

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université 8 Mai 1945 Guelma



Faculté Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers  
Département de Biologie  
Laboratoire de domiciliation : Biologie, Eau et Environnement (*LBEE*)

## THÈSE

### EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT EN 3<sup>ème</sup> CYCLE

Domaine : Sciences de la nature et de la Vie      Filière : Sciences biologiques  
Spécialité : Biochimie Appliquée

Présentée par

**HALASSI Imane**

*Intitulée*

**Evaluation du métabolisme lipidique des Odonates bioindicatrices de la qualité de l'eau des écosystèmes aquatiques et étude de leur microflore au cours de leur cycle de développement**

Soutenue le : 06/03/2022

Devant le Jury composé de :

**Nom et Prénom**

**Grade**

Mme. GRARA Nedjoud	Professeur	Univ. de Guelma	Présidente
Mr. HOUHAMDJ Moussa	Professeur	Univ. de Guelma	Encadreur
Mr. BOUDALIA Sofiane	MCA	Univ. de Guelma	Co-encadreur
Mme. FEKNOUS Nesrine	MCA	Univ. d'El-Tarf	Examinatrice
Mr. BOUMENDJEL Mahiedine	MCA	Univ. d'Annaba	Examineur
Mr. BARA Mouslim	MCA	Univ. de Guelma	Examineur

Année Universitaire : 2020/2021

## **Remerciements**

*La réalisation de ce travail ne saurait être considérée comme le fruit d'un effort individuel. Tout au contraire, ce travail est la résultante d'un ensemble conjugué d'apports humains, financiers et intellectuels. Certes, nous ne pouvons pas citer ici toutes les personnes qui m'ont apporté leur soutien, mais je tiens à remercier particulièrement :*

*Avant tout à Dieu le tout puissant qui m'a donné le courage et la force pour réaliser ce modeste travail, et à qui j'adresse mes remerciements par sa grâce infinie pour moi. Puis à Madame **GRARA Nedjoud** à l'Université de Guelma pour l'honneur qu'elle me fait d'avoir bien voulu présider mon jury.*

*J'aimerais ensuite adresser ma plus sincère gratitude à mon directeur de Thèse, monsieur **Houhamdi Moussa**, Professeur à l'université de Guelma. Un homme de science et de qualité passionné qui a à cœur la formation et la réussite de ses disciplines .merci infiniment pour vos conseils, votre soutien et votre confiance qui m'ont beaucoup aidé.*

*Mon profond respect et ma haute considération pour mon co-directeur de thèse Mr. **BOUDALIA Sofiane** Maitre de conférences (Université de Guelma).*

*Mes remerciements vont aussi aux membres de Jury : monsieur **BOUMENDJEL Mahiedine** Maitre de conférences en biologie à l'Université Badji Mokhtar Annaba, madame **FEKNOUS Nesrine** Maitre de conférences en biologie à l'Université d'El-Tarf et a monsieur **BARA Mouslim** Maitre de conférences en biologie à l'Université de Guelma.*

*Je remercie également Monsieur **SOLTANI Noureddine** de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire de biologie animale appliquée Université Badji Mokhtar Annaba.*

## *Dédicaces*

*Je dédie ce modeste travail à toute ma famille pour leur amour, leur tendresse et pour leur soutien moral*

---

# **Table des matières**

---

## Table des matières

Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction .....	1
<b>PREMIERE PARTIE : CONTEXTE GENERAL DE L'ETUDE</b>	
<b>1. Contexte général de l'étude .....</b>	<b>4</b>
1.1. Histoire évolutive des odonates.....	4
1.2. Etymologie odonate.....	5
1.3. Systématique et Classification .....	5
1.3.1. Zygoptères.....	5
1.3.2. Les Anisoptères .....	6
1.3.3. Les Anisozygoptères .....	6
1.4. Morphologie des Odonates.....	8
1.4.1. Morphologie de l'adulte .....	8
1.4.1.1. Tête .....	8
1.4.1.2. Thorax.....	9
1.4.1.3. Pattes.....	9
1.4.1.4. Ailes.....	10
1.4.1.5. Abdomen .....	11
1.4.1.6. Appareil génital .....	11
1.4.2. Morphologie des larves .....	12
1.4.2.1. Tête .....	13
1.4.2.2. Thorax.....	13
1.4.2.3. Abdomen .....	14
1.5. Cycle de vie des odonates.....	15
1.5.1. Œufs .....	16
1.5.2. Stade larvaire .....	16
1.5.3. Stade adulte .....	17
1.5.3.1. Période pré-reproductive .....	17
1.5.3.2. Période de maturation .....	17
1.5.3.3. Période de reproduction .....	18
1.5.3.4. Période post reproductive .....	19
1.5.3.5. Ponte « oviposition » .....	19

