos petites discussions vont bien me manquer.

Finalement, j'aimerais remercier mon petit amour Elliot pour avoir rempli ma vie de joie lors de son arrivée dans ma vie. Merci de m'avoir fait découvrir la plus belle chose qui soit à mes yeux: la maternité. Merci à Louis, mon conjoint, pour son soutien, ses encouragements et sa compréhension. Sans toi, je ne sais pas si j'aurais pu mener à terme ma maîtrise. Merci à ma mère, mon père et ma sœur pour leur aide afin que je puisse concilier mes études et ma vie familiale.

Cette étude a été rendue possible grâce au soutien financier de la Société de protection des forêts contre les insectes et les maladies (SOPFIM) et le Fonds pour la formation de chercheurs et l'aide à la recherche (FCAR). Un article dont le contenu se trouve dans le chapitre 1 sera soumis prochainement pour fin de publication et dont les co-auteurs seront Johanne Delisle, Alain Labrecque, Mireille Marcotte et Éric Bauce.

Table des matières

Résumé.....	i
Avant-Propos	ii
Table des matières	iv
Introduction.....	1
Rôle de l'ecdysone dans la régulation endocrinienne de la reproduction.....	1
Les régulateurs de croissance d'insectes	6
Le tébufénozide.....	7
CHAPITRE I.....	11
LES EFFETS SOUS-LÉTAUX DU TÉBUFÉNOZIDE SUR LES ACTIVITÉS PRÉ- COPULATOIRES ET COPULATOIRES DE <i>CHORISTONEURA FUMIFERANA</i> ET <i>C.</i> <i>ROSACEANA</i>	11
Introduction.....	12
Méthodologie.....	14
Élevage des insectes.....	14
Traitements	14
Comportement d'appel	16
Extraction de la glande et quantification de la phéromone.....	16
Maturation ovarienne.....	17
Détection de la phéromone par les mâles	17
Accouplement, fécondité et fertilité.....	18
Comptage des spermatozoïdes.....	18
Analyses statistiques	19
Résultats.....	20
Effets du tébufénozide sur le développement.....	20
Effets du tébufénozide sur la biologie des adultes.....	21
Discussion.....	36
Références.....	43
Conclusion	50
Bibliographie	57

Liste des tableaux

- Tableau 1. Les effets du tébufénozide sur la fécondité et la fertilité chez plusieurs espèces de Lépidoptères..... 24
- Tableau 2. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur l'incidence de la mortalité larvaire, pupale et totale résultant du traitement des larves de 4^{ème} stade chez la TBE et de 5^{ème} stade chez la TBO par la méthode de la gouttelette et/ou de la diète..... 25
- Tableau 3. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur la quantité de phéromone présente dans les glandes de femelles vierges âgées de 1, 3 et 5 jours chez la TBE (E11-14 : Ald) et la TBO (Z11-14 : AC) traitées au 4^{ème} et 5^{ème} stade larvaire respectivement, selon la méthode de la gouttelette (A, B) ou de la diète (C)..... 26
- Tableau 4. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur divers paramètres du comportement de vol des mâles de la TBE testés en tunnel de vol suite au traitement des larves de 4^{ème} stade par la méthode de la gouttelette. 27
- Tableau 5. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur le succès d'accouplement, la fécondité et le pourcentage de fertilité obtenus chez la TBE et la TBO à partir de couples dont l'un ou les deux sexes ont été traités 4^{ème} ou 5^{ème} au stade larvaire selon la méthode de la gouttelette (G) ou de la diète (D). 28

Liste des figures

- Figure 1. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur le temps de développement larvaire et total obtenus chez la TBE et la TBO traitées au 4^{ème} ou 5^{ème} stade respectivement, selon la méthode de la gouttelette (G) ou de la diète (D). 29
- Figure 2. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur le poids des mâles et des femelles chez la TBE (poids à l'émergence) et la TBO (poids au stade puppe) traitées au 4^{ème} ou 5^{ème} stade larvaire respectivement, selon la méthode de la gouttelette (G) ou de la diète (D). 30
- Figure 3. Les effets de différentes doses de tébufénozide (ug/ μ l) sur l'heure moyenne d'initiation de l'appel obtenue pour chacune des cinq premières nuits suivant l'émergence chez des femelles de la TBE et de la TBO traitées au 4^{ème} ou 5^{ème} stade larvaire, selon la méthode de la gouttelette (G) ou de la diète (D). Les valeurs avec * indiquent une différence significative à des intervalles de confiance à 95%. 31
- Figure 4. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur la durée moyenne de l'appel pour chacune des cinq nuits suivant l'émergence chez les femelles vierges de la TBE et de la TBO traitées au 4^{ème} ou 5^{ème} stade larvaire respectivement, selon la méthode de la gouttelette (G) ou de la diète (D). 32
- Figure 5. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur le nombre d'œufs matures produits par des femelles vierges de la TBO traitées au 5^{ème} stade larvaire par la méthode de la gouttelette. 33
- Figure 6. Les effets de différentes doses de tébufénozide (ng/ μ l) sur le nombre d'œufs matures produits par des femelles vierges de la TBO âgées de 1, 3 et 5 jours traitées au 5^{ème} stade larvaire par la méthode de la diète. Les valeurs avec * indiquent une différence significatives à des intervalles de confiance à 95%. 34
- Figure 7. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur le poids du spermatophore ainsi que sur le nombre d'eupyrènes et d'apyrènes présents dans le spermatophore et la spermathèque de femelles de la TBO accouplées avec des mâles traités au 5^{ème} stade larvaire par la méthode de la diète. 35

Introduction

Au cours de l'évolution, les insectes sont parmi les organismes qui ont su les mieux développer diverses stratégies comportementales et physiologiques afin de s'adapter à leur environnement. La diversité des modes de reproduction (Thornhill et Alcock, 1983) et la complexité des mécanismes physiologiques qui leurs sont associées sont à l'image de ces adaptations. Bien que le système nerveux de l'insecte soit à l'origine de l'orchestration des activités reproductives, le système endocrinien n'en joue pas moins un rôle clé. En effet, de nombreuses études réalisées sur divers ordres d'insectes ont démontré l'implication de l'hormone juvénile, de l'ecdysone (les deux hormones régissant la croissance et la métamorphose chez les insectes), ainsi que certaines neurohormones dans le contrôle de la physiologie reproductive (Barth et Lester, 1973; Koeppel *et al.*, 1985; Hagedorn, 1985; Raina et Klun, 1984).

Rôle de l'ecdysone dans la régulation endocrinienne de la reproduction

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

Les fonctions et l'importance de l'ecdysone dans la biologie reproductive des insectes varient grandement d'une espèce à l'autre, reflétant ainsi les divers modes de reproduction déployés par ces organismes (oviparité, ovoviparité, viviparité, etc...). Ce sont chez les moustiques anautogènes (qui requièrent une ingestion de sang pour le développement des œufs) que son activité gonadotrope a été la plus étudiée et décrite, plus particulièrement chez le moustique de la fièvre jaune, *A. aegypti* (Diptère). L'ingestion de sang chez ces diptères stimule la sécrétion de l'OEH ("ovarian ecdysteroidogenic hormone I", préalablement nommée EDNH pour "egg-development neurosecretory hormone") par le cerveau, afin d'activer la synthèse et la sécrétion de l'ecdysone par les ovaires (Lea, 1972). Subséquemment, l'ecdysone est rapidement convertie en 20-hydroxyecdysone (20-HE) au niveau des ovaires, mais également des corps gras. Martin et *al.* (2001) ont démontré que la 20-HE maintenait l'expression des gènes de la vitellogénine (protéine constituant 80-90% des substances de réserve de l'œuf) dans les corps gras, la protéine étant par la suite acheminée et incorporée aux oocytes (Koller et Raikhel, 1991). Par ailleurs, la 20-HE induit la différenciation folliculaire des ovaires (Beckemeyer et Lea, 1980) et pourrait agir au cours de la choriogénèse (Lin et *al.*, 1993) (voir Klowden, 1997 pour de plus amples détails). Chez *Drosophila melanogaster*, outre les rôles précédemment décrits, l'ecdysone permet le développement des chambres de l'œuf (les chambres sont constituées de l'oocyte intimement connecté à quinze cellules nourricières) (Buszczak et *al.*, 1999).

Chez les Orthoptères, l'hormone juvénile est impliquée dans le contrôle la maturation ovarienne (Belyaeva, 1966; Strambi et *al.*, 1997), quoique l'on suspecte l'implication de l'ecdysone dans la production de la vitellogénine (Hoffmann et Sorge, 1997). Chudakova et *al.* (1982) ont démontré l'effet variable de l'ecdysone sur le développement des oocytes selon la dose administrée. L'injection de petites doses de 20-HE chez *Acheta domesticus* stimule l'oogénèse et la fécondité, mais celle-ci a un effet inhibiteur à de plus fortes doses. Bien que l'activité ecdysiosynthétique des cellules folliculaires ait été clairement démontrée chez plusieurs espèces d'Orthoptères, aucune fonction précise n'a été établie en ce qui a trait au système reproducteur des femelles. Toutefois, certains endocrinologistes ont soulevé l'hypothèse selon laquelle l'ecdysone présente chez les femelles adultes serait transférée dans les œufs afin de favoriser le développement embryonnaire (Hoffmann, 1980; Delbecque et *al.*, 1990).

Selon Ramaswamy et *al.* (1997), la régulation hormonale du développement ovarien chez les Lépidoptères varie selon certaines caractéristiques reproductives telles que le stade de développement de la femelle lors de l'initiation de la vitellogénèse, la polyandrie (accouplement multiple des femelles) et l'ingestion de nourriture au stade adulte. Ces aspects de la biologie reproductive des Lépidoptères sont intrinsèquement liés aux stratégies reproductives utilisées par les femelles, lesquelles influencent directement la maturation des œufs. Ainsi, chez les espèces monandres comme *Bombyx mori*, le développement des œufs se fait de concert avec le processus de la mue larvaire sous l'action de l'ecdysone. Non seulement les ecdystéroïdes initient la synthèse de la vitellogénine, mais augmentent également la compétence des follicules à incorporer cette protéine dans les oocytes en développement. Chez d'autres espèces (ex. *Plodia interpunctella*, *Diatraea grandiosella*) qui initient la vitellogénèse tôt dans le stade pupal, c'est la chute des titres des ecdystéroïdes qui stimule la synthèse de la vitellogénine. La monandrie et la polyandrie limitée sont généralement les stratégies de reproduction utilisées chez ces espèces. Finalement, chez les espèces polyandres où la maturation ovarienne est complètement (ou presque) dissociée du processus métamorphique, le développement des œufs est sous la dépendance de l'hormone juvénile, et ce, en l'absence complète de l'ecdysone (ex. *Manduca sexta*, *Helicoverpa zea* et certaines espèces migratrices telles *Pseudaletia unipuncta*). À ce titre, certaines études ont démontré que la présence artificielle de l'ecdysone inhibait l'action gonadotrope de l'hormone juvénile (Satyanarayana et *al.*, 1992, 1994). Ainsi, bien que les rôles de l'ecdysone et de l'hormone juvénile aient été élucidés dans certaines étapes du développement des oocytes chez les insectes, la maturation ovarienne dans son ensemble demeure très complexe puisque de nombreuses interactions synergiques et inhibitrices ont cours entre ces deux hormones et d'autres neurohormones (Bellés, 1995).

Les testicules des mâles, tout comme les ovaires des femelles, se sont avérés être également une source d'ecdysone (Loeb et *al.*, 1982, 1984). Plusieurs rôles au niveau du système reproducteur mâle ont été attribués à l'ecdysone dont les principaux sont ici cités (voir Happ, 1992 pour de plus amples détails). En effet, l'ecdysone est nécessaire à la différenciation des disques génitaux imaginaires et à la maturation des différentes structures de l'appareil reproducteur mâle (Grimnes et Happ, 1987; Shinbo et Happ, 1989; Loeb et Hakim, 1991). Également, de nombreuses expériences ont démontré que l'ecdysone accélère la division

mitotique durant les premiers stades de la spermatogenèse (Dumser et Davey, 1975; Dumser, 1980; Szopa et *al.*, 1985) ainsi que la différenciation et la croissance des glandes accessoires (Gallois, 1989; Shinbo et Happ, 1989) chez plusieurs endoptérygotes. Chez les Lépidoptères, la compétence des glandes accessoires à produire des protéines chez l'adulte nécessite une hausse des titres des ecdystéroïdes au stade pupal (Sridevi et *al.*, 1988; Shinbo et Happ, 1989). Par ailleurs, chez ces derniers, l'ecdysone régule également la production des deux types de spermatozoïdes, les eupyrènes nucléés qui fertilisent l'œuf et les apyrènes anucléés qui jouent un rôle d'assistance (Osanai et *al.*, 1987; Friedländer, 1997). En effet, une augmentation des ecdystéroïdes stimule la production des apyrènes (Gelman et *al.*, 1988; Kawamura et *al.*, 2003) tandis que l'injection de la 20-HE semble inhiber la libération des eupyrènes des *vas deferens* (Thorson et Riemann, 1982; Gielbultowicz et *al.*, 1990).

Outre son activité dans la régulation de la maturation des systèmes reproducteurs mâle et femelle, le système endocrinien influence également plusieurs comportements reproducteurs chez les insectes. Dans ce cadre, les hormones ont pour fonction de synchroniser la maturation sexuelle avec l'initiation des comportements pré-copulatoires ayant pour finalité la rencontre des partenaires sexuels en vue de réaliser l'accouplement (Barth et Lester, 1973). Chez les insectes utilisant la communication chimique comme mode de recrutement d'un partenaire, la production et l'émission de la phéromone sexuelle généralement réalisées par la femelle ainsi que la détection de la phéromone et la localisation de l'émettrice par le mâle, sont régies par des mécanismes physiologiques complexes impliquant l'intervention d'hormones et de neurohormones.

Les premières études à ce sujet ont été réalisées par Barth (1961, 1962), qui a su démontrer à l'aide de l'allatectomie, l'implication de l'hormone juvénile dans la production et l'émission de la phéromone sexuelle chez la blatte, *Byrsotria fumigata*. Or, plusieurs autres études chez les Blattodea (Schal et Smith, 1990), les Coléoptères (Vanderwel et Oehlschlager, 1987) et les Lépidoptères (Cusson et McNeil, 1989; Gadenne et *al.*, 1993) ont permis de démontrer que l'hormone juvénile joue un rôle prédominant dans la communication phéromonale chez les femelles d'espèces ayant un cycle reproducteur complexe (exhibant plusieurs cycles gonadotropiques ou nécessitant un délai avant l'accouplement), tel que spéculé par Barth

(1965). Quant à l'ecdysone, ses rôles possibles dans la régulation des mécanismes physiologiques sous-jacents aux comportements pré-copulatoires ont été très peu étudiés.

Chez les femelles de la mouche domestique, *Musca domestica*, la production de la phéromone sexuelle est directement corrélée avec une augmentation du titre d'ecdystéroïde dans l'hémolymph (Adams et al., 1984). L'ovariectomie des femelles induit la cessation de la synthèse de la phéromone, tandis que l'injection de 20-hydroxyecdysone rétablit sa production. Par ailleurs, l'implantation d'ovaires ou l'injection d'ecdysone ou de 20-hydroxyecdysone permettent la production de la phéromone sexuelle chez les mâles de la même espèce (Blomquist et al., 1984). Ainsi, chez les Diptères, il semble que les ecdystéroïdes jouent un rôle synchroniseur entre la maturation des ovaires et l'initiation des activités pré-copulatoires de façon similaire à l'hormone juvénile chez d'autres ordres. Chez les Lépidoptères, la production de la phéromone sexuelle se fait généralement via la libération du PBAN ("pheromone biosynthesis activating neuropeptide"), une neurohormone, qui peut agir sur la glande à phéromone (Tillman et al., 1999; Rafaeli, 2002). À ce titre, il est intéressant de mentionner que l'hormone juvénile est nécessaire à la libération du PBAN par les corps cardiaques chez certaines espèces migratrices (Cusson et al., 1994) et qu'elle régulerait les récepteurs du PBAN afin de promouvoir la compétence de la glande à phéromone chez d'autres espèces (Rafaeli et al., 2003). Par contre, chez *Trichoplusia ni*, la compétence de la glande à produire la phéromone est régulée par des changements du titre de l'ecdysone et non par l'activité du PBAN (Tang et al., 1991). Étonnamment, les ecdystéroïdes ont également des fonctions similaires chez d'autres arthropodes, puisqu'ils semblent stimuler la production de la phéromone sexuelle chez la tique du chameau, *Hyalomma dromedarii* (Acarien) (Dees, et al., 1985) et être une des composantes de la phéromone génitale chez les tiques *Dermacentor variabilis* et *D. andersoni* (Taylor et al., 1991).

Une fois la phéromone sexuelle émise par les femelles, les mâles doivent percevoir et décoder l'information chimique et subséquentement initier un vol anémotactique afin de localiser l'émettrice (Cardé et Baker, 1984). Chez les insectes, les informations olfactives sont intégrées au niveau du lobe antennaire, formé de glomérules, qui constitue un véritable centre olfactif du système nerveux central (Hansson et Anton, 2000). Chez les espèces utilisant la communication phéromonale, un complexe macroglomérulaire a été identifié dans le lobe

antennaire uniquement chez le sexe récepteur (dimorphisme sexuel), lui permettant ainsi de décoder et de répondre spécifiquement à la phéromone sexuelle de son espèce (Rospar, 1988). Par ailleurs, plusieurs substances neuroactives ont été localisées dans le lobe antennaire dont, l'hormone juvénile. Gadenne et *al.* (1993) ont observé chez *Agrotis ipsilon* une synchronie entre la réponse comportementale des mâles et l'activité biosynthétique de l'hormone juvénile. Ainsi, ils ont pu démontrer que cette dernière régula le seuil de réponse des neurones du lobe antennaire à la phéromone sexuelle (Gadenne et Anton, 2000). Cusson et *al.* (1994) ont suggéré un rôle similaire de l'hormone juvénile au niveau de la régulation de la réponse des mâles *P. unipuncta* à la phéromone sexuelle. À ce jour, aucune étude n'a permis d'attribuer une fonction modulatrice de l'ecdysone à l'intégration du message phéromonal au niveau du système nerveux central. Toutefois, il est important de mentionner que la majorité des substances neuroactives pouvant potentiellement agir dans le traitement des informations olfactives n'ont pas été identifiées et leurs rôles demeurent toujours inconnus (Hansson et Anton, 2000).

Les régulateurs de croissance d'insectes

Les régulateurs de croissance d'insecte, développés au cours des vingt dernières années, sont des produits de synthèse simulant l'action de l'hormone juvénile ou de l'ecdysone, les deux hormones dont les rôles principaux sont de contrôler la croissance et le développement chez les insectes (Dhadialla et *al.*, 1998). À la fin des années 60', Williams (1967) promulgua l'idée de développer des agents de contrôle imitant l'action de l'hormone juvénile afin de perturber le développement normal de l'insecte visé. Par la suite, des analogues de l'ecdysone, l'hormone de la mue, ont été développés et commercialisés. Les analogues de l'hormone juvénile (ex. méthoprène, fénoxycarbe, pyriproxifène et diofénolan) ont pour principaux effets de produire, chez les individus traités, un stade surnuméraire, des larves permanentes ou des intermédiaires larve-pupe (Gadenne et *al.*, 1990; Muyle et Gordon, 1989; Mauchamp et *al.*, 1989). Quant aux produits simulant l'ecdysone (ex. RH-5849, tébufénozide et méthoxyfénozide), leur principale activité réside dans leur capacité à induire une mue prématurée (Wing et *al.*, 1988). Contrairement à des insecticides classiques, ces produits

s'avèrent plus sélectifs et sécuritaires, permettant ainsi d'épargner les organismes non-visés tels les prédateurs et les parasitoïdes (Dhadialla et *al.*, 1998).

Le tébufénozide

Le tébufénozide (RH-5992), commercialisé sous le nom de Mimic[®] par la firme "Rohm and Hass", est un agoniste non-stéroïdal de l'ecdysone et fait donc partie de la classe des régulateurs de croissance d'insecte de la famille chimique des bisacylhydrazines (voir Dhadialla et *al.*, 1998 pour une revue complète). Quoique cet analogue (agoniste) de l'ecdysone ne possède pas de stérol (non-stéroïdal) dans sa structure moléculaire, il en conserve toutefois son action. Cette capacité s'explique par la reconnaissance et l'attachement du tébufénozide aux récepteurs de l'ecdysone des cellules épidermales à la manière d'un système clé-cadenas. La présence de ce produit dans l'organisme de l'insecte perturbe le système hormonal en initiant une mue prématurée, incomplète et létale. Contrairement à la faible sélectivité des premiers agonistes de l'ecdysone (RH-5849, le précurseur du tébufénozide et l'halofénozide), le tébufénozide s'est avéré spécifique aux Lépidoptères. Quoique toujours spéculatif, cette différence pourrait avoir pour origine la variabilité interspécifique dans la structure du récepteur de l'ecdysone des différents ordres d'insectes (Smaghe et *al.*, 1996a).