1.6. Bio-écologie des Odonates .....	21
1.6.1. Alimentation.....	21
1.6.2. Habitats.....	23
1.6.3. Prédateurs, proies et parasites .....	24

## Deuxième partie : Etude expérimentale

<b>2. Matériel et méthodes</b> .....	<b>26</b>
2.1. Présentation du matériel biologique .....	26
2.1.1. Etymologie et Classification .....	26
2.1.2. Genre des Sympetrums.....	26
2.1.3. Espèce étudiée .....	27
2.2. Collecte des œufs.....	28
2.3. Technique d'élevage au laboratoire .....	29
2.4. Etapes expérimentales .....	29
2.5. Suivi des paramètres de développement.....	29
2.6. Extraction et dosage des constituants biochimiques .....	30
2.6.1. Dosage de protéines .....	31
2.6.2. Dosage des glucides totaux.....	32
2.6.3. Dosage des lipides totaux .....	32
2.7. Extraction et dosage du malondialdéhyde .....	32
2.8. Présentation de l'insecticide .....	33
2.8.1. Exposition chronique à l'insecticide .....	34
2.9. Analyse bactériologique .....	34
2.9.1. Prélèvement des eaux .....	35
2.9.2. Prélèvement du microbiome intestinal des odonates.....	35
2.10. Isolements bactériens .....	36
2.10.1. Dénombrement des germes totaux (micro-organismes revivifiables).....	36
2.10.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux .....	36
2.10.3. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux et de <i>E. coli</i> .....	37
2.10.4. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux ou Entérocoques.....	38
2.10.5. Recherche et dénombrement des spores de bactéries des anaérobies sulfito-réductrice et de <i>Clostridium</i> sulfitoréducteurs.....	40
2.10.6. Isolement et identification des microorganismes pathogènes .....	40
2.10.7. Identification.....	41
2.10.7.1. Caractéristiques morphologiques .....	41
2.10.7.2. La coloration de Gram .....	41

2.10.7.3. Identification biochimique .....	41
2.10.7.3.1. Galeries biochimiques classiques pour les coliformes .....	42
2.10.7.3.2. Galeries d'API 20 E.....	47
2.11. Analyse statistique.....	48
<b>3. Résultats</b> .....	<b>49</b>
3.1. Suivi des paramètres de développement.....	49
3.1.1. Ecllosion et développement larvaire.....	49
3.1.2. Taux de mortalité.....	50
3.1.3. Développement larvaire et évolution de la masse corporelle .....	51
3.2. Composition biochimique des larves .....	54
3.2.1. Taux des protéines corporels .....	54
3.2.2. Taux des lipides totaux corporels .....	55
3.2.3. Taux des glucides totaux corporels.....	55
3.3. Caractérisation des effets du spirodiclofen.....	56
3.3.1. Effet du spirodiclofen sur le taux de mortalité .....	56
3.3.2. Effet du spirodiclofen sur le taux des lipides et poroteines totaux corporels.....	58
3.3.3. Effet du spirodiclofen sur le taux de malondialdéhyde (MDA) .....	59
3.4. Analyses bactériologiques .....	59
3.4.1. Analyses bactériologiques des eaux .....	59
3.4.1.1. Résultats des dénombrements des microorganismes dans l'eau .....	59
3.4.2. Identifications des souches bactériennes .....	63
3.4.2.1. Caractérisation morphologiques et coloration de Gram.....	63
3.4.2.2. Résultats d'identification biochimique.....	64
3.4.3. Analyse du microbiome intestinale de <i>sympetrum meridionale</i> .....	64
3.4.3.1. Mesures de la similarité (Jaccard index).....	65
<b>4. Discussion</b> .....	<b>66</b>
4.1. Suivi des paramètres de développement.....	66
4.2. Comparaison des compositions biochimiques des larves.....	69
4.3. Caractérisation des effets du spirodiclofen sur le taux des lipides totaux et le taux de malondialdéhyde (MDA).....	70
4.4. Etude bactériologique.....	72
Conclusion .....	75
Références bibliographiques.....	77
Résumés	
annexes	



---

# **Liste des abréviations**

---

## Liste des abréviations

µg : Microgramme

µl : Microlitre

ADN : Acide DésoxyriboNucléique

AGIS : Acide gras insaturé

ANOVA : Analyse de la variance

BBC : Bleu brillant de coomassie

BCPL : Bouillons Lactosé au Pourpre Bromocrésol

BSA : Albumine de sérum de bœuf

CL : Concentration létale

DO : Densité optique

EDTA : Acide éthylène diamine tétra-acétique

ISO : Organisation internationale de normalisation

MDA : Malondialdéhyde

mg : Milligramme

min : Minute

ml : Millilitre

NPP : Nombre le plus probable.