Plusieurs études ont démontré que les changements morphologiques et structuraux induits par le tébufénozide dans les premières étapes de la mue sont identiques à ceux observés en présence d'ecdysone (Retnakaran et *al.*, 1997a ; Smaghe et *al.*, 1996b). Toutefois, les processus physiologiques nécessitant une chute du titre d'ecdysone tels, la sclérotisation et l'ecdyse, sont clairement absents. Ce phénomène s'explique par la stabilité métabolique et la persistance du tébufénozide dans les tissus des larves chez plusieurs espèces (Smaghe et Degheele, 1994). Ainsi, la présence continue de l'agoniste au niveau des récepteurs épidermiques prévient l'expression des gènes tardifs impliqués dans la mélanisation et la sclérotisation de la cuticule suite à la métabolisation naturelle de l'ecdysone.

Bien que cet agoniste non-stéroïdal de l'ecdysone ait été développé dans le but de perturber le développement larvaire, on a tôt fait d'observer des effets substantiels sur la reproduction des

Lépidoptères. En effet, des études réalisées chez plusieurs espèces appartenant à différentes familles (Crambidae, Noctuidae, Pyralidae et Tortricidae) ont démontré que le tébufénozide pouvait affecter le développement ovarien (Smagghe et Degheele, 1994; Salem et *al.*, 1997) et réduire la fécondité (nombre d'œufs pondus) (Smagghe et *al.*, 1996c; Biddinger et Hull, 1999; Knight, 2000; Rodriguez et *al.*, 2001) ainsi que la fertilité tant des femelles (Charmillot et *al.*, 1994; Smagghe et Degheele, 1994; Knight, 2000) que des mâles (Carpenter et Chandler, 1994; Sun et *al.*, 2000). En soi, ces résultats ne sont pas si surprenants étant donné les multiples fonctions de l'ecdysone au niveau du système reproducteur mâle et femelle. Cependant, il est important de mentionner que cet analogue affecte le potentiel reproducteur des deux sexes chez des espèces où le rôle de l'ecdysone dans la reproduction n'a pas été nécessairement démontré.

L'étude du tébufénozide confère plusieurs avantages tant au niveau de la recherche appliquée que de la recherche fondamentale. Puisque ce produit est employé dans le but de contrôler les populations de Lépidoptères ravageurs, il est important de déterminer la vulnérabilité des différentes espèces ciblées afin d'optimiser les traitements et de réduire les impacts négatifs sur les espèces bénéfiques ou non-visées. En effet, la toxicité du tébufénozide peut varier grandement d'une espèce à l'autre, certaines espèces étant capables d'éliminer ou de détoxifier davantage cet agoniste (Smagghe et Degheele, 1994; Williams et *al.*, 2002). Par ailleurs, ces études nous permettent non seulement de connaître la mortalité engendrée par le tébufénozide chez une espèce donnée, mais également de déterminer le niveau de population de la génération subséquente et ce, en connaissant les effets de ce produit sur le succès reproducteur des parents et sur la survie de la progéniture. Au niveau fondamental, ces recherches permettent entre autres d'augmenter nos connaissances des multiples rôles de l'ecdysone dans le développement, la métamorphose et la physiologie de la reproduction.

Dans cet optique, mon sujet de recherche visait à répondre à l'hypothèse selon laquelle le tébufénozide affecte divers aspects de la biologie reproductive de la tordeuse des bourgeons de l'épinette (TBE) *Choristoneura fumiferana*, et la tordeuse à bandes obliques (TBO), *Choristoneura rosaceana* (Tortricidae : Lepidoptera), dont la communication chimique et le potentiel reproducteur mâle et femelle. La TBE est un lépidoptère nuisible des forêts de l'est de l'Amérique du Nord, qui se nourrit préférentiellement des pousses de sapin baumier (*Abies*

balsamea) (McGugan, 1954). La TBO quant à elle, est une tordeuse polyphage problématique en agriculture (Reissig, 1978), mais que l'on retrouve également sur plusieurs feuillus des forêts pures ou mixtes. L'utilisation du tébufénozide dans le contrôle des populations de la TBE pourrait s'avérer une alternative intéressante au *Bacillus thuringiensis* : le principal agent de contrôle légalement utilisé dans la lutte contre la TBE au Québec. Dans ce cadre, il est primordial d'étudier la toxicité du tébufénozide chez ces deux espèces, puisque nous savons que dans les forêts mixtes les jeunes larves de la TBO peuvent servir d'hôtes d'hiver à de nombreux parasitoïdes de la TBE et qu'une réduction de leur nombre pourrait affecter négativement la dynamiques des populations du principal ravageur (Maltais et al., 1989). En agriculture, le tébufénozide est utilisé afin de réduire les dommages sur les fruits occasionnés par les larves de TBO dans les vergers de pommiers (Waldstein et Reissig, 2001). Toutefois, une meilleure connaissance des impacts probables de ce produit sur la biologie reproductive de cette espèce, particulièrement au niveau de la communication phéromonale, permettrait, entre autres d'améliorer les programmes de gestion intégrée des ravageurs de cet agro-écosystème.

Ainsi, dans un premier temps, j'ai déterminé trois doses pouvant causer de 15 à 70% de mortalité chez les larves de 4^{ème} stade de *C. fumiferana* et de 5^{ème} stade de *C. rosaceana* avec deux méthode de traitement : traitement à la gouttelette et traitement de la diète. La première méthode consistait à faire ingérer une gouttelette de solution de tébufénozide de concentration connue aux individus, tandis que pour le deuxième mode de traitement, la solution de tébufénozide était déposée sur la surface de la diète et les larves transférées par la suite sur celle-ci. Outre la mortalité, d'autres paramètres chez la larve et la pupa ont été mesurés tels le temps de développement larvaire et pupal ainsi que le poids des individus suivant le traitement. Dans un deuxième temps, tous les individus ayant survécu aux traitements ont été utilisés pour évaluer les effets du tébufénozide sur d'une part, la communication chimique et d'autre part, la reproduction proprement dite.

Le premier objectif de cette étude était donc de déterminer les effets sous-létaux du tébufénozide sur les activités pré-copulatoires liées à la communication chimique chez les mâles et les femelles de *C. fumiferana* et *C. rosaceana*. Les femelles de ces deux espèces, produisent et émettent une phéromone sexuelle pour attirer les mâles lorsqu'elles sont

sexuellement réceptives. La phéromone est produite par une glande exocrine située au niveau de la membrane intersegmentaire reliant les 8^e et 9^e segments abdominaux (Roelofs et Feng, 1968; Weatherston et Percy, 1970). Sa biosynthèse est induite par la présence d'une neurohormone (PBAN) circulant dans l'hémolymphe, mais l'ensemble des mécanismes physiologiques régissant cette activité ne sont pas pleinement compris chez les deux espèces (Delisle et *al.*, 1999). L'émission de la phéromone, considérée sous contrôle neural (Sasaki et *al.*, 1983; Itagaki et Conner, 1986), se fait selon un comportement typique nommé comportement d'appel, consistant en un battement intermittent des ailes et l'évagination de la glande à phéromone. Ces deux activités étroitement liées suivent un rythme circadien et ont lieu à des heures spécifiques du cycle photopériodique (pour une revue voir Delisle et Royer, 1994). De ce fait, j'ai entrepris d'évaluer la périodicité du comportement d'appel et la production des diverses composantes de la phéromone sexuelle chez des femelles de la TBE et de la TBO âgées entre 1 et 5 jours et ayant été traitées avec des concentrations variables de tébufénozide. Par ailleurs, chez les mâles, une brève période de maturation est nécessaire (Outram, 1971; Delisle, 1995), avant l'initiation d'une réponse à la phéromone sexuelle, caractérisée par un vol anémotactique en zig-zag (Cardé et Mafra-Neto, 1997). J'ai donc observé en tunnel de vol le comportement de vol des mâles de la TBE âgés de 2 jours suivant un traitement au tébufénozide. Le succès d'accouplement de couples dont la femelle et/ou le mâle avaient ingéré l'agoniste de l'ecdysone a été également déterminé.

Comme second objectif à cette étude, j'ai examiné si le tébufénozide affectait la maturation ovarienne (seulement chez la TBO), la fécondité et la fertilité femelle et mâle lorsque ces derniers étaient traités au stade larvaire. Les auteurs de deux études publiées au cours de cette recherche (Cadogan et *al.*, 2002; Sundaram et *al.*, 2002), ont rapporté que cet analogue de l'ecdysone ne réduisait pas la fécondité et la fertilité des femelles de *C. fumiferana*. Par contre, Sun et *al.* (2000) ont affirmé qu'il affectait négativement la fécondité et la fertilité des mâles et des femelles de *C. rosaceana* exposés au tébufénozide lors du stade adulte. L'étude simultanée des effets sous-létaux du tébufénozide sur le succès reproducteur de ces deux espèces procure des avantages certains. Les individus ayant tous été traités au stade larvaire et soumis aux mêmes méthodes de traitement, des comparaisons sont donc possibles, permettant ainsi de tirer des conclusions visant à améliorer la gestion des populations de ces deux ravageurs.

CHAPITRE I

LES EFFETS SOUS-LÉTAUX DU TÉBUFÉNOZIDE SUR LES ACTIVITÉS PRÉ-COPULATOIRES ET COPULATOIRES DE *CHORISTONEURA FUMIFERANA* ET *C. ROSACEANA*

Introduction

La recherche de produits de synthèse plus sélectifs et sécuritaires a mené à la découverte des régulateurs de croissance d'insecte qui simulent l'action des hormones de croissance chez les insectes. Le tébufénozide, commercialisé sous le nom de Mimic[®], fait parti de cette nouvelle classe de produit, puisqu'il montre une activité ecdystérogénique spécifique aux Lépidoptères (Smagghe et Degheele, 1994a; Smagghe et *al.*, 1996a; Dhadialla et *al.*, 1998; Sundaram et *al.*, 1998). L'ingestion de cet agoniste non-stéroïdal induit une mue précoce et des anomalies létales chez les larves telles une double capsule céphalique et une cuticule incomplète (Retnakaran et *al.*, 1997a, b; Smagghe et *al.*, 1996b). Son mode d'action est relié à son affinité pour les récepteurs de l'ecdysone des cellules épidermiques (Wing et *al.*, 1988; Retnakaran et *al.*, 1995) et à sa persistance dans l'organisme de l'insecte. Selon Palli et *al.* (1995) et Retnakaran et *al.* (1995), le tébufénozide empêcherait l'expression des gènes normalement activés en l'absence de l'ecdysone endogène.

L'ecdysone produite par les glandes prothoraciques est toujours présente chez l'adulte grâce à sa synthèse par les testicules des mâles (Loeb et *al.*, 1982, 1984) et les ovaires des femelles (Hagerdorn, 1985). Cette hormone gonadotrope joue un rôle clé dans la différenciation et la maturation du système reproducteur mâle (Nowock, 1972, 1973; Shinbo et Happ, 1989) ainsi que dans la production des spermatozoïdes (Dumser, 1980; Thorson et Riemann, 1982; Gelman et *al.*, 1988; Gielbultowicz et *al.*, 1993; Seth et *al.*, 2002; Kawamura et *al.*, 2003) et ce, bien avant le stade adulte. Quant à la femelle, l'ecdysone en concomitance avec l'hormone juvénile régule le développement ovarien chez certaines espèces de papillons nocturnes et diurnes (Ramaswamy et *al.*, 1997).

Très peu d'études ont évalué les effets probables du tébufénozide sur le développement des systèmes reproducteurs mâle et femelle. En effet, Carpenter et *al.* (1994), ont observé que la présence du tébufénozide chez les mâles d'*Helicoverpa zea* induisait une chute du nombre d'eupyènes transférés aux femelles lors de l'accouplement. Chez les femelles de *Spodoptera exigua* et *Plodia interpunctella*, il semble que le tébufénozide ait

perturbé la maturation ovarienne et le développement des œufs en provoquant une résorption des ovarioles et une malformation du chorion (Smaghe et Degheele, 1994a; Salem et *al.*, 1997). En ce qui concerne la reproduction proprement dite, laquelle a été la plus largement étudiée, les effets du tébufénozide sur la fécondité et la fertilité se sont avérés très variables suivant le stade de développement au moment du traitement ou la méthode de traitement utilisée et ce, non seulement à un niveau interspécifique mais aussi intraspécifique (Tableau 1). Par ailleurs, à notre connaissance, les effets d'analogues de l'ecdysone sur les activités pré-copulatoires associées à la communication chimique chez les deux sexes n'ont fait l'objet d'aucune étude.

Dans le cadre de la présente étude nous avons donc entrepris des expériences afin d'évaluer les effets sous-létaux du tébufénozide tant au niveau des activités pré-copulatoires impliquant la production, l'émission et la détection de la phéromone sexuelle que de la maturation ovarienne et du pouvoir reproducteur des deux sexes (fécondité, fertilité et production des spermatozoïdes) chez la tordeuse des bourgeons de l'épinette (TBE), *C. fumiferana* et la tordeuse à bandes obliques (TBO), *C. rosaceana*, en ciblant les stades larvaires avancés et ce, selon deux méthodes de traitement. Par ailleurs, l'incidence de la mortalité et les effets sur le développement des larves et des pupes sont également présentés.

Méthodologie

Élevage des insectes

Les larves de *Choristoneura fumiferana* (TBE) post-diapausantes provenaient de l'Institut de Gestion des Ravageurs des Forêts (Centre de foresterie des Grands Lacs) du Service Canadien des Forêts (Sault-Ste-Marie, Ontario). Les larves ont été élevées du 2^{ème} au 4^{ème} stade larvaire sur des nouvelles pousses de sapin baumier puisque la diète artificielle est connue pour diminuer le potentiel reproducteur des mâles et des femelles de la TBE contrairement au jeune feuillage de sapin (Delisle et Hardy, 1997). Les larves de *C. rosaceana* (TBO) provenaient d'une colonie de laboratoire renouvelée annuellement avec des larves et des pupes collectées dans la ville de Québec. Ces dernières ont été nourries individuellement sur une diète de fèves Pinto (Shorey et Hale, 1965), puisque contrairement à la TBE, la diète artificielle n'affecte pas négativement le succès reproducteur des deux sexes et est ainsi comparable au feuillage de bonne qualité, tel l'érable de Pennsylvanie (Delisle et Bouchard, 1995). Les deux espèces ont été élevées dans une seule chambre de croissance à $20\pm 1.0^{\circ}\text{C}$, $65\pm 5\%$ h. r, sous une photopériode de 16L:8D, les lumières fermant à 09:00 et ouvrant à 17:00.

Traitements

Méthode de la gouttelette :

Une formulation de tébufénozide (RH-5992 2F, 240g/L d'ingrédient actif) obtenue de la compagnie Dow Agrosiences (Indianapolis, IN et manufacturée par la compagnie Rohm and Haas), a été diluée dans de l'eau bidistillée afin d'obtenir 5, 10 et 15 ng/ μl pour les traitements de la TBE ainsi que 60, 120 et 180 ng/ μl pour les traitement de la TBO. Chaque solution a été préparée pour réaliser des traitements pendant 3 jours consécutifs. Une pompe à injection multiple (Cole-Parmer, 74900 series) équipée avec une seringue tuberculine de 0.25 cm³ et une aiguille Hamilton de calibre 31 (model KF731) a été utilisée pour appliquer une gouttelette de 0.5 μl de concentrations variables au fond d'un tube (0.25 ml) à microcentrifuge de polypropylène (van Frankenhuyzen et *al.*, 1997). Les

larves nouvellement émergées ont été transférées dans des contenants individuels pour un jeûne de 24 h. Par la suite, chaque larve a été déposée au hasard dans un tube à microcentrifuge afin qu'elle ingurgite la solution de tébufénozide. Les individus témoins ont reçu de l'eau bidistillée seulement. Subséquemment, les tubes ont été disposés sous une source lumineuse pour 2 h afin de stimuler l'ingestion de la gouttelette par les larves. Seuls les individus ayant ingéré complètement la gouttelette ont été retenus comme sujet expérimental et transférés dans un contenant SOLO[®] de 28 ml.

Des larves de 4^{ème} stade de la TBE ont été utilisées lors des traitements à la gouttelette étant donné que, lors des épidémies, les applications d'agents de contrôle visent préférentiellement ce stade de développement (Pedersen et *al.*, 1997). Par ailleurs, les individus de la TBO ont été traités au 5^{ème} stade larvaire puisque la majorité des larves chez cette espèce passent l'hiver en diapause au 4^{ème} stade (Maltais et *al.*, 1989). Les larves de TBE traitées ont reçu des pousses fraîches de sapin baumier à chaque 2 jour tandis que les larves de la TBO ont été nourries à nouveau avec une diète de fèves Pinto.

Méthode de traitement de la diète :

Des solutions de tébufénozide diluées dans de l'eau bidistillée à des concentrations de 0.05, 0.10 et 0.15 ng/μl ont été préparées 24 h avant les traitements. Les surfaces (10 cm²) de la diète de fèves Pinto, disposée dans un contenant SOLO[®], ont été traitées avec 0.5 ml de solution le jour du traitement et laissées à sécher durant 4 h. Par la suite, les larves ayant nouvellement mué et jeûné depuis 24 h ont été transférées au hasard sur la surface traitée. Seuls les larves de la TBO ont été soumis à cette méthode de traitement. Finalement, pour chaque dose et méthode de traitement, l'incidence de la mortalité et le temps de développement larvaire et pupal ainsi que le poids des pupes (TBO) ou des adultes à l'émergence (TBE) ont été déterminés chez les deux espèces.

Comportement d'appel

Chaque femelle nouvellement émergée a été placée dans une cage de plastique transparente (150 cm³) contenant une solution de sucrose à 8% afin d'étudier leur comportement d'appel. Chaque femelle a été observée à un intervalle de 15 min pendant toute la durée de la scotophase à l'aide d'une lampe de poche recouverte d'un filtre de gélatine rouge de marque Kodak Wratten 29. Les observations de ce comportement chez la TBE ont débuté 2h (de 7h00 à 17h00) avant le début de la scotophase tel que rapporté par Delisle et *al.* (1999), tandis que les observations chez la TBO ont débuté à la fermeture des lumières (9h00 à 17h00) (Delisle, 1992). L'âge auquel les femelles ont initié l'appel pour la première fois, l'heure moyen d'initiation de l'appel (HMIA) et le temps moyenne d'appel (TMA) ont été déterminés pour les individus témoins et traités, et ce, pour les 5 jours consécutifs suivant l'émergence. Pour chaque concentration testée, un minimum de 15 femelles ont été examinées.

Extraction de la glande et quantification de la phéromone

Les glandes à phéromone de femelles vierges témoins et traitées âgées de 1, 3 et 5 jours ont été excisées 2 h suivant le début de la scotophase, ce qui correspond au pic d'activité de l'appel chez les deux espèces (Delisle et *al.*, 1999). Les glandes excisées ont été plongées pour 20 min dans 20 µl d'hexane contenant 1.5 ng d'acide dodécanoïque méthyle ester (C₁₃H₂₆O₂) (Sigma Chemical co., St. Louis, MO, USA) comme standard interne (Delisle et Royer, 1994). La composante majeure de la phéromone sexuelle de la TBE, (E)-11-tétradécenal (E11-14:Ald) (Silk et al., 1980), et de la TBO, (Z)-11-tétradécenyl acétate (Z11-14:Ac) (Hill et Roelofs, 1979), a été quantifiée à l'aide d'un chromatographe à phase gazeuse selon la procédure préalablement décrite par Delisle et *al.* (1999). Un minimum de 10 glandes pour chaque catégorie d'âge et de concentration ont été quantifiées.

Maturation ovarienne

Des femelles TBO vierges âgées de 1, 3 et 5 jours ont été congelées et disséquées subséquentement sous un microscope optique afin de compter le nombre d'œufs matures par ovaires. Puisque les femelles vierges de la TBO ne pondent pas d'œufs infertiles comparativement à des femelles vierges d'autres espèces (Delisle et Simard, 2002), seuls les œufs matures situés dans les ovaires ont été dénombrés. Afin de prévenir la dessiccation, les ovaires ont été humectés d'une solution saline physiologique (Parrish et al., 1985) puis colorés avec une petite quantité d'une solution de 5 mg de bleu trypan (Mallinckrodt, Paris) dissout dans 100 ml d'éthanol à 70%. Les œufs chorionnés étaient facilement distingués des follicules en développement par leur couleur bleu pâle plutôt que bleu-noir. La difficulté d'approvisionnement en larves de la TBE a empêché de répéter l'expérience chez cette espèce.

Réponse à la phéromone synthétique par les mâles en tunnel de vol

Le comportement de vol des mâles a été étudié dans un tunnel de vol (290 cm de longueur, 120 cm de largeur et 100 cm de hauteur) localisé dans une chambre de croissance environnementale maintenue à $20 \pm 0.5^\circ\text{C}$ et une h. r. entre 50 et 70%. Deux lumières blanches, chacune disposée de chaque côté du tunnel, ont été atténuées par du papier brun afin d'atteindre une illumination de 35 lx. La vitesse du vent a été maintenue entre 40 et 50 m/s. Un cap à phéromone commercial BioLure (Oregon, U.S.A.) a été utilisé comme source phéromonale et disposé sur une plateforme à une hauteur de 25 cm au début de chaque jour d'essai.

Les mâles âgés de 2 jours ont été placés dans une cagette de grillage de fer (3 cm de diamètre par 4 cm de hauteur et fermée par un bouchon de mousse) avant le commencement de la scotophase et transférés immédiatement dans la chambre environnementale à des fins d'acclimatation. Les mâles provenant de chaque traitements étaient examinés lors de chaque essai. Le vol des mâles a été évalué entre la 1^{ère} et la 3^{ème} h suivant la fermeture des lumières. Les paramètres comportementaux suivants ont été examinés : le temps écoulé avant le décollage, le vol orienté anémotactique, le contact

avec la source phéromonale et la durée du temps de vol. Les mâles dont les ailes et les antennes étaient déformées ainsi que ceux s'étant dirigé directement vers les murs du tunnel de vol ou n'ayant pas décollé après 2 min étaient considérés comme non-répondant. Seule la performance des mâles de *C. fumiferana* a été examinée, suite à l'impossibilité, pour des raisons inconnues, de faire voler les mâles de *C. rosaceana* dans le tunnel de vol.

Accouplement, fécondité et fertilité

Trois catégories de couples selon que la femelle, le mâle ou les deux sexes aient été traités, ont été formés afin d'évaluer les changements liés au sexe dans le succès d'accouplement, la fécondité et la fertilité, et ce en les comparant à un groupe de couples témoins. Chez la TBE, des couples ont été formés uniquement entre les témoins et les individus traités avec la dose la plus élevée, tandis que les différentes catégories de couples chez la TBO ont été testées pour l'ensemble des concentrations. Dans toutes les expériences, les femelles nouvellement émergées ont été combinées avec un mâle âgé de 2 jours dans une cagette de plastique transparente avant la fermeture des lumières. Les couples ont été examinés à toutes les 30 min. À la fin de la scotophase, les femelles ont été gardées à l'intérieur des cagettes avec un carré de papier ciré servant de site de ponte alors que les mâles ont été retirés. Les femelles ont reçu un nouveau site d'oviposition de manière journalière. Le nombre d'œufs pondus ainsi que le nombre d'œufs fertiles et infertiles produits par les femelles témoins et traitées ont été notés.

Comptage des spermatozoïdes

Le décompte et la dilution des spermatozoïdes eupyènes et apyènes dans le spermatophore et la spermathèque de femelles témoins âgées de 1 jour accouplées avec des mâles témoins ou traités âgées de 2 jours, ont été réalisés selon la méthodologie décrite par Marcotte et *al.* (2003). Alors, que la dissection du spermatophore s'est faite dans les minutes suivant la fin de l'accouplement, celle de la spermathèque a eu lieu 24 h plus tard, soit le temps requis pour que la majorité des spermatozoïdes se déplacent vers

cet organe (Marcotte et *al.*, 2003). Seules les larves de la TBO traitées selon la méthode de la gouttelette et du traitement de la diète ont été examinées.

Analyses statistiques

La mortalité pour chaque traitement a été déterminée par une analyse logit à l'aide de la procédure GLIMMIX de SAS/STAT (SAS Institute, 1990). Une transformation $1/\log X$ pour le développement larvaire et total ainsi qu'une transformation logarithmique pour le développement pupal ont été utilisées afin de stabiliser la variance et normaliser les résidus. De plus, une transformation de puissance basée sur la méthode de Box (Box et *al.*, 1978) a été réalisée sur les données du poids pupal. Les données transformées ont été traitées à l'aide d'une ANOVA en utilisant le sexe et la dose comme effets principaux.

Les données du HMIA et du TMA ont subi une transformation logarithmique afin d'obtenir l'homoscédasticité de la variance, tandis que les données concernant les titres de phéromone et le nombre d'œufs matures n'ont pas fait l'objet de transformation. Les données transformées ou non ont été, par la suite, soumises à une ANOVA où l'âge de la femelle et la concentration de tébufénozide étaient les principaux effets. Étant donné que l'hypothèse de l'homoscédasticité a été respectée, les données de fécondité ont été directement analysées à l'aide d'une ANOVA en utilisant la dose femelle et la dose mâle comme effets principaux. L'ensemble de ces analyses a été réalisé selon la procédure PROC MIXED (HMIA et TMA avec mesures répétées) de SAS/STAT. Pour l'ensemble de ces ANOVA, les moyennes ont été comparées avec des contrastes orthogonaux.

Les données portant sur l'âge d'appel (comportement d'appel), le succès d'accouplement, le pourcentage de fertilité des femelles, la proportion de mâle ayant décollé, performé un vol orienté ou contacté le leurre dans un tunnel de vol ont toutes été soumises à une analyse du Chi-carré (χ^2) en utilisant la procédure GENMOD (Generalized linear models) de SAS/STAT. Pour chaque figure ou tableau les moyennes sont exprimées comme étant la moyenne des carrés des valeurs retransformées avec un intervalle de confiance à 95%.

Résultats

Effets du tébufénozide sur le développement

Chez les deux espèces, la mortalité larvaire augmente linéairement avec la dose (TBE, $p < 0.001$; TBO-G, $p < 0.001$; TBO-D, $p < 0.001$) de tébufénozide ingérée, tandis que la mortalité pupale demeure stable (TBE, $p = 0.78$; TBO-G, $p = 0.52$; TBO-D, $p = 0.48$), et ce, pour les deux méthodes de traitement (Tableau 2). Conséquemment, la mortalité totale obtenue suite à nos traitements augmente de façon linéaire et atteint ainsi aux concentrations les plus élevées 71% chez la TBE, 62% chez la TBO-G (TBO méthode de la gouttelette) et 78% chez la TBO-D (TBO méthode de la diète). Les effets du tébufénozide chez les larves étaient facilement identifiables, puisqu'elles avaient généralement une double capsule céphalique et une cuticule incomplète. Par contre, les effets chez les pupes étaient plus subtils, les déformités variant de légères à sévères. Également, les anomalies pupales étaient plus fréquentes chez les individus traités avec la méthode de la diète qu'avec celle de la gouttelette (observations personnelles). D'après les résultats obtenus avec la méthode de la gouttelette, le tébufénozide s'est avéré plus toxique envers les larves de *C. fumiferana* que celles de *C. rosaceana*. En effet, une dose aussi faible que 5 ng/ul de tébufénozide a causé 50% de mortalité chez la TBE, comparativement à une dose située entre 60 ng/μl et 120 ng/μl chez la TBO, ce qui représente au minimum une augmentation de 12 fois de la dose-réponse.

Quelle que soit l'espèce ou la méthode de traitement utilisée, le temps de développement larvaire et total augmente linéairement avec la dose de tébufénozide ingérée (TBE, $p < 0.001$; TBO-G, $p < 0.001$; TBO-D, $p < 0.001$), tandis que le temps de développement de la pupa ne varie pas significativement (TBE, $p = 0.23$; TBO-G, $p = 0.06$; TBO-D, $p = 0.27$) (Fig. 1). De façon générale, les doses induisant la plus forte mortalité (Tableau 2) ont les effets les plus marqués sur le temps de développement des survivants. Cependant, l'importance de ces effets varie selon l'espèce ou la méthode de traitement. En effet, le délai dans le temps de développement total entre les témoins et les individus traités avec la dose la plus élevée est de 1 jour chez la TBE, tandis qu'il est de 2 jours chez la TBO-G et de 3 jours chez la TBO-D.

Le poids des mâles et des femelles de la TBE ($p = 0.72$) et de la TBO ($p = 0.07$) traités avec la méthode de la gouttelette n'est pas affecté par le tébufénozide (Fig. 2). Par contre, chez la TBO, le tébufénozide réduit linéairement le poids pupal des deux sexes traités avec la méthode de la diète (interaction, $p < 0.001$), les femelles étant plus affectées. Les mâles ayant ingéré la plus forte concentration de tébufénozide ont un poids pupal moyen inférieur de 8 mg comparativement aux mâles témoins. Également, les femelles ayant reçu la même dose pèsent en moyenne 20 mg de moins que les femelles témoins, ce qui correspond à une perte d'environ un sixième de leur poids corporel.

Effets du tébufénozide sur la biologie des adultes

Malgré une certaine variabilité entre les méthodes de traitements, le tébufénozide n'a pas influencé significativement l'âge auquel les femelles ont initié le comportement d'appel pour la première fois ($p = 0.50$). En effet, chez les individus traités avec les plus fortes doses, 88% des femelles de la TBE et de la TBO-G ont appelé lors de leur première nuit suivant l'émergence, comparativement à 75% chez les femelles TBO-D.

Chez la TBE, les femelles âgées de 1 jour ont débuté le comportement d'appel une heure plus tard que les femelles témoins ($p = 0.0025$), tel que déterminée par l'heure moyenne d'initiation de l'appel (HMIA) (Fig. 3). Chez les femelles plus âgées, l'heure d'initiation de l'appel a eu lieu de plus en plus tôt avec l'âge et n'a pas varié selon les traitements ($p > 0.05$). Également, le tébufénozide n'a pas affecté l'heure du début d'appel des femelles de la TBO, malgré que les femelles TBO-D, ayant ingéré la concentration la plus élevée du produit, aient initié l'appel toujours plus tard que les témoins et ce, pour les cinq nuits consécutives d'appel ($p = 0.28$) (Fig. 3). Le temps moyen d'appel (TMA), qui augmente à mesure que les femelles vieillissent, n'a pas varié significativement suivant un traitement au tébufénozide chez les femelles de la TBE ($p = 0.39$) et de la TBO traitées avec les deux méthodes de traitements (TBO-G = 0.83; TBO-D = 0.25) (Fig. 4). Cependant, il est important de noter que les femelles TBO-D traitées avec la plus forte dose ont appelé moins longtemps que les femelles témoins lors des cinq nuits consécutives d'appel.

La production, par les femelles de la TBE, de la composante majeure de la phéromone sexuelle, E11-14 :Ald, n'a pas varié de façon significative suivant un traitement au tébufénozide ($p > 0.05$) et ce, quel que soit l'âge de la femelle (Tableau 3). De façon similaire, le déclin du Z11-14 :Ac avec l'âge (TBO-G, $p = 0.0007$; TBO-D, $p = 0.01$) n'a pas été affecté différemment par l'ingestion de doses variables de tébufénozide par les femelles TBO-G ($p \gg 0.05$) et TBO-D ($p \gg 0.05$) (Tableau 3).

Le tébufénozide a perturbé la maturation ovarienne chez les femelles TBO-G puisque le nombre total d'œufs matures produits a diminué linéairement à mesure que la dose du produit ingérée augmentait ($p = 0.01$) (Fig. 5). Également, le tébufénozide a affecté négativement le développement ovarien chez les femelles TBO traitées avec la méthode de la diète, les effets variant selon la dose ingérée et l'âge de la femelle (interaction, $p = 0.015$) (Fig. 6). En effet, les femelles traitées âgées de 1 jour ont toutes produit un nombre inférieur d'œufs chorionnés comparativement aux femelles témoins. Par contre, seules les femelles de 3 jours, ayant ingéré 0.1 ng/ μ l et 0.15 ng/ μ l, ont montré un développement ovarien réduit, tandis que l'ensemble des femelles de 5 jours ont produit un nombre similaire d'œufs matures. Ainsi, il semble que les femelles traitées ont eu une maturation ovarienne plus lente, et de ce fait, ne développeront jamais un nombre optimal d'œufs matures comparativement aux femelles témoins.

La première étape de l'activité de vol des mâles de la TBE traités au tébufénozide n'a pas été affectée, puisque le temps requis pour le décollage ($p > 0.05$) et le pourcentage de mâles ayant décollé ($p = 0.09$) ne diffèrent pas de ceux des témoins (Tableau 4). Parmi les mâles qui ont décollé, ceux ayant reçu la plus faible concentration de tébufénozide (5 ng/ μ l) ont eu significativement plus de difficulté à exécuter un vol orienté ($p = 0.018$). Par contre, parmi les mâles qui ont initié un vol orienté, la proportion qui a atteint la source phéromonale n'a pas diminué significativement comparativement aux témoins ($p = 0.25$). Cependant, la vitesse de vol de ces derniers a été marginalement inférieure chez les mâles ayant ingéré la plus faible concentration de tébufénozide ($p = 0.05$).

Le succès d'accouplement de la TBE n'a pas été affecté négativement par le tébufénozide, malgré une légère chute chez les couples dont le mâle avait été traité ($p =$

0.38) (Tableau 5). De façon similaire, les couples de la TBO traités avec la méthode de la gouttelette ont eu autant de succès que les couples témoins, sans égards aux concentrations de l'agoniste ou du sexe traité ($p > 0.05$). Cependant, les mâles TBO-D ont été négativement affectés puisque le succès d'accouplement a été significativement plus faible ($p < 0.001$) chez les couples dont le mâle avait ingéré 0.10 ng/ μ l ou 0.15 ng/ μ l de tébufénozide.

La fécondité ($p > 0.05$) ainsi que la fertilité ($p > 0.05$) de la TBE n'ont pas varié selon que la femelle, le mâle ou les deux sexes aient été traités avec le tébufénozide (Tableau 5). De façon similaire, le succès reproducteur des individus TBO-G est demeuré le même nonobstant la dose à laquelle les femelles, les mâles ou les deux sexes ont été traités ($p > 0.05$). Par contre, le tébufénozide a diminué le nombre d'œufs pondus ($p = 0.02$) lorsque seules les femelles TBO ont été traitées avec la méthode de la diète. Finalement, la fertilité ($p > 0.05$) des femelles TBO-D n'a pas varié selon que l'un des deux sexes ou les deux aient ingéré l'agoniste de l'ecdysone.

La présence du tébufénozide chez les mâles TBO-G n'a pas modifié le poids du spermatophore transféré à la femelle ($p = 0.6$), de même que le nombre de spermatozoïdes apyrènes et eupyrènes présents dans le spermatophore (apyrène, $p = 0.6$; eupyrène, $p = 0.5$) ou la spermathèque (apyrène, $p = 0.3$; eupyrène, $p = 0.42$) (données non présentées). Par contre, l'ingestion de tébufénozide par les mâles TBO-D a perturbé leur système reproducteur, puisque le poids du spermatophore ($p = 0.004$) et son contenu en eupyrènes ($p = 0.02$) ainsi que le nombre d'eupyrènes ayant migré vers la spermathèque ($p = 0.001$) a diminué linéairement avec la dose, sans toutefois modifier le nombre d'apyrènes dans le spermatophore, ($p = 0.4$) ou la spermathèque ($p = 0.9$) (Fig. 7).

Tableau 1. Les effets du tébufénozide sur la fécondité et la fertilité chez plusieurs espèces de Lépidoptères.

Famille	Espèce	Stade traité	Méthode de traitement	Fécondité	Fertilité	Références
<i>Crambidae</i>	<i>Diatraea saccharalis</i>	Larve	Diète traitée	↓		Rodriguez et al., 2001
<i>Noctuidae</i>	<i>Helicoverpa zea</i>	Larve	Diète traitée	—	↓ Γ	Carpenter et Chandler, 1994
	<i>Spodoptera exigua</i>	Adulte	Ingestion de la solution	↓	—	Smagghe et Degheele., 1994a
	<i>Spodoptera littoralis</i>	Larve	Feuillage traitée	—		Ishaaya et al., 1995
		Adulte	Contact	↓	↓	Knight, 2000
<i>Pyralidae</i>	<i>Plodia interpunctella</i>	Larve	Diète traité	↓		Smagghe et al., 1996c
<i>Tortricidae</i>	<i>Choristoneura fumiferana</i>	Larve	Feuillage traité	—	—	Cadogan et al., 2002
		Pupe	Injection	↓		Cadogan et al., 2002 Sundaram et al., 2002
	<i>Choristoneura rosaceana</i>	Adulte	Contact	↓	↓ Γ et E	Sun et al., 2000
	<i>Argyrotaenia velutinana</i>	Adulte	Contact	↓	↓ Γ	Sun et al., 2000
	<i>Cydia pomonella</i>	Adulte	Contact	↓	↓	Sun et Barrett, 1999
	<i>Platynota idaeusalis</i>	Larve	Diète traitée	↓		Biddinger et Hull, 1999
	<i>Eupoecilia ambiguella</i>	Adulte	Contact	↓	↓	Charmillot et al., 1994
	<i>Lobesia botrana</i>	Adulte	Contact	↓	↓	Charmillot et al., 1994

↓ représente un effet de diminution, tandis que — indique qu'il n'y a eu aucun effet.

Tableau 2. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur l'incidence de la mortalité larvaire, pupale et totale résultant du traitement des larves de 4^{ème} stade chez la TBE et de 5^{ème} stade chez la TBO par la méthode de la gouttelette et/ou de la diète.

Espèce	Méthode de traitement	N	Doses (ng/µl)	% Mortalité		
				larvaire	pupale	totale
TBE	Gouttelette	448	0	12	7	19
		292	5	33	17	50
		362	10	57	17	74
		586	15	65	6	71
TBO	Gouttelette	368	0	10	14	24
		196	60	18	18	36
		271	120	49	7	56
		306	180	55	7	62
TBO	Diète	1547	0	5	12	17
		502	0.05	16	16	32
		586	0.10	34	18	52
		1010	0.15	63	15	78

Tableau 3. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur la quantité de phéromone présente dans les glandes de femelles vierges âgées de 1, 3 et 5 jours chez la TBE (E11-14 : Ald) et la TBO (Z11-14 : AC) traitées au 4^{ème} et 5^{ème} stade larvaire respectivement, selon la méthode de la gouttelette (A, B) ou de la diète (C).

A. TBE – Traitement à la gouttelette

Âge (jours)	E11-14 :Ald (ng) pour chaque dose (ng/µl)			
	0	5	10	15
1	2.7 (1.9-4.0)	2.6 (1.7-4.0)	2.0 (1.2-3.5)	2.2 (1.3-3.8)
3	3.5 (2.4-5.5)	2.9 (1.9-4.7)	4.0 (2.4-7.6)	2.8 (2.0-1.3)
5	3.4 (2.2-5.6)	2.6 (1.8-4.1)	4.0 (2.6-6.7)	4.9 (3.0-8.8)

B. TBO – Traitement à la gouttelette

Âge (jours)	Z11-14 :Ac (ng) pour chaque dose (ng/µl)			
	0	60	120	180
1	55.6 (38.5-72.7)	48.0 (25.4-70.6)	53.3 (36.0-70.7)	46.5 (26.2-66.7)
3	47.1 (29.9-64.2)	44.4 (22.3-66.6)	38.6 (21.5-55.6)	49.2 (27.3-71.0)
5	27.3 (11.1-43.4)	16.9 (0-40.1)	27.6 (11.6-43.5)	23.3 (3.3-43.3)

C. TBO – Traitement de la diète

Âge (jours)	Z11-14 :Ac (ng) pour chaque dose (ng/µl)			
	0	0.05	0.10	0.15
1	56.3 (21.6-172.2)	37.4 (18.7-81.3)	29.4 (14.3-66.2)	39.8 (21.4-79.0)
3	18.7 (6.0-73.2)	42.1 (14.7-146.4)	36.7 (18.4-79.6)	33.6 (18.3-65.4)
5	23.3 (4.7-190.7)	17.1 (8.3-38.8)	10.1 (5.4-19.9)	13.7 (8.0-24.4)

Tableau 4. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur divers paramètres du comportement de vol des mâles de la TBE testés en tunnel de vol suite au traitement des larves de 4^{ème} stade par la méthode de la gouttelette.

Dose (ng/μl)	N	Temps avant le décollage (sec)	Décollage		Vol orienté		Contact		Vitesse de vol	
			N	%	N	%	N	%	N	(m/sec)
0	38	27.8 (46.2-14.7)	25	66 (50-79)	17	68 (51-86)	7	41 (21-64)	7	10 (7-12)
5	35	19.7 (50.1-16.7)	24	88 (73-96)	9	38 (21-58)	5	55 (25-82)	5	5 (1-8)
10	20	32.6 (35.0-9.6)	13	69 (52-82)	10	77 (48-92)	2	20 (5-54)	2	5 (1-10)
15	33	37.0 (46.1-12.1)	19	79 (59-91)	10	53 (31-73)	3	30 (10-62)	3	7 (3-12)

Les valeurs entre parenthèses correspondent à des intervalles de confiance à 95%.