ONPG : Orthonitrophényl B-D-galactoside

P1 : prélèvement 1

P2 : prélèvement 2

S1 : Site 1

S2 : Site 2

TBA : Acide thiobarbiturique

TCA : Acide trichloroacétique

TDA tryptophane désaminase

TGEA : Tryptone Glucose Extract Agar

UFC : Unité Formant Colonie

V : Volume

VP : Voges-Prauskauer

Vs : Volume du surnageant utilisé

Vt : Volume total de la cuve

X : Taux du MDA

---

# Liste des tableaux

---

## Liste des tableaux

<b>Tableau 01.</b> Classification actuelle des Odonates. ....	7
<b>Tableau 02.</b> Différences entre les espèces du genre <i>Sympetrum</i> . ....	28
<b>Tableau 03.</b> Liste des sites d'échantillonnage, le code, l'information géographique et typologique.....	28
<b>Tableau 04.</b> Analyse du nombre initial d'œufs, du succès d'éclosion, de la survie et de la durée de vie des larves de <i>Sympetrum meridionale</i> . ....	49
<b>Tableau 05.</b> Résultats d'une ANCOVA factorielle pour <i>Sympetrum meridionale</i> avec l'origine de l'habitat comme facteurs indépendants, les stades larvaires comme covariables, et le nombre de décès comme variables dépendantes. ....	50
<b>Tableau 06.</b> Résultats d'une ANOVA factorielle pour <i>Sympetrum meridionale</i> avec l'origine de l'habitat, les stades larvaires comme facteurs indépendants et la durée des stades larvaires comme variables dépendantes. ....	52
<b>Tableau 07.</b> Résultats d'une ANOVA factorielle pour <i>Sympetrum meridionale</i> avec l'origine de l'habitat, les stades larvaires comme facteurs indépendants et la masse corporelle des larves comme variables dépendantes. ....	53
<b>Tableau 08.</b> Effet du spirodiclofen ( $\mu\text{g/l}$ ) appliqué sur les larves de <i>Sympetrum meridionale</i> sur le taux de mortalité observée (moyenne $\pm$ SEM, n=3 répétitions comportant chacune 10 individus).....	56
<b>Tableau 09.</b> Effet du spirodiclofen ( $\mu\text{g/l}$ ) appliqué sur les larves de <i>Sympetrum meridionale</i> , sur le taux de mortalité corrigée (moyenne $\pm$ SEM, n=3 répétitions comportant chacune 10 individus).....	57
<b>Tableau 10.</b> Toxicité du spirodiclofen : Détermination des concentrations létales (CL $\mu\text{g/l}$ ) avec leur intervalle de confiance (IC). ....	57
<b>Tableau 11.</b> Résultat de l'analyse de la variance à un critère de classification .....	58
<b>Tableau 12.</b> Résultats des NPP pour les Germes totaux /ml à 37 °C.....	59
<b>Tableau 13.</b> Résultats des NPP pour les Coliformes Totaux/ml .....	60
<b>Tableau 14.</b> Résultats des NPP pour les Coliformes fécaux/ml.....	61
<b>Tableau 15.</b> Résultats des NPP pour les Streptocoques fécaux/ml .....	61
<b>Tableau 16.</b> Caractères des colonies bactériennes isolées. ....	63
<b>Tableau 17.</b> Résultat d'identification biochimique des espèces isolées à partir des eaux .....	64