Tableau 5. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur le succès d'accouplement, la fécondité et le pourcentage de fertilité obtenus chez la TBE et la TBO à partir de couples dont l'un ou les deux sexes ont été traités 4^{ème} ou 5^{ème} au stade larvaire selon la méthode de la gouttelette (G) ou de la diète (D).

Espèce – Traitement	N	Dose (ng/μ l)	Sexe traité	Succès d'accouplement	Fécondité	% Fertilité	
TBE - G	20	0	Les deux	82 (62–92)	184 (150-218)	67 (52-82)	
	18	15	Mâle	72 (47–88)	198 (156-240)	73 (55-92)	
	12	15	Femelle	81 (61–92)	196 (162-230)	55 (40-70)	
	13	15	Les deux	72 (47–88)	158 (118-197)	63 (46-81)	
TBO – G	131	0	Les deux	75 (67-81)	653 (543-763)	64 (55-74)	
	21	60	Mâle	75 (63-84)	712 (498-925)	73 (54-93)	
	53	60	Femelle	71 (54-84)	629 (438-820)	57 (41-73)	
	21	60	Les deux	72 (55-84)	554 (349-759)	49 (30-68)	
	17	120	Mâle	83 (71-91)	608 (347-869)	61 (39-82)	
	50	120	Femelle	85 (66-95)	764 (573-955)	65 (49-81)	
	16	120	Les deux	91 (75-97)	642 (429-856)	51 (33-69)	
	20	180	Mâle	76 (63-86)	446 (232-659)	44 (25-64)	
	45	180	Femelle	72 (54-85)	504 (307-702)	48 (32-65)	
	20	180	Les deux	73 (56-86)	602 (398-808)	51 (33-68)	
	TBO – D	120	0	Les deux	83 (76 - 87)	511 (408-615)	61 (52-70)
		19	0.05	Mâle	76 (64-85)	495 (321-670)	68 (53-84)
55		0.05	Femelle	78 (62-89)	551 (383-720)	67 (52-81)	
23		0.05	Les deux	56 (45 – 69)	487 (318-656)	53 (40-67)	
19		0.10	Mâle	53 (43-63)	505 (330-679)	54 (39-70)	
85		0.10	Femelle	78 (63-88)	357 (188-525)	65 (49-80)	
27		0.10	Les deux	45 (30-61)	512 (315-709)	65 (47-82)	
15		0.15	Mâle	56 (45-66)	543 (368-717)	59 (43-74)	
79		0.15	Femelle	80 (66-89)	429 (254-603)	53 (39-69)	
33		0.15	Les deux	51 (36-66)	318 (155-481)	59 (43-74)	

Les valeurs entre parenthèses correspondent à des intervalles de confiances à 95%.

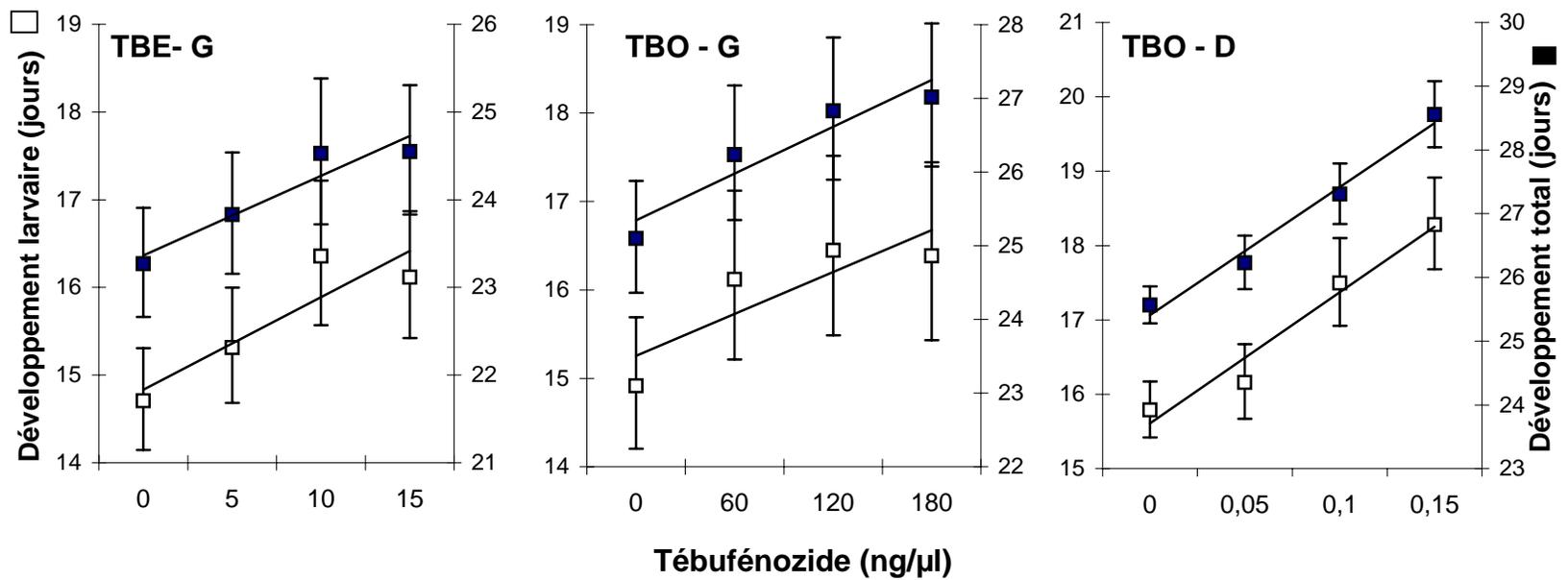


Figure 1. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur le temps de développement larvaire et total obtenus chez la TBE et la TBO traitées au 4^{ème} ou 5^{ème} stade respectivement, selon la méthode de la gouttelette (G) ou de la diète (D).

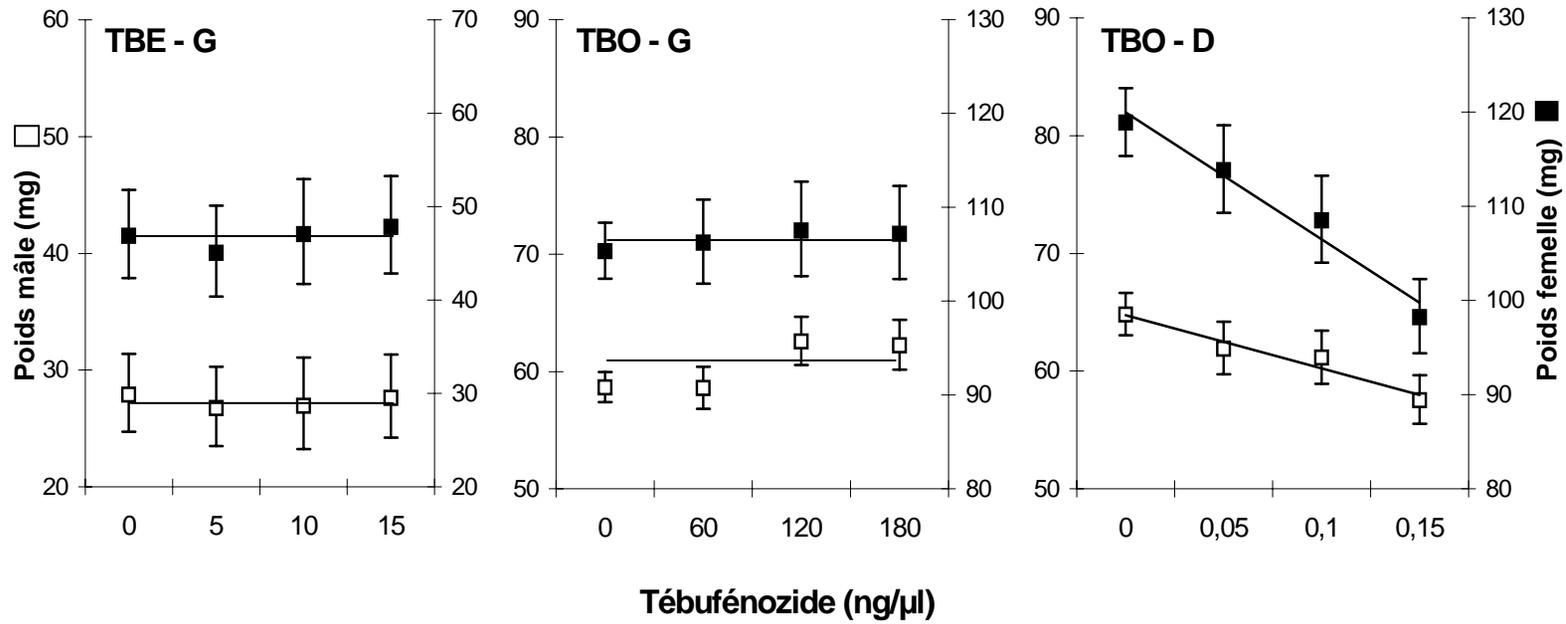


Figure 2. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur le poids des mâles et des femelles chez la TBE (poids à l'émergence) et la TBO (poids au stade pupé) traitées au 4^{ème} ou 5^{ème} stade larvaire respectivement, selon la méthode de la gouttelette (G) ou de la diète (D).

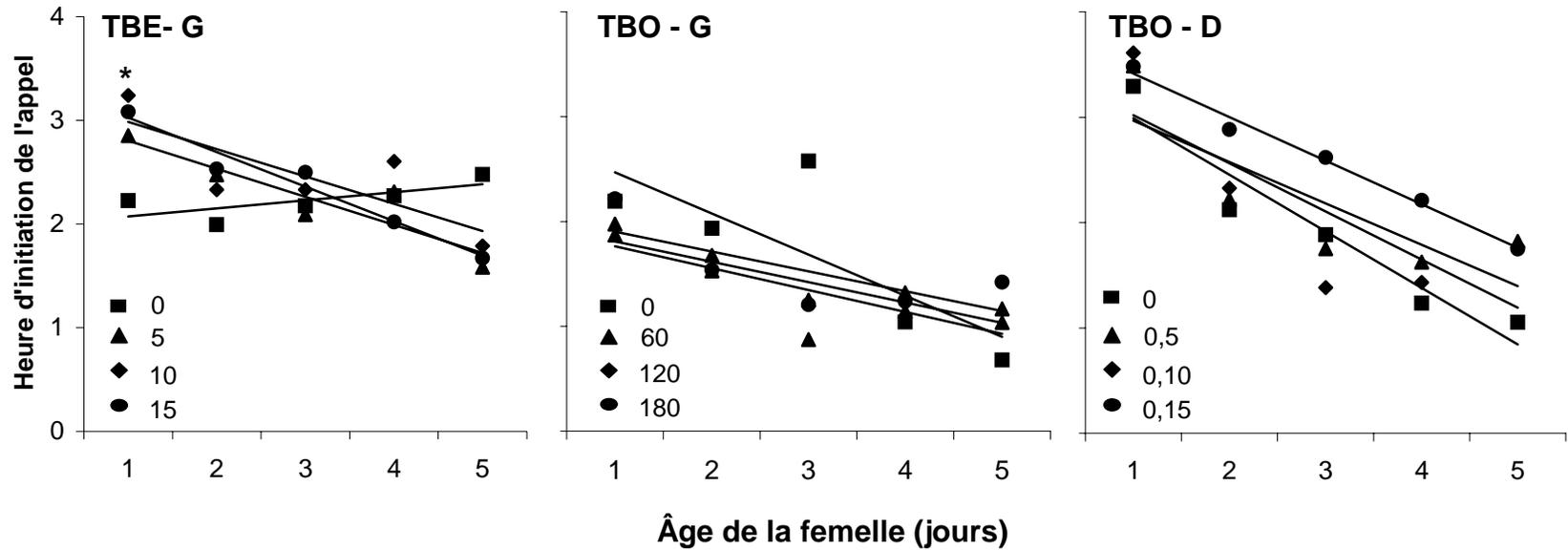


Figure 3. Les effets de différentes doses de tébufénozide ($\mu\text{g}/\mu\text{l}$) sur l'heure moyenne d'initiation de l'appel obtenue pour chacune des cinq premières nuits suivant l'émergence chez des femelles de la TBE et de la TBO traitées au 4^{ème} ou 5^{ème} stade larvaire, selon la méthode de la gouttelette (G) ou de la diète (D). Les valeurs avec * indiquent une différence significative à des intervalles de confiance à 95%.

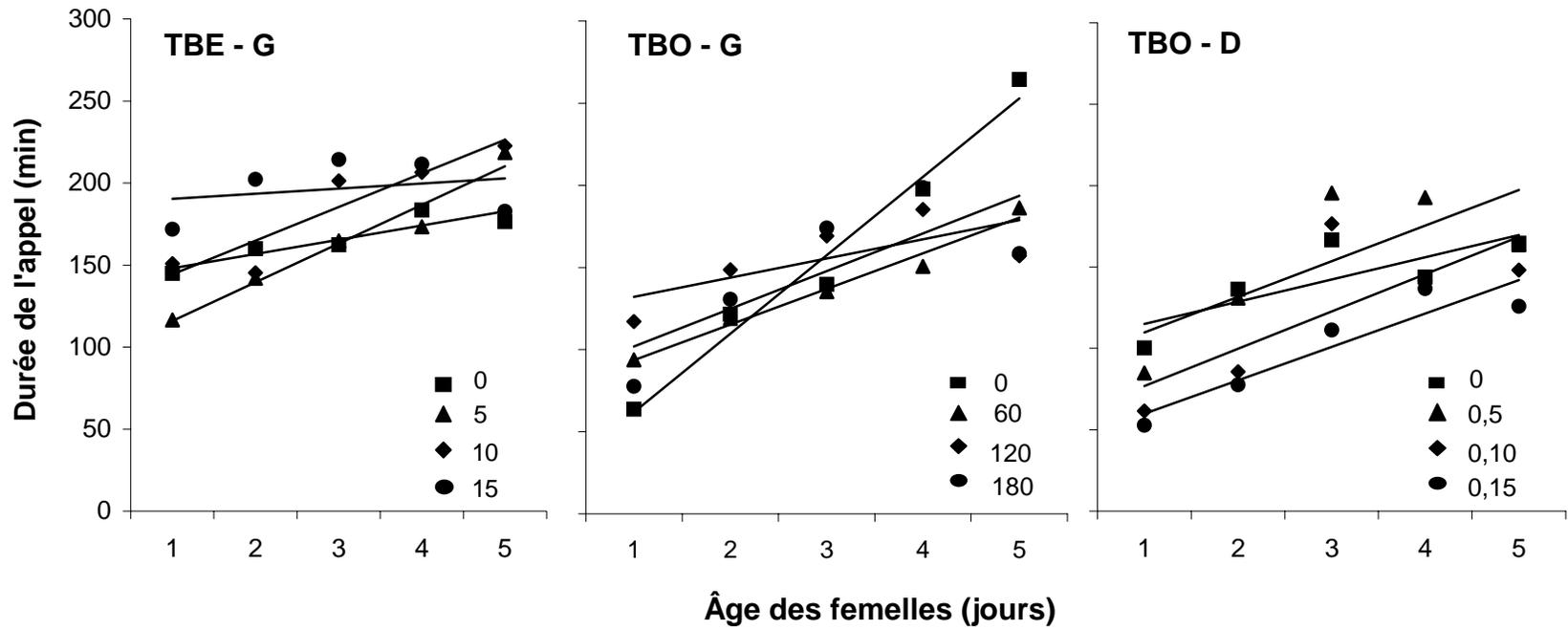


Figure 4. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur la durée moyenne de l'appel pour chacune des cinq nuits suivant l'émergence chez les femelles vierges de la TBE et de la TBO traitées au 4^{ème} ou 5^{ème} stade larvaire respectivement, selon la méthode de la gouttelette (G) ou de la diète (D).

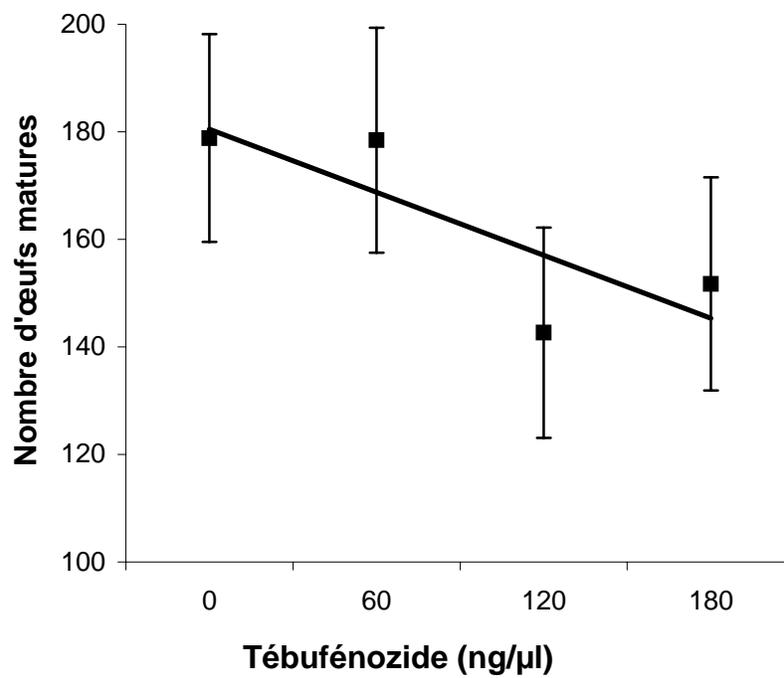


Figure 5. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur le nombre d'œufs matures produits par des femelles vierges de la TBO traitées au 5^{ème} stade larvaire par la méthode de la gouttelette.

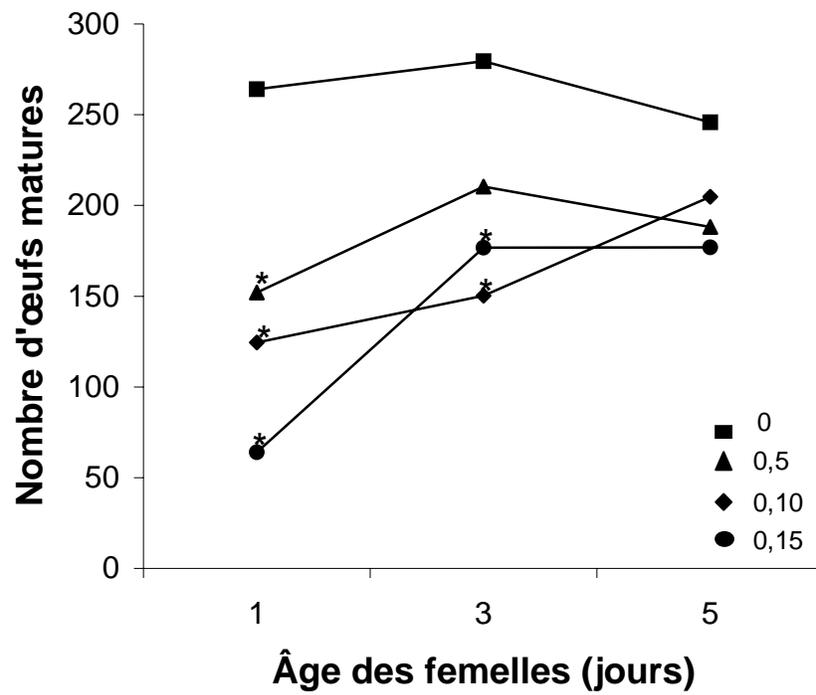


Figure 6. Les effets de différentes doses de tébufénozide (ng/μl) sur le nombre d'œufs matures produits par des femelles vierges de la TBO âgées de 1, 3 et 5 jours traitées au 5^{ème} stade larvaire par la méthode de la diète. Les valeurs avec * indiquent une différence significative à des intervalles de confiance à 95%.

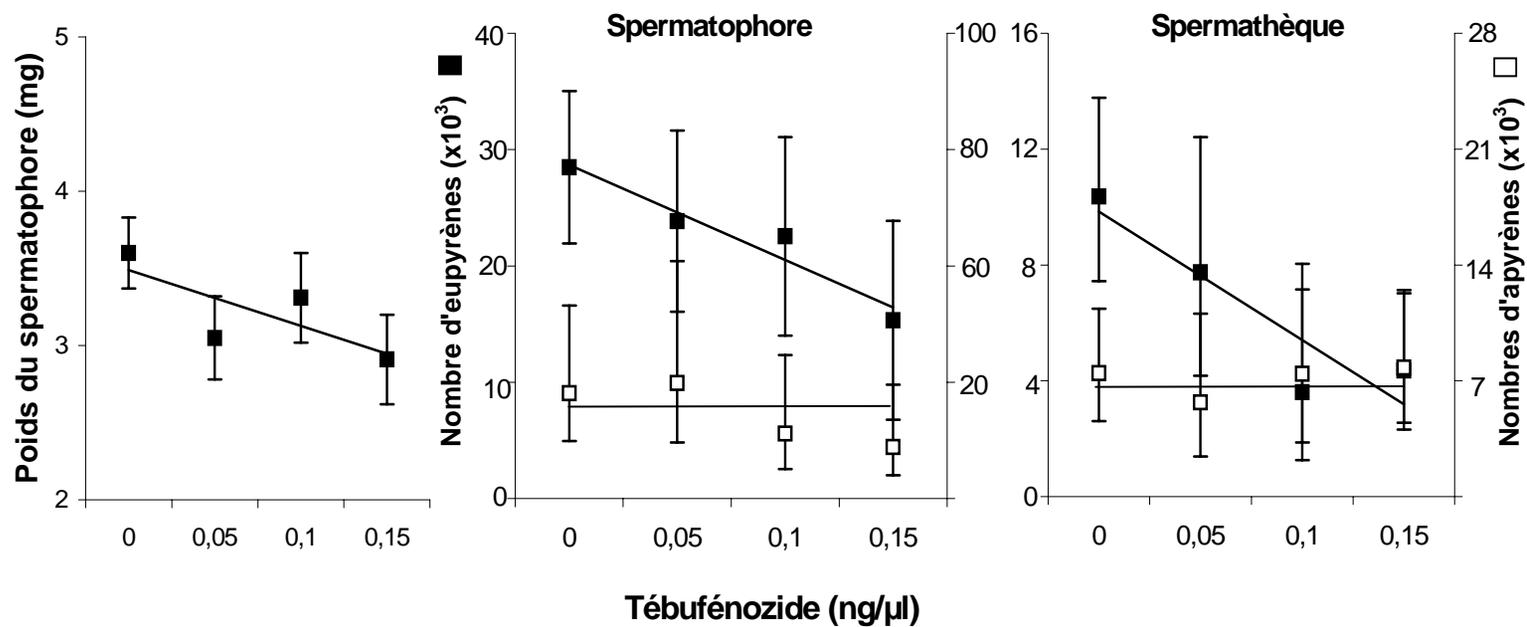


Figure 7. Les effets de différentes doses de tébufénozide sur le poids du spermatophore ainsi que sur le nombre d'eupyrènes et d'apyrènes présents dans le spermatophore et la spermathèque de femelles de la TBO accouplées avec des mâles traités au 5^{ème} stade larvaire par la méthode de la diète.

Discussion

Selon la méthode de traitement à la gouttelette, les concentrations de tébufénozide requises pour induire une mortalité de 50% chez *C. fumiferana* et *C. rosaceana* diffèrent grandement, le tébufénozide étant beaucoup plus toxique envers *C. fumiferana*. *C. rosaceana* est connue pour être un hôte alterne des parasitoïdes de *C. fumiferana* dans les forêts mixtes (Maltais et al., 1989). Dans un contexte de lutte contre *C. fumiferana*, un important ravageur des forêts de conifères en Amérique du Nord, l'utilisation de doses provoquant une faible mortalité chez les larves de *C. rosaceana*, protégerait une proportion des populations de parasitoïdes. Par ailleurs, les effets du tébufénozide sur le temps de développement larvaire chez ces deux espèces pourraient favoriser le risque de parasitisme et de prédation et ainsi augmenter indirectement la mortalité au sein des populations de *C. fumiferana*.

Des variations dans l'activité de cet analogue de l'ecdysone ont été également rapportées chez d'autres Lépidoptères. Smagghe et Degheele (1994b) ont suggéré que la différence de toxicité observée entre *S. exempta* et *S. exigua* était due à la variabilité interspécifique dans la structure des récepteurs de l'ecdysone et des propriétés biochimiques impliquées dans son attachement aux récepteurs. Plus récemment, il a été proposé que la susceptibilité variable aux agonistes des ecdystéroïdes puisse être associée à l'induction de l'ecdystéroïde 26-hydroxylase (ecdysteroid 26-hydroxylase), une enzyme responsable du métabolisme des ecdystéroïdes (Williams et al., 2002).

Les effets sous-létaux observés chez *C. fumiferana*, tout comme chez *C. rosaceana*, traités selon la méthode de la gouttelette ont été peu nombreux. Bien que cette méthode ait permis de contrôler la quantité exacte de tébufénozide ingéré par chaque larve, ces dernières n'ont néanmoins reçu qu'une seule dose potentiellement létale au cours de leur vie. Conséquemment, l'élimination ou la détoxification de l'agoniste par les larves traitées pourrait avoir été plus efficace avec cette méthode et ainsi réduire les effets sous-létaux observés chez les survivants. Chez les espèces du genre *Spodoptera*, Smagghe et Degheele (1994b) ont rapporté que le tébufénozide semblait être détoxiqué principalement par le système digestif. Également, d'après Retnakaran et al. (2001), la résistance d'*Orgyia leucostigma* pour le tébufénozide serait due à un mécanisme d'exclusion au niveau des cellules par des pompes

membranaires à ATP (ATP-binding cassette transporter) plutôt qu'à la dégradation de la molécule de synthèse. Dans notre étude, nous ne pouvons éliminer la possibilité que certaines larves aient régurgité le tébufénozide suivant leur transfert dans des contenants individuels.

Le comportement d'appel des femelles de la TBE a été affecté par la présence du tébufénozide puisque les femelles ont initié l'appel plus tard dans la première nuit suivant l'émergence contrairement aux témoins. Par contre, l'analogue de l'ecdysone n'a pas modifié la production de la phéromone sexuelle chez ces dernières, tout comme chez les femelles de la TBO traitées avec les deux méthodes de traitement. Les mécanismes physiologiques sous-jacents aux comportements d'appel sont très peu compris, quoique l'évagination de la glande à phéromone durant l'appel soit considérée comme étant sous contrôle nerveux (Sasaki et *al.*, 1983; Itagaki et Conner, 1986). À cet égard, des effets neurotoxiques des agonistes des ecdystéroïdes par le blocage des canaux K^+ des nerfs et des muscles ont été rapportés (Salgado, 1992). Cependant, il est peu probable que ce type d'effets sur le système nerveux soit à l'origine du délai observé au niveau de l'appel, puisque les symptômes neurotoxiques se produisent habituellement dans les heures suivant le traitement (Salgado, 1992).

Le délai observé dans l'heure moyenne d'initiation de l'appel (HMIA) des femelles traitées de la TBE n'a eu aucune répercussion sur le succès d'accouplement en laboratoire. Le dispositif expérimental utilisé dans cette étude pourrait expliquer les résultats contradictoires obtenus. Les couples étant gardés dans une cagette de plastique tout au cours de la scotophase, le délai dans le comportement d'appel a donc été annulé. Par contre, dans une population exposée au tébufénozide, il est fort probable que les femelles ayant survécu au traitement soient moins compétitives à attirer un partenaire sexuel que d'autres femelles ayant échappé à celui-ci, puisqu'il semble que l'initiation de l'appel tôt dans la nuit soit un avantage reproductif chez certain Lépidoptères nocturnes (Delisle, 1995).

La biosynthèse de la phéromone sexuelle chez les Lépidoptères est activée par la libération d'un neuropeptide, PBAN (pheromone biosynthesis activating neuropeptide), qui voyage par l'hémolymphe et/ou la corde nerveuse ventrale afin d'activer la glande à phéromone (Rafaeli, 2002). Contrairement à d'autres papillons nocturnes, la compétence de la glande des femelles de *Trichoplusia ni* est contrôlée par la 20-HE (20-hydroxyecdysone) et a lieu chez l'adulte pharate lors du déclin de cet ecdystéroïde dans l'hémolymphe (Tang et *al.*, 1991). Les auteurs

de cette étude ont suggéré que les ecdystéroïdes puissent contrôler la compétence de la glande à phéromone de façon similaire chez les espèces où le PBAN stimule la production de la phéromone. Un tel mécanisme physiologique est peu probable chez *C. fumiferana* et *C. rosaceana*, puisque l'activation constante des récepteurs de l'ecdysone par le tébufénozide n'a pas affecté la compétence de la glande; les titres des composantes majeures de la phéromone sexuelle étant similaires entre les femelles traitées et témoins.

Chez les papillons nocturnes, l'inhibition post-copulatoire de la production de la phéromone peut se faire directement via un facteur humoral ou indirectement par le système nerveux (Raina et al., 1994; Ramaswamy et al., 1996). Chez *Heliothis virescens*, la 20-HE produite par les testicules (Loeb et al., 1984; Ramaswamy et al., 1994) des mâles a été suspectée d'être un facteur phéromonostatique transféré dans la bourse copulatrice des femelles durant l'accouplement (Ramaswamy et Cohen, 1992). Cependant, l'injection de la 20-HE chez les femelles vierges des deux espèces de *Choristoneura* n'a pas diminué les titres de la phéromone (Delisle et al., 2000), ce qui appuie les résultats obtenus dans cette étude. De ce fait, la présence du tébufénozide dans l'hémolymphe des femelles adultes n'agit pas du tout comme un facteur phéromonostatique chez nos deux espèces.

Chez les mâles de la TBE, la présence du tébufénozide dans l'organisme de ces derniers n'a pas perturbé l'activité motrice associée au vol. Cependant, la capacité des mâles à détecter la phéromone synthétique semble être affectée par des faibles concentrations de cet analogue de l'ecdysone. Les informations olfactives chez les insectes sont analysées au niveau du lobe antennaire considéré comme étant le centre olfactif du système nerveux central (Hansson et Anton, 2000). Plusieurs substances neuroactives ont été localisées à l'intérieur du lobe antennaire, incluant des hormones. En effet, l'hormone juvénile est reconnue pour augmenter la sensibilité du lobe antennaire à la phéromone sexuelle chez *Agrotis ipsilon* (Gadenne et Anton, 2000), tandis qu'elle semble inhiber la sensibilité à la phéromone d'aggrégation chez le locuste *Schistocerca gregaria* (Hansson et Anton, 2000). Aucun rôle similaire n'a encore été attribué aux ecdystéroïdes. Cependant, étant donné que les résultats de cette étude semblent démontrer que le système olfactif des mâles a été affecté, il est possible que l'ecdysone ou d'autres ecdystéroïdes interfèrent dans le décodage des informations olfactives.

La fécondité et la fertilité des femelles de la TBE n'ont pas été affectées par un traitement au tébufénozide selon la méthode de la gouttelette. Cadogan *et al.* (2002) ont également rapporté que cet analogue n'avait pas réduit le potentiel reproducteur chez les femelles de cette espèce, lorsque celles-ci avaient été traitées au stade larvaire avec des doses de tébufénozide produisant une incidence de mortalité très faible (moins de 5%). Par contre, Sundaram *et al.* (2002) ont rapporté que l'injection du tébufénozide directement dans la pupa avait diminué le pouvoir fécondant des femelles uniquement lorsque ces dernières avaient des malformations importantes. Ainsi, chez *C. fumiferana*, il semble que les doses nécessaires pour réduire le potentiel reproducteur des femelles survivantes doivent être très élevées et induisent de forte mortalité larvaire. Également, chez les mâles, d'après des résultats obtenus dans notre laboratoire, le tébufénozide ne modifie pas la production des spermatozoïdes apyrènes et eupyrènes.

Chez *C. rosaceana*, les effets sous-létaux du tébufénozide ont été beaucoup plus importants avec la méthode de traitement de la diète qu'avec celle de la gouttelette. L'accumulation du tébufénozide dans le corps de l'insecte via l'ingestion et l'absorption par la cuticule est sans aucun doute à l'origine des effets plus prononcés observés avec cette méthode qui se voulait plus représentative de la réalité. Ainsi, la masse corporelle des mâles et des femelles de la TBO a été affectée uniquement suivant un traitement avec la diète, ces dernières étant davantage affectées. En effet, pour des raisons qui demeurent toujours inconnues, il semble que les femelles soient plus susceptibles au tébufénozide que les mâles. Les femelles ayant une masse corporelle supérieure à celle des mâles, il est raisonnable de croire qu'elles se sont nourries davantage sur la diète traitée lors de leur développement larvaire ce qui aurait occasionné des effets sous-létaux plus importants.

La perte de poids des mâles *C. rosaceana* (méthode diète) pourrait être à l'origine d'une diminution dans le succès d'accouplement observé chez les couples où le mâle avait été traité. En effet, il est possible que les femelles soient discriminantes envers les mâles de petit poids et les rejettent davantage que ceux de poids supérieur (Phelan et Baker, 1986). Bien qu'aucune étude chez cette espèce n'ait clairement démontré que le poids est un critère de sélection chez les femelles, une étude de Delisle et Bouchard (1995) montre que la qualité de la nourriture réduit le poids des mâles et que ces derniers ont un succès d'accouplement

inférieur à ceux nourris sur du feuillage de qualité. Il se peut également que le tébufénozide ait perturbé le système olfactif des mâles tout comme celui des mâles de la TBE. Dans ce cas, les effets sous-létaux provoqués par le traitement à la diète auraient été suffisamment importants pour réduire le succès d'accouplement malgré la promiscuité des partenaires dans les cagettes. Par ailleurs, tel qu'observé chez *C. fumiferana* (Palanaswamy et al., 1979), il n'est pas exclus que les mâles TBO puissent aussi produire une phéromone sexuelle dont l'effet aphrodisiaque chez la femelle ait été atténué par le tébufénozide, réduisant de ce fait leur succès d'accouplement.

Parmi les perturbations les plus importantes occasionnées par le tébufénozide, on note un retard dans la maturation ovarienne chez *C. rosaceana*. D'autres études ont également rapporté que cet analogue de l'ecdysone affectait le développement des œufs (Smaghe et Degheele, 1992, 1994a; Salem et al., 1997). Cependant, contrairement à leurs observations, le tébufénozide semble ralentir la maturation des oocytes chez la TBO plutôt qu'induire une dégénération des ovarioles, puisque le nombre d'œufs matures chez les femelles OBL-D augmente avec le vieillissement. Cette augmentation de la production d'œufs matures n'a cependant pas été suffisante pour restaurer leur fécondité, puisque le nombre d'œufs pondus par les femelles OBL-D était inférieur à celui des femelles témoins. Une réduction de la fécondité des femelles de *C. rosaceana* par le tébufénozide a également été rapportée par Sun et al. (2000). Chez les Lépidoptères, la vitellogenèse est régulée par les hormones gonadotropiques : l'hormone juvénile et les ecdystéroïdes (Bellés, 1995; Ramaswamy et al., 1997). L'importance des ecdystéroïdes dans le processus de la vitellogenèse dépend principalement du moment où cette activité est initiée dans le développement de l'insecte. En effet, chez des espèces comme *Bombyx mori* où le développement des œufs débute chez la larve, les ecdystéroïdes sont nécessaires à la production de la vitellogénine. Par contre, chez d'autres espèces, la vitellogenèse initiée chez la puppe ou l'adulte, a lieu lorsque les concentrations d'ecdystéroïdes chutent dans l'hémolymphe ou en l'absence complète de cette hormone (voir Ramaswamy et al., 1997 pour une classification plus détaillée des Lépidoptères). Chez ces derniers, plusieurs études ont démontré qu'un titre élevé d'ecdystéroïdes pouvait bloquer la séquestration de la vitellogénine par les oocytes (Shirk et al., 1990, 1992) ou inhiber l'action gonadotropique de l'hormone juvénile (Satyanarayana et al., 1992, 1994). Chez la TBO, la croissance des œufs et la vitellogenèse est sous la

dépendance de l'hormone juvénile (Delisle et Cusson, 1999). Conséquemment, il est probable que cet agoniste de l'ecdysone inhibe partiellement l'action de l'hormone juvénile sur la maturation ovarienne. Également, Smagghe et Degheele (1994c) ont suggéré que les analogues de l'ecdysone affectaient le processus de l'ovulation en bloquant la libération de l'hormone d'ovulation myotropique (myotropic ovulation hormone) par les cellules neurosécrétrices qui sont normalement activées par un déclin du titre des ecdystéroïdes (Hagedorn, 1985).

Plusieurs études ont démontré que le tébufénozide réduisait la fertilité des femelles et/ou des mâles chez certains Lépidoptères dont *H. zea* (Carpenter et Chandler, 1994), *Cydia pomonella* (Sun et Barrett, 1999), *Argyrotaenia velutiana* et *C. rosaceana* (Sun et al., 2000). Contrairement aux résultats obtenus par Sun et al. (2000), nos combinaisons d'accouplement n'ont pas permis de démontrer que le tébufénozide affectait la fertilité des deux sexes chez *C. rosaceana*. Par contre, chez les mâles traités, le tébufénozide a réduit la masse du spermatophore, son contenu en eupyrènes ainsi que le nombre d'eupyrènes dans la spermathèque des femelles. Carpenter et Chandler (1994) ont également rapporté que le tébufénozide prévenait le transfert des spermatozoïdes eupyrènes lors de la copulation chez *H. zea*. Il est fort probable que la diminution du nombre d'eupyrènes observée chez *C. rosaceana* et *H. zea* soit liée à une inhibition de leur libération par les *vas deferens*, un effet qui a été également démontré chez *Lymantria dispar* (L.) suivant un traitement à la 20-HE (Giebultowicz et al., 1993). Ainsi, bien que le tébufénozide ait réduit le potentiel reproducteur des mâles, il semble que la chute du nombre d'eupyrènes dans la spermathèque des femelles n'ait pas été assez importante pour provoquer des répercussions sur la fertilité des femelles. Des études présentement en cours chez *C. rosaceana* tendent à démontrer que les femelles redeviennent réceptives lorsque le nombre d'eupyrènes dans la spermathèque atteint un seuil d'environ 2000 (communication personnelle de M. Marcotte). Ce seuil critique n'ayant pas été atteint chez les femelles accouplées avec un mâle traité au tébufénozide, leur fertilité n'en a pas été affectée.

Cadogan et al. (2002) ont également démontré que la présence du tébufénozide sur la surface de ponte inhibait l'oviposition chez les femelles de *C. fumiferana*. D'après ceux-ci, cet effet serait associé à une modification de la surface de ponte par le tébufénozide plutôt que par

l'émission d'un stimulus volatile qui inhiberait l'oviposition. Chez cette espèce, les femelles ont la capacité de discriminer entre différents types de substrats, la cire sur les aiguilles de sapin baumier agissant à titre de stimulant (Rivet et Albert, 1990). De ce fait, il se pourrait que le tébufénozide inhibe également ce comportement chez *C. rosaceana*, ce qui réduirait davantage son succès reproducteur.

Les résultats de cette étude démontrent clairement que des doses sous-létales de tébufénozide peuvent affecter le développement, certains aspects de la communication chimique et le succès reproducteur des survivants chez *C. fumiferana* et *C. rosaceana* en interférant avec des processus physiologiques sous contrôle endocrinien. Quoique nos connaissances portant sur le mode d'action du tébufénozide lors du développement larvaire soient importantes, son action sur les mécanismes physiologiques associés aux réponses comportementales et aux activités reproductives est peu comprise et nécessite d'être davantage étudiée.

Références

- Bellés, X. 1995. Interactions between corpora allata, fat body and ovary in insect reproduction: which controls which? *Netherlands J. Zool.* 45, 152-156.
- Biddinger, D. J., et Hull, L. A. 1999. Sublethal effects of selected insecticides on growth and reproduction of a laboratory susceptible strain of tufted apple bud moth (Lepidoptera : Tortricidae). *J. Econ. Entomol.* 92, 314-324.
- Box, G. E. P., Hunter, W. G et Hunter I. S. 1978. *Statistics for experimenters : an introduction to design, data analysis, and model building.* Wiley, New-York.
- Cadogan, B. L., Scharbach, R. D., Krause, R. E. et Knowles, K. R. 2002. Evaluation of tebufenozide carry-over and residual effects on spruce budworm (Lepidoptera : Tortricidae). *Forest Entomol.* 95, 578-586.
- Carpenter, J. E. et Chandler, L. D. 1994. Effects of sublethal doses of two insect growth regulators on *Helicoverpa zea* (Lepidoptera : Noctuidae) reproduction. *J. Entomol. Sci.* 29, 428-435.
- Charmillot, P. J., Favre, R., Pasquier, D., Rhyn, M. et Scalco, A. 1994. Effet du régulateur de croissance d'insectes (RCI) tébufénozide sur les œufs, les larves et les papillons des vers de la grappe *Lobesia botrana* Den & Schiff. et *Eupoecilia ambiguella* Hb. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* 67, 393-402.
- Delisle, J. 1992. Age related changes in the calling behaviour and attractiveness of obliquebanded leafroller virgin females, *Choristoneura rosaceana*, under different constant and fluctuating temperature conditions. *Entomol. Exp. Appl.* 63, 55-62.
- Delisle, J. 1995. Effect of male and female age on the mating success of the obliquebanded leafroller *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) under different ecological conditions. *J. Insect Behavior* 8, 781-799.
- Delisle, J. et Royer, L. 1994. Changes in pheromone titer of obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana*, virgin females as a function of time of day, age, and temperature. *J. Chem. Ecol.* 20, 45-69.
- Delisle, J. et Bouchard, A. 1995. Male larval nutrition in *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera : Tortricidae) : an important factor in reproductive success. *Oecologia* 104, 508-17.
- Delisle, J. et Hardy, M. 1997. Male larval nutrition influences the reproductive success of both sexes of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera : Tortricidae). *Func. Ecol.* 11, 451-463.

- Delisle, J. et Cusson, M. 1999. Juvenile hormone biosynthesis, oocyte growth and vitellogenin accumulation in *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*: a comparative study. *J. Insect Physiol.* 45, 515-523.
- Delisle, J., Picimbon, J. F. et Simard, J. 2000. Regulation of pheromone inhibition in mated females of *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. *J. Insect Physiol.* 46, 913-921.
- Delisle, J. et Simard, J. 2002. Factors involved in the post-copulatory neural inhibition of pheromone production in *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana* females. *J. Insect Physiol.* 48, 181-188.
- Dhadialla, T. S., Carlson, G. R. et Le, D. P. 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. *Ann. Rev. Entomol.* 43, 545-569.
- Dumser, J. B. 1980. The regulation of spermatogenesis in insects. *Ann. Rev. Entomol.* 25, 341-369.
- Gadenne, C. et Anton, S. 2000. Central processing of sex pheromone stimuli is differentially regulated by juvenile hormone in a male moth. *J. Insect Physiol.* 46, 1195-1206.
- Gelman, D. B., Woods, C. W. et Borkovec, A. B. 1988. Effects of ecdysone and 20-hydroxyecdysone on apyrene spermiogenesis in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *J. Insect Physiol.* 35, 733-738.
- Giebultowicz, J. M., Blackburn, M. B., Thomas-Laemont, P. A. et Raina, A. K. 1993. Sterilization of the gypsy moth by disruption of sperm release from testes. Dans ACS Conference Proceedings: Series on pest management: biological based technology. Lumsden, R. D. and Vaughn, J. L. (eds), ACS, Washington, D.C. p. 114-116
- Hagedorn, H. H. 1985. The role of ecdysteroids in reproduction. Dans Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. Kerkut, G. A. et Gilbert, L. I. (Eds), Pergamon, Oxford, Vol 8. pp. 205-262.
- Hansson, B. S. et Anton, S. 2000. Function and morphology of the antennal lobe: new developments. *Annu. Rev. Entomol.* 45, 203-231.
- Hill, A. S. et Roelofs, W. L. 1979. Sex pheromone components of the obliquebanded leafroller moth, *Choristoneura rosaceana*. *J. Chem. Ecol.* 5, 3-11.
- Ishaaya, I., Yablonski, S. et Horowitz, A. R. 1995. Comparative toxicity of two ecdysteroid agonists, RH-2485 and RH-5992, on susceptible and pyrethroid-resistant strains of the egyptian cotton leafworm, *Spodoptera littoralis*. *Phytoparasitica* 23, 139-145.
- Itagaki, H. et Conner, W. E. 1986. Physiological control of pheromone release behaviour in *Manduca sexta*. *J. Insect Physiol.* 32, 657-664.

- Kawamura, N., Sahara, K et Fugo, H. 2003. Glucose and ecdysteroid increase apyrene sperm production in *in vitro* cultivation of spermatocysts of *Bombyx mori*. J. Insect Physiol. 49, 25-30.
- Knight, A. L. 2000. Tebufenozide targeted against codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) adults, eggs, and larvae. J. Econ. Entomol. 93, 1760-1767.
- Loeb, M. J., Woods, C. W., Brandt, E. P. et Borkovec, A. B. 1982. Larval testes of the tobacco budworm : A new source of insect ecdysteroids. Science 218, 896-898.
- Loeb, M. J., Brandt, E. P., et Birnbaum, M. J. 1984. Ecdysteroid production by testes of the tobacco budworm, *Heliothis virescens*, from last larval instar to adult. J. Insect Physiol. 30, 375-381.
- Maltais, J., Régnière, J., Cloutier, C., Hébert, C. et Perry, D. F. 1989. Seasonal biology of *Meteorus trachynotus* vier. (Hymenoptera : Braconidae) and of its overwintering host *Choristoneura rosaceana* (Harr.) (Lepidoptera : Tortricidae). Can. Ent. 121, 745-756.
- Marcotte, M., Delisle, J. et McNeil, J. N. 2003. Pheromonostasis is not directly associated with post-mating sperm dynamics in *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana* females. J. Insect Physiol. 49, 81-90.
- Nowock, J. 1972. Induction of imaginal differentiation by ecdysone in testes of *Ephestia kuhniella*. J. Insect Physiol. 18, 1699-1704.
- Nowock, 1973. Growth and metamorphosis in the testes of *Ephestia kuhniella* in vitro. J. Insect Physiol. 19, 941-949.
- Palaniswamy, P., Sivasubramanian, P. et Seabrook, W. D. 1979. Modulation of sex pheromone perception in female moths of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* by Altosid. J. Insect Physiol. 25, 571-574.
- Palli, S. R., Primavera, M., Tomkins, W., Lambert, D. et Retnakaran, A. 1995. Age-specific effects of a non-steroidal ecdysteroid agonist, RH-5992, on the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). Eur. J. Entomol. 92, 325-332.
- Parrish, J. J., Susko-Parrish, J. L. et First, N. L. 1985. Effect of heparin and chondroitin sulfate on the acrosome reaction and fertility of bovine sperm *in vitro*. Theriogenology 24, 537-549.
- Pedersen, A., Debes, J., Gauthier, D. et Frankenhuyzen, K. V. 1997. Sublethal effects of *Bacillus thuringiensis* on the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. Entomol. Exp. Appl. 83, 253-262.
- Phelan, P. L. et Baker, T. C. 1986. Male size related courtship success and intersexual selection in the tobacco moth *Ephestia elutella*. Experientia Basel 42, 1291-1293.

- Rafaeli, A. 2002. Neuroendocrine control of pheromone biosynthesis in moths. *Int. Rev. Cytol.* 213, 49-91.
- Ramaswamy, S. B. et Cohen, N. E. 1992. Ecdysone: an inhibitor of receptivity in the moth, *Heliothis virescens*? *Naturwissenschaften* 79, 29-31.
- Ramaswamy, S. B., Mbata, G. N., Cohen, N. E., Moore, A. et Cox, N. M. 1994. Pheromonotropic and pheromonostatic activity in moths. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 25, 301-315.
- Ramaswamy, S. B., Qui, Y. et Park, Y. I. 1996. Neuronal control of post-coital pheromone production in the moth *Heliothis virescens*. *J. Exp. Zool.* 274, 255-263.
- Ramaswamy, S. B., Shengqiang, S., Yong, I. P. et Fanrong, Z. 1997. Dynamics of juvenile hormone-mediated gonadotropism in the Lepidoptera. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35, 539-558.
- Raina, A. K., Kingan, T. G. et Giebultowicz, J. M. 1994. Mating-induced loss of sex pheromone and sexual receptivity in insects with emphasis on *Helicoverpa zea* and *Lymantria dispar*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 25, 317-327.
- Retnakaran, A., Hiruma, K., Palli, S. R. et Riddiford, L. M. 1995. Molecular analysis of the mode of action of RH-5992, a lepidopteran-specific, non-steroidal ecdysteroid agonist. *Insect Biochem. Molec. Biol.* 25, 109-117.
- Retnakaran, A., Macdonald, W. L., Tomkins, W. L., Davis, C. N., Brownwright, A. J. et Palli, S. R. 1997a. Ultrastructural effects of a non-steroidal ecdysone agonist, Rh-5992, on the sixth instar larva of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *J. Insect Physiol.* 43, 55-68.
- Retnakaran, A., Smith, L. F. R., Tomkins, W. L., Primavera, M. J., Palli, S. R. et Payne, N. 1997b. Effect of RH-5992, a nonsteroidal ecdysone agonist, on the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera : Tortricidae) : laboratory, greenhouse, and ground spray trials. *Can. Entomol.* 129, 871-885.
- Retnakaran, A., Gelbic, I., Sundaram, M., Tomkins, W., Ladd, T., Primavera, M., Feng, Q., Arif, B., Palli, R. et Krell, P. 2001. Mode of action of the ecdysone agonist, tebufenozide (RH-5992) and an exclusion mechanism explain its resistance. *Pest Manag. Sci.* 57, 951-957.
- Rivet, M. -P. et Albert, P. J. 1990. Oviposition behavior in spruce budworm *Choristoneura fumiferana* (Clem.) (Lepidoptera: Tortricidae). *J. Insect Physiol.* 3, 395-400.
- Rodriguez, L. M., Ottea, J. A. et Reagan, T. E. 2001. Selection, egg viability, and fecundity of the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) with tebufenozide. *J. Econ. Entomol.* 94, 1553-1557.

- Salgado, V. L. 1992. Block of voltage-dependent K⁺ channels in insect muscle by the ciaylhydrazine insecticide RH-5849, 4-aminopyridine, and quinidine. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 21, 239-252.
- Salem, H., Smagghe, G. et Degheele, D. 1997. Effects of tebufenozide on oocyte growth in *Plodia interpunctella*. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 62, 9-13.
- SAS Institute. 1990. SAS User's Guide: Basics. SAS Institute, Cary, NC.
- Sasaki, M., Riddiford, L. M., Truman, J. W. et Moore, J. K. 1983. Re-evaluation of the role of corpora cardiaca in calling and oviposition behaviour of giant silk moths. *J. Insect Physiol.* 29, 695-705.
- Satyanarayana, K. Yu, J. H., Bhaskaran, G., Dahm, K. H. et Meola, R. 1992. Regulation of vitellogenin synthesis by juvenile hormone in the corn earworm, *Helicoverpa zea*. *Invert. Reprod. Develop.* 21, 169-178.
- Satyanarayana, K., Bradfield, J. Y., Bhaskaran, G. et Dahm, K. H. 1994. Stimulation of vitellogenin production by methoprene in prepupae and pupae of *Manduca sexta*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 25, 21-37.
- Seth. R. K., Rao, D. K. et Reynolds S. E. 2002. Movement of spermatozoa in the reproductive tract of adult male *Spodoptera litura*: daily rhythm of sperm descent and the effect of light regime on male reproduction. *J. Insect Physiol.* 48, 119-131.
- Silk, P. J., Tan, S. H., Wiesner, C. J., Ross, R. J. et Lonergan, G. C. 1980. Sex pheromone chemistry of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Environ. Entomol.* 9, 640-644.
- Shinbo, H. et Happ, G. M. 1989. Effects of ecdysteroids on the growth of the post-testicular reproductive organs in the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* 35, 855-864.
- Shirk, P. D., Bean, D. W. et Brookes, V. J. 1990. Ecdysteroids control vitellogenesis and egg maturation in pharate adult females of the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 15, 183-199.
- Shirk, P. D., Zimowska, G., Silhacek, D. L. et Shaaya, E. 1992. Initiation of vitellogenesis in pharate adult females of the Indianmeal moth, *Plodia interpunctella*. *Arch. Biochem. Physiol.* 21, 53-63.
- Shorey, H. H. et Hale, R. L. 1965. Mass-rearing of the larvae of nine noctuid species on a simple artificial medium. *J. Econ. Entomol.* 58, 522-524.
- Smagghe, G. et Degheele, D. 1992. Effect of the nonsteroidal ecdysteroid agonist RH 5849 on reproduction of *Spodoptera littoralis* (Boisd.) (Lepidoptera : Noctuidae). *Parasitica* 48, 23-29.

- Smagghe, G. et Degheele, D. 1994a. Action of a novel nonsteroidal ecdysteroid Mimic, tebufenozide (RH-5992), on insects of different orders. *Pestic. Sci.* 42, 85-92.
- Smagghe, G. et Degheele, D. 1994b. The significance of pharmacokinetics and metabolism to the biological activity of RH-5992 (tebufenozide) in *Spodoptera exempta*, *Spodoptera exigua*, and *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest. Biochem. Physiol.* 49, 224-234.
- Smagghe, G. et Degheele, D. 1994c. Action of the nonsteroidal ecdysteroid mimic RH-5849 on larval development and adult reproduction of insects of different orders. *Invert. Reprod. Develop.* 25, 227-236.
- Smagghe, G., Eelen, H., Verschelde, E., Richter, K. et Degheele, D. 1996a. Differential effects of nonsteroidal ecdysteroid agonist in Coleoptera and Lepidoptera : analysis of evagination and receptor binding in imaginal discs. *Insect. Biochem. Molec. Biol.* 26, 687-695.
- Smagghe, G., Vinuela, E., Budia, F. et Degheele, D. 1996b. In vivo and in vitro effects of the nonsteroidal ecdysteroid agonist tebufenozide on cuticle formation in *Spodoptera exigua* : an ultrastructural approach. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 32, 121-134.
- Smagghe, G., Salem, H., Tirry, L. et Degheele, D. 1996c. Action of a novel insect growth regulator tebufenozide against different developmental stages of four stored product insects. *Parasitica* 52, 61-69.
- Sun, X. et Barrett, B. 1999. Fecundity and fertility changes in adult codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) exposed to surfaces treated with tebufenozide and methoxyfenozide. *J. Econ. Entomol.* 92, 1039-1044.
- Sun, X., Barrett, B. A. et Biddinger, D. J. 2000. Fecundity and fertility reductions in adult leafrollers exposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonist tebufenozide and methoxyfenozide. *Entomol. Exp. Appl.* 94, 75-83.
- Sundaram, M., Palli, S. R., Krell, P. J., Sohi, S. S., Dhadialla, T. S. et Retnakaran, A. 1998. Basis for selective action of a synthetic molting hormone agonist, RH-5992 on lepidopteran insects. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 28, 693-704.
- Sundaram, M., Palli, S. R., Smagghe, G., Ishaaya, I., Feng, Q.-L., Primavera, M., Tomkins, W. L., Krell, P. J. et Retnakaran, A. 2002. Effect of RH-5992 on adult development in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 32, 225-231.
- Tang, J. D., Wolf, W. A., Roelofs, W. L. et Knipple, D. C. 1991. Development of functionally competent cabbage looper moth sex pheromone glands. *Insect Biochem.* 21, 573-581.

- Thorson, B. J. et Riemann, J. G. 1982. Effects of 20-hydroxyecdysone on sperm release from the testes of the mediterranean flour moth, *Anagasta kuehniella* (Zeller). J. Insect Physiol. 28, 1013-1019.
- Van Frankenhuyzen, K., Gringorten, L., Dedes, J. et Gauthier, D. 1997. Susceptibility of different instars of the spruce budworm (Lepidoptera: Tortricidae) to *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki* estimated with a droplet-feeding method. J. Econ. Entomol. 90, 560-565.
- Williams, D. R., Fisher, M. J., Smagghe, G. et Rees, H. H. 2002. Species specificity of changes in ecdysteroid metabolism in response to ecdysteroid agonist. Pest. Biochem. Physiol. 72, 91-99.
- Wing, K. D., Slawewski, R. A. et Carlson, G. R. 1988. RH 5849, a nonsteroidal ecdysone agonist : effects on larval Lepidoptera. Science 241, 470-472.

Conclusion

Les résultats obtenus au cours de cette étude démontrent clairement que le tébufénozide perturbe divers aspects de la biologie reproductive des mâles et des femelles chez *Choristoneura fumiferana* et *C. rosaceana*. En effet, outre sa capacité à induire le processus de la métamorphose chez les larves de Lépidoptères (Retnakaran et al., 1997a, b; Smagghe et al., 1996b), le tébufénozide interagit avec des mécanismes physiologiques intrinsèques à la reproduction chez plusieurs espèces (voir chapitre 1) dont *C. fumiferana* et *C. rosaceana*. Toutefois, à ce jour, aucune étude n'avait démontré que cet agoniste non-stéroïdal de l'ecdysone pouvait également modifier certains des comportements pré-copulatoires associés à la communication chimique au moyen de phéromone sexuelle. Ces résultats laissent donc entrevoir des fonctions jusqu'alors inconnues de l'ecdysone ou d'autres ecdystéroïdes dans la physiologie reproductive tant des mâles que des femelles de certaines espèces de Lépidoptères.

Bien que les études portant sur la régulation physiologique du comportement d'appel chez les Lépidoptères tendent à démontrer que ce dernier est contrôlé par le système nerveux (Sasaki et al., 1983 ; Tang et al., 1987 ; Itagaki et Conner, 1986), l'ingestion de tébufénozide au stade larvaire a retardé l'heure à laquelle ce comportement est normalement exprimée lors de la première nuit d'appel chez les femelles de la TBE. Selon cette observation, une augmentation artificielle du titre d'ecdysone chez la femelle adulte, induirait un délai en heure dans le comportement d'appel sans toutefois l'inhiber ou même modifier sa périodicité dans les jours subséquents. Ainsi, il se pourrait que chez *C. fumiferana*, un signal autre que nerveux modulerait le comportement d'appel et serait partiellement inhibé par la présence du tébufénozide au premier jour d'appel, ce qui n'est vraisemblablement pas le cas chez *C. rosaceana*. La présence d'un modulateur régulant l'extrusion de la glande à phéromone avait déjà été suggérée chez *Manduca sexta* (Itagaki et Conner, 1986), *Hyalophora cecropia* et *Antheraea polyphemus* (Sasaki et al., 1983). Également, étant donné que le rythme d'appel est de nature circadienne, le délai observé dans l'expression de cette activité par le tébufénozide serait peut être le résultat de perturbations affectant l'horloge biologique elle-même.

La biosynthèse de la phéromone sexuelle, étroitement liée au comportement d'appel chez nos deux espèces, n'a pas été perturbée par le tébufénozide. De ce fait, les ecdystéroïdes ne semblent jouer aucun rôle spécifique dans les mécanismes physiologiques associés à cette activité. Par ailleurs, le tébufénozide ne semble pas avoir affecté, du moins de façon substantielle, la compétence de la glande à produire la phéromone. Tang et *al.* (1991) avait avancé la possibilité que la compétence de la glande à phéromone chez certaines espèces de Lépidoptères soit acquise suite à une chute d'ecdystéroïde lors de la métamorphose de la pupa à l'adulte. Selon cette hypothèse, l'activation continue des récepteurs des ecdystéroïdes par le tébufénozide aurait maintenu la glande à phéromone dans un état d'incompétence, réduisant ou empêchant subséquemment la production de la phéromone sexuelle, ce qui n'est clairement pas le cas chez nos deux espèces. Par ailleurs, la chute normale de la production de la phéromone avec l'âge, tel que décrite par Delisle et *al.* (2000), n'est pas plus prononcée chez les sujets qui ont été traités par le tébufénozide que les témoins.

L'analyse, en tunnel de vol, des différentes étapes du comportement de vol des mâles de *C. fumiferana* témoins et traités au tébufénozide (méthode gouttelette) semble démontrer que cet agoniste de l'ecdysone affecte la réponse à la phéromone des individus traités à de faibles concentrations. Bien qu'il ait été impossible d'examiner en tunnel de vol les effets de ce produit chez les mâles de *C. rosaceana*, une chute du succès d'accouplement lorsque les mâles étaient traités avec la méthode de la diète, permet d'établir de manière indirecte, que le système de la communication chimique est probablement défaillant chez ces derniers. Toutefois, dans ce cas, nous ne pouvons éliminer l'hypothèse voulant que la diminution du succès d'accouplement soit liée à un rejet par les femelles, puisque les mâles traités (méthode diète) avaient en moyenne un poids inférieur à celui des témoins. En effet, la masse corporelle du partenaire sexuelle est un critère de sélection chez certaines espèces de Lépidoptères (Phelan et Baker, 1986 ; Kosal et Niedzlek-Feaver, 1997 ; Iyengar et Eisner, 1999). Bien que, ce paramètre dans la stratégie reproductive de *C. fumiferana* et *C. rosaceana* n'ait pas encore fait l'objet d'étude, nous savons que les mâles nourris au stade larvaire sur du feuillage de mauvaise qualité ont non seulement un poids inférieur à ceux nourris sur du feuillage de bonne qualité mais également un succès reproducteur moindre (Delisle et Bouchard, 1995 ; Bauce et Carisey, 1996 ; Delisle et Hardy, 1997). Par ailleurs, il se pourrait également que le

tébufénozide modifie la production d'une phéromone sexuelle par les mâles de la TBO, qui n'a toutefois pas été encore identifiée, et aurait ainsi diminuer leur succès d'accouplement.

Les mâles de la TBE ayant ingéré une faible dose de tébufénozide (5 ng/ μ l) semblent avoir plus de difficulté à détecter la phéromone synthétique et à initier un vol orienté. Par ailleurs, ces derniers prennent davantage de temps que les témoins pour contacter la source phéromonale, leur vitesse de vol étant inférieure. Comment et à quel niveau le tébufénozide affecte le système olfactif des mâles chez *C. fumiferana* restent à déterminer. L'hormone juvénile et d'autres agonistes de cette hormone sont également connus pour modifier la réponse des mâles à la phéromone. L'application d'Altosid, un analogue de l'hormone juvénile, réduit la sensibilité antennaire des mâles et des femelles de la TBE (Palaniswamy et al., 1979). Par contre, le fénoxy-carbe (agoniste puissant de l'hormone juvénile) et l'hormone juvénile ne modifient pas la capacité des récepteurs antennaires à détecter la phéromone sexuelle chez les mâles d'*A. ipsilon*, mais augmentent plutôt la sensibilité des neurones olfactifs (Anton et Gadenne, 1999 ; Gadenne et Anton, 2000). Bien que les résultats obtenus ne permettent pas de déterminer si le tébufénozide agit au niveau des récepteurs antennaires ou du traitement des informations olfactives du système nerveux central, il semble que cet analogue de l'ecdysone affecte négativement l'une ou l'autre de ces activités. Lors d'études futures, il serait intéressant d'évaluer la sensibilité des récepteurs antennaires chez les mâles traités au tébufénozide à l'aide d'un électroanténo-gramme (dispositif permettant de mesurer la réponse des récepteurs antennaires à un stimulus particulier. Voir Hansson 1995 pour plus d'informations) et également d'enregistrer la réponse intracellulaire des neurones du lobe antennaire à la phéromone sexuelle chez ces derniers (Christensen et Hildebrand, 1987).

Les hormones tant chez les insectes que chez les vertébrés peuvent influencer le développement, le système nerveux ou le comportement des individus de manière organisationnelle ou activationnelle (Elekovich et Robinson, 2000). Les modifications comportementales observées chez les mâles et les femelles traités au tébufénozide sont probablement de nature activationnelle ("activationnal effects" ou "modifier effects"), i.e. qui modifie l'activité neuronale sans toutefois perturber les structures nerveuses déjà établies. De manière similaire, l'hormone juvénile engendre des effets activationnelles dans la réponse à la phéromone sexuelle chez les mâles d'*A. ipsilon*. Cependant, puisque dans cette étude les

individus ont été traités au stade larvaire, il est possible que le tébufénozide ait induit une réorganisation du système nerveux ou des organes sensoriels et ait ainsi engendré des modifications permanentes du comportement (effets organisationnels). En effet, chez les insectes holométaboles, la morphogenèse des disques imaginaux (masse de cellules non-différenciées chez la larve qui forme ultérieurement les organes sensoriels et les appendices chez l'adulte) est initiée lors d'une hausse des niveaux des ecdystéroïdes (Oberlander, 1985) ou d'un analogue non-stéroïdal (Smaghe et al., 1996b). Une variation artificielle des titres des ecdystéroïdes à un moment critique du développement pourrait induire des malformations des structures sensorielles et ainsi modifier la perception de l'information et conséquemment du comportement. Une étude réalisée par Sundaram et al. (2002) a démontré l'effet négatif du tébufénozide sur le développement des disques imaginaux des ailes chez les adultes de la TBE. De façon similaire, il se peut que le tébufénozide agisse sur la morphogenèse des disques imaginaux des antennes. Par ailleurs, l'ecdysone semble jouer un rôle dans le développement antennaire chez *Manduca sexta* en contrôlant l'expression d'une protéine olfactive (Vogt et al., 1993). Bien que nous ayons vérifié les antennes des mâles utilisés au cours des expériences en tunnel de vol, il se peut que le tébufénozide est induit des malformations invisibles à l'œil. Une telle situation pourrait également expliquer les changements observés dans la réponse à la phéromone sexuelle des mâles traités chez *C. fumiferana*.

Outre ces effets sur certains comportements reproducteurs, le tébufénozide affecte le système reproducteur femelle et plus particulièrement le développement ovarien chez *C. rosaceana*. Bien que les effets du tébufénozide sur la maturation ovarienne des femelles *C. fumiferana* n'aient pu être vérifiés, il serait possible que ce produit engendre également des modifications similaires chez ces dernières, étant donné que plusieurs aspects de la biologie reproductive de ces deux espèces soient similaires. Les rôles des ecdystéroïdes dans le développement des œufs chez *C. fumiferana* et *C. rosaceana* n'a pas encore fait l'objet d'étude et demeurent donc toujours inconnus. Une étude chez ces deux espèces, réalisée par Delisle et Cusson (1999), semble suggérer que l'hormone juvénile augmente l'incorporation de la vitellogénine par les œufs en développement, sans toutefois être à l'origine de la production de cette protéine. À ce titre, l'ecdysone pourrait être un candidat potentiel, puisque cette hormone est connue pour synthétiser la vitellogénine chez d'autres espèces d'insectes (voir introduction). Il faudrait

donc dans un premier temps déterminer si les ovaires de *C. fumiferana* et *C. rosaceana* ont la capacité de synthétiser l'ecdysone ou d'autres ecdystéroïdes *in vitro*. Par la suite, si tel est le cas, des expériences pourraient être entreprises afin d'identifier le moment auquel débute leur production par l'ovaire et analyser leurs fonctions possibles dans le développement ovarien. Toutefois, il est également possible, que la présence dans l'hémolymphe d'un agoniste de l'ecdysone lors de la maturation des œufs inhibe tout simplement l'action de l'hormone juvénile. De telles boucles de rétroaction ont été démontrées chez d'autres espèces de Lépidoptères (Satyanarayana et al., 1992, 1994) et semblent être un mécanisme commun chez les insectes (Bellés, 1995).

L'impact du tébufénozide sur la maturation ovarienne semble être à l'origine d'une diminution de la fécondité des femelles TBO traitées avec la méthode de la diète. Par contre, la méthode de la gouttelette engendrant des effets moindres, aucune répercussion n'a été observée sur le nombre d'œufs pondus chez les femelles de cette espèce. L'utilisation de deux méthodes de traitement chez la même espèce met en lumière l'importance du choix du mode de traitement quant aux résultats escomptés et soulève les incohérences possibles pouvant émaner des différentes études où pour une même espèce, le stade de développement au moment du traitement, la méthode de traitement et les concentrations utilisées diffèrent. Ainsi, Sun et al. (2000), ont noté une chute de la fécondité et de la fertilité des femelles de la TBO lorsqu'elles avaient été traitées par contact au stade adulte. Quoiqu'une baisse du nombre d'œufs pondus chez cette espèce ait également été observée (méthode diète), aucune modification de la fertilité n'a été engendrée par notre méthode de traitement. Cette variation a sûrement pour origine l'action différentielle du tébufénozide selon le stade de développement de l'individu lors du traitement, nos individus n'ayant pas été en contact avec le produit suivant l'émergence. Chez *C. fumiferana*, l'ingestion de tébufénozide par la méthode de la gouttelette n'a pas modifié la fécondité et la fertilité des femelles. Ces résultats viennent appuyer ceux obtenus lors de deux autres études réalisées au cours de la dernière année chez *C. fumiferana* (Sundaram et al., 2002 ; Cadogan et al., 2002). Cependant, notre étude ne permet malheureusement pas de démontrer clairement que le tébufénozide n'a pas d'impact sur la fécondité des femelles de la TBE puisque premièrement, la méthode de traitement à la diète induisant les effets sous-létaux les plus marqués n'a pu être utilisée et deuxièmement, les effets sur la maturation ovarienne n'a pu être vérifiée, et ce par faute d'effectifs. Par contre,

Cadogan et *al.* (2002) ont mentionné que bien que le tébufénozide n'affectait pas directement la fécondité des femelles, sa présence sur la surface de ponte inhibait l'oviposition par ces dernières. Les auteurs ont postulé que cette modification du comportement de ponte n'était pas liée à l'émission d'un stimulus volatile par le tébufénozide, mais plutôt par la modification de la surface de ponte par celui-ci.

Contrairement à d'autres espèces de Lépidoptères (Carpenter et Chandler, 1994; Sun et *al.*, 2002), le pouvoir fécondant des mâles de la TBE et de la TBO, n'a pas été perturbé par la présence d'un analogue de l'ecdysone. D'après les rôles de l'ecdysone au niveau du système reproducteur mâle, le tébufénozide pourrait compromettre leur fertilité en modifiant le processus normal de la spermatogenèse, en inhibant la libération du sperme ou d'un seul type de spermatozoïdes (eupyrène ou apyrène) par les *vas deferens* ou en engendrant des malformations de l'appareil reproducteur (incluant les spermatozoïdes). Les résultats portant sur la production des spermatozoïdes eupyrènes chez les mâles de la TBO suggèrent que les deux premières hypothèses sont les plus probables puisque les eupyrènes transférés ne semblaient pas avoir subi de malformations. Par ailleurs, les femelles accouplées avec des mâles traités ayant une fertilité équivalente à celles accouplées avec des mâles témoins, le nombre des spermatozoïdes transférés lors de l'accouplement semblait être suffisant et de bonne qualité. De ce fait, il serait intéressant de vérifier lors de prochaines études, à qu'elle niveau le tébufénozide perturbe la production des spermatozoïdes eupyrènes chez cette espèce.

L'ensemble des effets du tébufénozide tant sur le développement que la reproduction chez *C. fumiferana* et *C. rosaceana*, font du tébufénozide un produit fort intéressant dans le contrôle de leurs populations, d'autant plus qu'il est apparemment non-toxique envers la faune auxiliaire (Brown, 1994, 1996). À ce niveau, cette étude a permis d'établir que ce régulateur de croissance d'insecte était beaucoup plus toxique (environ 60 fois plus toxique) envers *C. fumiferana* que *C. rosaceana*. Dans la mesure où *C. rosaceana* est un hôte alterne de parasitoïdes de *C. fumiferana*, dont *Meteorus trachynotus* (Maltais et *al.*, 1989; Thireau et Régnière, 1995), l'utilisation de tébufénozide dans le contrôle des populations de la TBE occasionnerait qu'une faible mortalité des larves de la TBO et protégerait ainsi une partie des populations de parasitoïdes. Par contre, des études seront nécessaires afin de connaître l'impact réel de ce produit chez les parasitoïdes de ces deux espèces. Également, d'autres

études tant en laboratoire que sur le terrain seraient pertinentes puisque nous connaissons très peu les effets du tébufénozide sur la génération subséquente. En effet, il serait intéressant de déterminer si le tébufénozide présent chez les femelles est transféré dans les œufs en développement, tout comme l'ecdysone chez certaines insectes (Delbecque et *al.*, 1990 ; Makka et *al.*, 2002), et si sa présence pourrait réduire la survie de la progéniture. À ce propos, il est intéressant de mentionner que l'alimentation des parents est connue pour affecter la survie de la progéniture chez *C. fumiferana* (Carisey et Bauce, 2002). Par ailleurs, la persistance du tébufénozide étant de 60 jours (Sundaram et *al.*, 1996a et b), il se peut également que suivant l'éclosion, les jeunes larves de 1^{er} et 2^{ème} stades soient affectées par la présence de résidus sur le feuillage, ce qui réduirait encore davantage les niveaux de populations. Dans le cas de *C. fumiferana*, des études sur le terrain tendent à démontrer cette affirmation (Régnière et *al.*, 2001 ; Cadogan et *al.*; 2002). Finalement, il serait important de connaître les effets de cet agoniste sur la diapause larvaire, puisqu'un niveau élevé d'ecdysone prévient l'entrée en diapause chez certaines espèces d'insectes (Sielezniew et Cymborowski, 1997 ; Hamel et *al.*, 1998) et qu'un effet similaire du tébufénozide pourrait affecter grandement la survie des larves de *C. fumiferana* et *C. rosaceana* qui doivent passer l'hiver en diapause.

Bibliographie

- Adams, T. S., Dillwith, J. W. et Blomquist, G. J. 1984. The role of 20-hydroxyecdysone in housefly sex pheromone biosynthesis. *J. Insect Physiol.* 30, 287-294.
- Anton, S. et Gadenne, C. 1999. Effect of juvenile hormone on the central nervous processing of sex pheromone in an insect. *Neurobiology* 96, 5764-5767.
- Bauce, É. et Carisey, N. 1996. Larval feeding behaviour affects the impact of staminate flower production on the suitability of balsam fir trees for spruce budworm. *Oecologia* 105, 126-131.
- Barth, R. H. 1961. Hormonal control of sex attractant production in the Cuban cockroach. *Science* 133, 1598-1599.
- Barth, R. H. 1962. The endocrine control of mating behavior in the cockroach *Byrsotria fumigata* (Guérin). *Gen. Comp. Endocrinol.* 2, 53-69.
- Barth, R. H. 1965. Insect mating behaviour: endocrine control of chemical communication system. *Science* 149, 882-883.
- Barth, R. H. et Lester, L. J. 1973. Neuro-hormonal control of sexual behavior in insects. *Ann. Rev. Entomol.* 18, 445-472.
- Beckemeyer, E. F. et Lea, A. O. 1980. Induction of follicle separation in the mosquito to physiological amounts of ecdysterone. *Science* 209, 819-821.
- Bellés, X. 1995. Interactions between corpora allata, fat body and ovary in insect reproduction: which controls which? *Netherlands J. Zool.* 45, 152-156.
- Belyaeva, T. G. 1966. Experimental study of the role of corpora allata in sexual maturation of *Gryllus domesticus*. *Zurn. Obsc. Biol.* 27, 244-251.
- Biddinger, D. J., et Hull, L. A. 1999. Sublethal effects of selected insecticides on growth and reproduction of a laboratory susceptible strain of tufted apple bud moth (Lepidoptera : Tortricidae). *J. Econ. Entomol.* 92, 314-324.
- Blomquist, G. J., Adams, T. S. et Dillwith, J. W. 1984. Induction of female sex pheromone production in male houseflies by ovary implants or 20-hydroxyecdysone. *J. Insect Physiol.* 30, 295-302.
- Bordereau, C., Hirn, M. Delbecque, J. P. et De Reggi, M. 1976. Présence d'ecdysone chez un insecte adulte: la reine de Termite. *C. R. Acad. Sci.* 282, 885-888.

- Brown, J. J. 1994. Effect of nonsteroidal ecdysone agonist, tébufénozide, on host / parasitoid interactions. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 26, 235-248.
- Brown, J. J. 1996. The compatibility of tébufénozide with a laboratory lepidopteran host-hymenopteran parasitoid population. *Biol. Control* 6, 96-104.
- Buszczak, M., Freeman, M. R., Carlson, J. R., Bender, M., Cooley, L. et Seagraves, W. A. 1999. Ecdysone response genes govern egg chamber development during mid-oogenesis in *Drosophila*. *Development* 126, 4581-4589.
- Cadogan, B. L., Scharbach, R. D., Krause, R. E. et Knowles, K. R. 2002. Evaluation of tebufenozide carry-over and residual effects on spruce budworm (Lepidoptera : Tortricidae). *Forest Entomol.* 95, 578-586.
- Cardé, R. T. et Baker, T. C. 1984. Sexual communication with pheromones. Dans *Chemical ecology of insects*. Bell, W. J. et Cardé, R. T. (Eds.), Chapman et Hall, London, pp. 355-383.
- Cardé, R. T. et Mafra-Neto, A. 1997. Mechanisms of flight of male moths to pheromone. Dans *Insect pheromone research; new directions*. Cardé, R. T. et Minks, A. K. (Eds), Chapman & Hall, pp. 275-290.
- Carisey, N et Bauce, É. 2002. Does nutrition-related stress carry over to spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera : Tortricidae) progeny ? *Bull. Entomol. Research* 92, 101-108.
- Carpenter, J. E. et Chandler, L. D. 1994. Effects of sublethal doses of two insect growth regulators on *Helicoverpa zea* (Lepidoptera : Noctuidae) reproduction. *J. Entomol. Sci.* 29, 428-435.
- Charmillot, P. J., Favre, R., Pasquier, D., Rhyn, M. et Scalco, A. 1994. Effet du régulateur de croissance d'insectes (RCI) tébufénozide sur les œufs, les larves et les papillons des vers de la grappe *Lobesia botrana* Den & Schiff. et *Eupoecilia ambiguella* Hb. *Mitteilungen der Schweizerischen Entomologischen Gesellschaft* 67, 393-402.
- Chudakova, I., Maslennikova, V. et Luchnikova, E. 1982. Effect of 20-hydroxyecdysone on *Acheta domesticus* (L) (Orthoptera) and *Drosophila melanogaster* Meig (Diptera) reproduction. *Zool. Jb. Physiol.* 86, 45-52.
- Christensen, T. A. et Hildebrand, J. G. 1987. Male-specific, sex pheromone-selective projection neurons in the antennal lobes of the moth, *Manduca sexta*. *J. Comp. Physiol.* 160, 553-569.
- Cusson, M. et McNeil, J. N. 1989. Involvement of juvenile hormone in the regulation of pheromone release activities in a moth. *Science* 243, 210-212.

- Cusson, M., Tobe, S. S. et McNeil, J. N. 1994. Juvenile hormones : their role in the regulation of the pheromonal communication system of the Armyworm moth, *Pseudaletia unipuncta*. Arch. Insect Biochem. Physiol. 25, 329-345
- Dees, W. H., Sonenshine, D. E. et Breidling, E. 1985. Ecdysteroids in the camel tick, *Hyalomma dromedarii* (Acari : Ixodidae), and comparison with sex pheromone activity. J. Med. Entomol. 22, 22-27.
- Dhadialla, T. S., Carlson G. R. et Le D. P. 1998. New insecticides with ecdysteroidal and juvenile hormone activity. Ann. Rev. Entomol. 43, 545-569.
- Delbecq, J.-P., Weidner, K. et Hoffmann, K. H. 1990. Alternative sites for ecdysteroid production in insects. Invert. Reprod. Dev. 18, 49-42.
- Delisle, J. 1995. Effect of male and female age on the mating success of the obliquebanded leafroller *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera: Tortricidae) under different ecological conditions. J. Insect Behavior 8, 781-799.
- Delisle, J. et Royer, L. 1994. Changes in pheromone titer of obliquebanded leafroller, *Choristoneura rosaceana*, virgin females as a function of time of day, age, and temperature. J. Chem. Ecol. 20, 45-69.
- Delisle, J. et Bouchard, A. 1995. Male larval nutrition in *Choristoneura rosaceana* (Lepidoptera : Tortricidae) : an important factor in reproductive success. Oecologia 104, 508-17
- Delisle, J. et Hardy, M. 1997. Male larval nutrition influences the reproductive success of both sexes of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera : Tortricidae). Func. Ecol. 11, 451-463.
- Delisle, J. et Cusson, M. 1999. Juvenile hormone biosynthesis, oocyte growth and vitellogenin accumulation in *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana* : a comparative study. J. Insect Physiol. 45, 515-523.
- Delisle, J., Picimbon, J. F. et Simard, J. 2000. Regulation of pheromone inhibition in mated females of *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. J. Insect Physiol. 46, 913-921.
- Delisle, J. et Simard, J. 2002. Factors involved in the post-copulatory neural inhibition of pheromone production in *Choristoneura fumiferana* et *C. rosaceana* females. J. Insect Physiol. 48, 181-188.
- Dumser, J. B. 1980. In vitro effects of ecdysterone on the spermatogonial cell cycle in *Locusta*. Int. J. Invert. Reprod. 2, 165-174.
- Dumser, J. B. et Davey, K. G. 1975. The *Rhodinus testis* : hormonal effects on cell division. Can. J. Zool. 53, 1682-1689.

- Elekonich, M. M. et Robinson, G. E. 2000. Organizational and activational effects of hormones on insect behavior. *J. Insect Physiol.* 46, 1509-1515.
- Friedländer, M. 1997. Control of eupyrene-apyrene sperm dimorphism in Lepidoptera. *J. Insect Physiol.* 43, 1085-1092.
- Gadenne, C. 1993. Effects of fenoxycarb, juvenile hormone mimetic, on female sexual behaviour of the black cutworm, *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera : Noctuidae). *J. Insect Physiol.* 39, 25-29.
- Gadenne, C., Grenier, S., Mauchamp, B. et Plantevin, G. 1990. Effects of a juvenile hormone mimetic, fenoxycarb, on post-embryonic development of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* Hbn. *Experientia* 46, 744-747.
- Gadenne, C. et Anton, S. 2000. Central processing of sex pheromone stimuli is differentially regulated by juvenile hormone in a male moth. *J. Insect Physiol.* 46, 1195-1206.
- Gallois, D. 1989. Control of cell differentiation in the male accessory reproductive glands of *Locusta migratoria*: acquisition and reversal of competence to imaginal secretion. *J. Insect Physiol.* 35, 189-195.
- Gelman, D. B., Woods, C. W. et Borkovec, A. B. 1988. Effects of ecdysone and 20-hydroxyecdysone on apyrene spermiogenesis in the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *J. Insect Physiol.* 35, 733-738.
- Giebultowicz, J. M., Feldlaufer, M. et Gelman, D. B. 1990. Role of ecdysteroids in the regulation of sperm release from the testis of the gypsy moth, *Lymantria dispar*. *J. Insect Physiol.* 36, 567-571.
- Grimnes, K. A. et Happ, G. M. 1987. Ecdysteroids *in vitro* promote differentiation in the accessory glands of male mealworm beetles. *Experientia* 43, 906-907.
- Hagedorn, H. H. 1985. The role of ecdysteroids in reproduction. Dans *Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology*. Kerkut, G. A. et Gilbert, L. I. (Eds), Pergamon, Oxford, Vol 8. pp. 205-262.
- Hagedorn, H. H., O'Connor, J. D., Fuchs, M. S., Sage, B., Schlaeger, D. A. et Bohm, M. K. 1975. The ovary as a source of α -ecdysone in an adult mosquito. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 72, 3255-3259.
- Hamel, M., Geri, C. et Auger-Rozenberg, M.-A. 1998. The effect of 20-hydroxyecdysone on breaking diapause of *Diprion pini* L. (Hym., Diprionidae). *Physiol. Entomol.* 23, 337-346.
- Hansson, B. S. 1995. Olfaction in insect. *Experientia* 51, 1003-1027.

- Hansson, B. S. and Anton, S. 2000. Function and morphology of the antennal lobe: new developments. *Annu. Rev. Entomol.* 45, 203-231.
- Happ, G. M. 1992. Maturation of the male reproductive system and its endocrine regulation. *Ann. Rev. Entomol.* 37, 303-320.
- Hoffmann, J. A. 1980. Ecdysone et reproduction chez les femelles adultes d'insectes. *Reprod. Nutr. Dev.* 20, 443-456.
- Hoffmann, J. A., Lagueux, M., Hetru, C., Charlet, M. et Goltzené, F. 1980. Ecdysone in reproductively competent female adults and in embryos of insects. Dans Hoffmann, J. A. (ed) *Progress in Ecdysone Research*. Elsevier, North Holland, Amsterdam. pp.431-465.
- Hoffman, K. H. et Sorge, D. 1996. Vitellogenin levels in allatectomized female crickets *Gryllus bimaculatus* de Geer (Ensifera, Gryllidae). *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 32, 549-558.
- Itagaki, H. et Conner, W. E. 1986. Physiological control of pheromone release behaviour in *Manduca sexta*. *J. Insect Physiol.* 32, 657-664.
- Iyengar, V. K., Eisner, T. 1999. Heritability of body mass, a sexually selected trait, in an arctiid moth (*Utetheisa ornatrix*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 96, 9169-9171.
- Kawamura, N., Sahara, K. et Fugo, H. 2003. Glucose and ecdysteroid increase apyrene sperm production in *in vitro* cultivation of spermatocysts of *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* 49, 25-30.
- Klowden, M. J. 1997. Endocrine aspects of mosquito reproduction. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35, 491-512.
- Knight, A. L. 2000. Tebufenozide targeted against codling moth (Lepidoptera : Tortricidae) adults, eggs, and larvae. *J. Econ. Entomol.* 93,1760-1767.
- Koeppel, J. K., Fuchs, M., Chen, T. T., Hunt, L.-M., Kovalick, G. E. et Briers, T. 1985. The role of juvenile hormone in reproduction. Dans *Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology*. Kerkut, G. A. et Gilbert, L. I. (Eds), vol. 8, Pergamon Press, Oxford. pp. 165-203.
- Koller, C. N. et Raikhel, A. S. 1991. Initiation of vitellogenin uptake and protein synthesis in the mosquito (*Aedes aegypti*) ovary in response to a blood meal. *J. Insect Physiol.* 37, 703-711.
- Kosal, E. F., Niedzlek-Feaver, M. 1997. Female preference for large, heavy mates in *Schistocerca americana* (Orthoptera: Acrididae). *J. Insect Behav.* 10, 711-725.

- Lageux, M., Hirn, M., De Reggi, M. et Hoffmann, J. A. 1976. Rôle de l'ecdysone au cours du développement ovarien de *Locusta migratoria*. C. R. Acad. Sci., Paris (D) 283, 1081-1084.
- Lea, A. O. 1972. Regulation of egg maturation in the mosquito by the neurosecretory system: the role of the corpus cardiacum. Gen. Comp. Endocrinol. 3, 602-608.
- Lin, Y., Hamblin, M. T., Edwards, M. J., Barillas-Mury, C., Kanost, M. R., Knipple, D. C., Wolfner, M. F. et Hagedorn, H. H. 1993. Structure, expression, and hormonal control of genes from the mosquito, *Aedes aegypti*, which encode proteins similar to the vitellin membrane proteins of *Drosophila melanogaster*. Dev Biol. 155, 558-568.
- Loeb, M. J., Woods, C. W., Brandt, E. P., et Borkhovec, A. B. 1982. Larval testes of the tobacco budworm; a new source of ecdysteroids. Science 218, 896-898.
- Loeb, M. J., Brandt, E. P., et Birnbaum, M. J. 1984. Ecdysteroid production by testes of the tobacco budworm, *Heliothis virescens*, from last larval instar to adult. J. Insect Physiol. 30, 375-381.
- Loeb, M. J. et Hakim, R. S. 1991. Development of genital imaginal discs of *Heliothis virescens* culture *in vitro* with 20-hydroxyecdysone and fat body or testis sheaths. Invert. Reprod. Dev. 20, 181-191.
- Makka, T., Seino, A., Tomita, S., Fujiwara, H. et Sonobe, H. 2002. A possible role of 20-hydroxyecdysone in embryonic development of the silkworm *Bombyx mori*. Arch. Insect Biochem. Physiol. 51, 111-120.
- Maltais, J., Régnière, J., Cloutier, C., Hébert, C. et Perry, D. F. 1989. Seasonal biology of *Meteorus trachynotus* Vier. (Hymenoptera : Braconidae) and of its overwintering host *Choristoneura rosaceana* (Harr.) (Lepidoptera : Tortricidae). Can. Entomol. 121, 745-756.
- Martin, D., Wang, S.-F. et Raikel, A. S. 2001. The vitellogenin gene of the mosquito *Aedes aegypti* is a direct target of ecdysteroid receptor. Mol. Cell. Endocrin. 173, 75-86.
- Mauchamp, B., Malosse, C. et Saroglia, P. 1989. Biological effects and metabolism of fenoxycarb after treatment of the fourth and fifth instars of the tobacco budworm *Heliothis virescens* F. Pestic. Sci. 26, 283-301.
- McGugan, B. M. 1954. Needle-mining habits and larval instars of the spruce budworm. Can. Entomol. 86, 439-454.
- Muyle, H. et Gordon, R. 1989. Effects of selected juvenile hormone analogs on sixth-instar larvae of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* Clemens (Lepidoptera: Tortricidae). Can. Entomol. 121, 1271-1272.

- Nowock, J. 1972. Induction of imaginal differentiation by ecdysone in testes of *Ephestia kuhniella*. J. Insect Physiol. 18, 1699-1704.
- Nowock, 1973. Growth and metamorphosis in the testes of *Ephestia kuhniella* in vitro. J. Insect Physiol. 19, 941-949.
- Oberlander, H. 1985. The imaginal discs. Dans Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. Kerkut, G. A., Gilbert, L. I. (Eds), vol. 2. Pergamon Press, Oxford, p.151-182.
- Osanai, M., Kusaga, H. et Aigaki, T. 1987. Physiological role of apyrene spermatozoa of *Bombyx mori*. Experientia 43, 593-596.
- Outram, I. 1971. Aspects of mating in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera : Tortricidae). Can. Entomol. 103, 1121-1128.
- Palaniswamy, P., Sivasubramanian, P. et Seabrook, W. D. 1979. Modulation of sex pheromone perception in female moths of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* by Altosid. J. Insect Physiol. 25, 571-574.
- Palli, S. R., Primavera, M., Tomkins, W., Lambert, D. et Retnakaran, A. 1995. Age-specific effects of a non-steroidal ecdysteroid agonist, RH-5992, on the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae). Eur. J. Entomol. 92, 325-332.
- Pascual, N., Cerdá, X., Benito, B., Tomás, J., Piulachs, M. D. et Bellés, X. 1992. Ovarian ecdysteroid levels and basal oöcyte development during maturation in the cockroach *Blattella germanica* (L.). J. Insect Physiol. 38, 339-348.
- Parlak, O., Sakurai, S., Kaya, M. et Ohtaki, T. 1992. Content and possible role of ecdysteroids in the larval ovary of the silkworm, *Bombyx mori*. Inv. Rep. Dev. 21, 1-6.
- Phelan, P. L. et Baker, T. C. 1986. Male size related courtship success and intersexual selection in the tobacco moth *Ephestia elutella*. Experientia 42, 1291-1293.
- Raina, A. K. et Klun, J. A. 1984. Brain factor control of sex pheromone production in the female corn earworm moth. Science 225, 531-533.
- Rafaeli, A. 2002. Neuroendocrine control of pheromone biosynthesis in moths. Int. Rev. Cytol. 213, 49-91.
- Rafaeli, A., Zakharova, T., Lapsker, Z. et Jurenka, R. A. 2003. The identification of an age- and female-specific putative PBAN membrane-receptor protein in pheromone glands of *Helicoverpa armigera*: possible up-regulation by juvenile hormone. Insect Biochem. Mol. Biol. 33, 371-380.

- Ramaswamy, S. B., Shengqiang, S., Yong, I. P. et Fanrong, Z. 1997. Dynamics of juvenile hormone-mediated gonadotropism in the Lepidoptera. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35, 539-558.
- Régnière, J., Cadogan, L. et Retnakaran, A. 2001. SERG project 1999/05. Early intervention against spruce budworm: Mimic[®] Trials in Manitoba 2000/2001. Interim report, February 2001.
- Reissig, W. H. 1978. Biology and control of the obliquebanded leafroller on apples. *J. Econ. Entomol.* 71, 804-809.
- Retnakaran, A., Hiruma, K., Palli, S. R. et Riddiford, L. M. 1995. Molecular analysis of the mode of action of RH-5992, a lepidopteran-specific, non-steroidal ecdysteroid agonist. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 25, 109-117.
- Retnakaran, A., Macdonald, W. L., Tomkins, W. L., Davis, C. N., Brownwright, A. J. et Palli, S. R. 1997a. Ultrastructural effects of a non-steroidal ecdysone agonist, RH-5992, on the sixth instar larva of the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *J. Insect Physiol.* 43, 55-68.
- Retnakaran, A., Smith, L. F. R., Tomkins, W. L., Primavera, M. J., Palli, S. R. et Payne, N. 1997b. Effect of RH-5992, a nonsteroidal ecdysone agonist, on the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Lepidoptera: Tortricidae): laboratory, greenhouse, and ground spray trials. *Can. Entomol.* 129, 871-885.
- Rodriguez, L. M., Ottea, J. A. et Reagan, T. E. 2001. Selection, egg viability, and fecundity of the sugarcane borer (Lepidoptera: Crambidae) with tebufenozide. *J. Econ. Entomol.* 94, 1553-1557.
- Roelofs, W. L., et Feng, K. C. 1968. Sex pheromone specificity tests in the Tortricidae. An introductory report. *Ann. Entomol. Soc. Am.* 61, 312-316.
- Rospars, J. P. 1988. Structure and development of the insect antennodeutocerebral systems. *Int. J. Insect Morphol. Embryol.* 17, 243-294.
- Rubenstein, E. C., Kelly, T. J., Schwartz, M. B. et Woods, C. W. 1982. *In vitro* synthesis and secretion of ecdysteroids by *Drosophila melanogaster* ovaries. *J. Exp. Zool.* 223, 305-309.
- Salem, H., Smagghe, G. et Degheele, D. 1997. Effects of tebufenozide on oocyte growth in *Plodia interpunctella*. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.* 62, 9-13.
- Sasaki, M., Riddiford, L. M., Truman, J. W. et Moore, J. K. 1983. Re-evaluation of the role of corpora cardiaca in calling and oviposition behaviour of giant silk moths. *J. Insect Physiol.* 29, 695-705.

- Satyanarayana, K., Yu, J. H., Bhaskaran, G., Dahm, K. H. et Meola, R. 1992. Regulation of vitellogenin synthesis by juvenile hormone in the corn earworm, *Helicoverpa zea*. *Invert. Reprod. Dev.* 21, 169-178.
- Satyanarayana, K., Bradfield, J. Y., Bhaskaran, G., Dahm, K. H. 1994. Stimulation of vitellogenin production by methoprene in prepupae and pupae of *Manduca sexta*. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 25, 21-37.
- Schal, C. et Smith, A. F. 1990. Neuroendocrine regulation of hormone production in cockroaches. Dans *Cockroaches as models for neurobiology: Application in biomedical research*. Huber, B. R., Rao, B. R. et Masler, E. P. (Eds). CRC Press, Boca Raton, Fl. 179-200.
- Shinbo, H. et Happ, G. M. 1989. Effects of ecdysteroids on the growth of the post-testicular reproductive organs in the silkworm, *Bombyx mori*. *J. Insect Physiol.* 35, 855-864.
- Sielezniew, M. et Cymborowski, B. 1997. Effects of ecdysteroid agonist RH-5849 on pupal diapause of the tobacco hornworm (*Manduca sexta*). *Arch. Insect Biochem Physiol.* 35, 191-197.
- Smaghe, G. et Degheele, D. 1994. The significance of pharmacokinetics and metabolism to the biological activity of RH-5992 (tebufenozide) in *Spodoptera exempta*, *Spodoptera exigua*, and *Leptinotarsa decemlineata*. *Pest. Biochem. Physiol.* 49, 224-234.
- Smaghe, G., Eelen, H., Verschelde, E., Richter, K. et Degheele, D. 1996a. Differential effects of nonsteroidal ecdysteroid agonist in Coleoptera and Lepidoptera : analysis of evagination and receptor binding in imaginal discs. *Insect. Biochem. Molec. Biol.* 26, 687-695.
- Smaghe, G., Vinuela, E., Budia, F. et Degheele, D. 1996b. *In vivo* and *in vitro* effects of the nonsteroidal ecdysteroid agonist tebufenozide on cuticle formation in *Spodoptera exigua* : an ultrastructural approach. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 32, 121-134.
- Smaghe, G., Salem, H., Tirry, L. et Degheele, D. 1996c. Action of a novel insect growth regulator tebufenozide against different developmental stages of four stored product insects. *Parasitica* 52, 61-69.
- Sridevi, R., Bajaj, P. et Dutta-Gupta, A. 1988. Ecdysteroid stimulated protein synthesis in the male accessory glands of *Spodoptera litura*. *Invert. Reprod. Dev.* 14, 177-186.
- Strambi, A., Strambi, C. et Cayre, M. 1997. Hormonal control of reproduction and reproductive behavior in crickets. *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 35, 393-404.
- Sun, X., Barrett, B. A. et Biddinger, D. J. 2000. Fecundity and fertility reductions in adult leafrollers exposed to surfaces treated with the ecdysteroid agonist tebufenozide and methoxyfenozide. *Entomol. Exp. Appl.* 94, 75-83.

- Sundaram, M., Nott, R. et Curry, J. 1996a. Deposition, persistence and fate of tebufenozide (RH-5992) in some terrestrial and aquatic components of a boreal forest environment after aerial application of Mimic[®]. *J. Environ. Sci. Health*, B31 (4), 699-750.
- Sundaram, M., Sundaram, A. et Sloane, L. 1996b. Foliar persistence and residual activity of tebufenozide against spruce budworm larvae. *Pestic. Sci.* 47, 31-40.
- Sundaram, M., Palli, S. R., Krell, P. J., Sohi, S. S., Dhadialla, T. S. et Retnakaran, A. 1998. Basis for selective action of a synthetic molting hormone agonist, RH-5992 on lepidopteran insects. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 28, 693-704.
- Sundaram, M., Smagghe, G., Ishaaya, I., Feng, Q. L., Primavera, M., Tomkins, W. L., Krell, P. J., Palli, S. R. et Retnakaran, A. 2002. Effect of RH-5992 on adult development in the spruce budworm, *Choristoneura fumiferana*. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 32, 225-231.
- Szopa, T. M., Lenoir Rousseaux, J. J., Yuncker, C. et Happ, G. M. 1985. Ecdysteroids accelerate mitoses in accessory glands of beetle pupae. *Dev. Biol.* 107, 675-682.
- Tang, J. D., Charlton, R. E., Cardé, R. T. et Yin, C. M. 1987. Effect of allatectomy and ventral nerve cord transection on calling pheromone emission and pheromone production in *Lymantria dispar*. *J. Insect Physiol.* 33, 469-476.
- Tang, J. D., Wolf, W. A., Roelofs, W. L. et Knipple, D. C. 1991. Development of functionally competent cabbage looper moth sex pheromone glands. *Insect Biochem.* 21, 573-581.
- Taylor, D., Phillips, J. S., Sonenshine, D. E. et Hanson, F. E. 1991. Ecdysteroids as a component of the genital sex pheromone in two species of hard ticks, *Dermacentor variabilis* and *Dermacentor andersoni* (Acari : Ixodidae). *Exp. App. Acarology.* 12, 275-296.
- Thireau, J.-C. et Régnière, J. 1995. Development, reproduction, voltinism and host synchrony of *Meteorus trachynotus* with its hosts *Choristoneura fumiferana* and *C. rosaceana*. *Entomol. Exp. Appl.* 76, 67-82.
- Thornill, R. et Alcock, J. 1983. The evolution of insect mating systems. Harvard University Press, Cambridge, Massachusetts. 547 pp.
- Thornson, B. J. et Riemann, J. G. 1982. Effects of 20-hydroxyecdysone on sperm release from the testes of the mediterranean flour moth, *Anagasta kuehniella* (Zeller). *J. Insect Physiol.* 28, 1013-1019.
- Tillman, J. A., Seybold, S. J., Jurenka, R. A. et Blomquist, G. J. 1999. Insect pheromones – an overview of biosynthesis and endocrine regulation. *Insect Biochem. Mol. Biology* 29, 481-514.

- Vanderwel, D. et Oehlschlager, A. C. 1987. Biosynthesis of pheromones and endocrine regulation of phromone production in Coleoptera. Dans Pheromone biochemistry. Prestwich, G. D. et Blomquist, G. J. (Eds). Academic press, New-York 175-215.
- Vogt, R. G., Rybczynski, R., Cruz, M. et Lerner, M. R. 1993. Ecdysteroid regulation of olfactory protein expression in the developping antenna of the tobacco hawk moth, *Manduca sexta*. J. Neurobiol. 24, 581-597.
- Waldstein, D. E. et Reissig, W. H. 2001. Apple damage, pest phenology, and factors influencing the efficacy of tebufenozide for control of obliquebanded leafroller (Lepidoptera : Tortricidae). Hort. Entomol. 94, 673-679.
- Weatherston, J. et Percy, J. E. 1970. Studies of physiologically active arthropod secretions. IV. Topography of the sex pheromone producing gland of the eastern spruce budworm, *Choristoneura fumiferana* (Clem) (Lepidoptera: Tortricidae). Can. J. Zool. 48, 569-571.
- Wigglesworth, V. B. 1936. The function of the corpus allatum in the growth and reproduction of *Rhodnius proxilus* (Hemiptera). Quart. J. Micr. Sci. 79, 91-121.
- Wing, K. D., Slawewski, R. A. et Carlson, G. R. 1988. RH 5849, a nonsteroidal ecdysone agonist : effects on larval Lepidoptera. Science 241, 470-472.
- Williams, C. M. 1967. The juvenile hormone II. Its role in the endocrine control of molting, pupation, and adult development in the cecropia silkworm. Biol. Bull. Woods Hole 121, 572-585.
- Williams, D. R., Fisher, M. J., Smagghe, G. et Rees, H. H. 2002. Species specificity of changes in ecdysteroid metabolism in response to ecdysteroid agonist. Pest. Biochem. Physiol. 72, 91-99.