---

# Liste des figures

---

## Liste des figures

<b>Figure 01.</b> Fossile de Meganeuridae.....	4
<b>Figure 02.</b> Caloptéryx éclatant ( <i>Calopteryx splendens</i> ) mâle .....	6
<b>Figure 03.</b> Libellule gracieuse ( <i>Libellula pulchella</i> ).....	6
<b>Figure 04.</b> Epiophlebiidae <i>Epiophlebia superstes</i> .....	7
<b>Figure 05.</b> Morphologie de l'adulte d'Odonate (Coenagrionidae, Zygoptère). .....	8
<b>Figure 06.</b> Têtes des adultes des odonates.....	9
<b>Figure 07.</b> Morphologie générale du Thorax de <i>Aeshna juncea</i> (vue latérale) .....	9
<b>Figure 08.</b> Ailes et nervations des Zygoptères (A) et Anisoptère(B).....	10
<b>Figure 09.</b> Morphologie des odonates. ....	11
<b>Figure 10.</b> Morphologie générale de la larve. ....	13
<b>Figure 11.</b> Cycle de vie des odonates. ....	15
<b>Figure 12.</b> Emergence d'un Orthétrum réticulé ( <i>Orthetrum cancellatum</i> ) femelle .....	17
<b>Figure 13.</b> Caloptéryx vierge ( <i>Calopteryx virgo</i> ).....	19
<b>Figure 14.</b> Différents types de Ponte .....	21
<b>Figure 15.</b> Prédation des libellules .....	25
<b>Figure 16.</b> <i>Sympetrum meridionale</i> .....	27
<b>Figure 17.</b> Extraction des glucides, protéines et lipides totaux. ....	31
<b>Figure 18.</b> Formule de structure du spirodiclofen .....	34
<b>Figure 19.</b> Recherche et dénombrement des coliformes totaux (test de présomption) .....	37
<b>Figure 20.</b> Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (test confirmatif) .....	38
<b>Figure 21.</b> Recherche et dénombrement des Streptocoques .....	39
<b>Figure 22.</b> Galerie avant incubation .....	48
<b>Figure 23.</b> Moyenne de la durée de vie des larves de <i>Sympetrum meridionale</i> émergées au laboratoire (plus de 60 larves par groupe).....	50
<b>Figure 24.</b> Taux de mortalité de <i>Sympetrum meridionale</i> émergées au laboratoire .....	51
<b>Figure 25.</b> Durée de chaque stade larvaire d'élevage de <i>Sympetrum meridionale</i> provenant des deux habitats : Valeurs moyennes et Ecart types sont indiqués. ....	52
<b>Figure 26.</b> Variation de la masse corporelle larvaire de <i>Sympetrum meridionale</i> au cours de l'élevage.....	53
<b>Figure 27.</b> Evolution des teneurs en protéines durant les stades larvaire au niveau des deux habitats .....	54
<b>Figure 28.</b> Evolution des teneurs en lipides durant les cycles larvaire au niveau des deux habitats .....	55
<b>Figure 29.</b> Evolution des teneurs en glucides durant les cycles larvaire au niveau des deux habitats .....	56
<b>Figure 30.</b> Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme de la concentration de spirodiclofen ( $\mu\text{g/l}$ ). ....	57
<b>Figure 31.</b> Taux des lipides totaux corporels ( $\mu\text{g/mg}$ de tissu) des larves de <i>Sympetrum meridionale</i> après exposition à différentes concentrations du pesticide. ....	58
<b>Figure 32.</b> Taux des protéines totaux corporels ( $\mu\text{g/mg}$ de tissu) des larves de <i>Sympetrum meridionale</i> après exposition a différentes concentrations du pesticide. ....	58

<b>Figure 33.</b> Effet du spirodiclofen sur le taux de MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) des larves de <i>Sympetrum méridionale</i> après une exposition à différentes concentrations du pesticide. ....	59
<b>Figure 34.</b> Variation du nombre des Germes totaux dans les eaux. ....	60
<b>Figure 35.</b> Evolution des Coliformes totaux dans les eaux. ....	60
<b>Figure 36.</b> Evolution des Coliformes fécaux.....	61
<b>Figure 37.</b> Evolution des Streptocoques fécaux dans les eaux.....	62
<b>Figure 38.</b> Aspect macroscopique des colonies des Clostridies sulfito-réductrices sur milieu VF (Photo personnelle). ....	62

---

# **Introduction**

---

Dans la nature, il existe deux ensembles de tendances, à savoir le potentiel biotique qui tend à augmenter la population et la résistance environnementale et à réduire la population. De ce fait, une interaction constante existe toujours entre ces deux forces opposées qui maintiennent un équilibre dynamique connu sous le nom de "balance de la vie" (**Sherman, 2011**).

Le comportement de développement d'une espèce est généralement régi par deux contraintes majeures, les conditions de l'habitat que les individus occupent et les traits hérités de leurs ancêtres (**Waringer et al., 1984 ; Richardson, 2001 ; Hughes et al., 2008**). La manière dont les individus et les populations maximisent leurs performances locales compte tenu de l'hétérogénéité environnementale dans le temps et dans l'espace est donc d'un grand intérêt pour l'écologie évolutive (**Edelaar et al., 2017**).

De nombreux taxons d'invertébrés, y compris les insectes, sont de bons modèles permettant de prédire les impacts que les variations environnementales auront sur le comportement de développement des organismes (**Minot et al., 2019**). Parmi eux, les Odonates sont l'un des taxons les mieux adaptés à l'étude de la variabilité des traits selon les gradients environnementaux car ils ont un cycle de vie fascinant, une grande diversité de stratégies de reproduction et sont faciles à élever (**Johansson et al., 2004**).

Les caractéristiques du cycle biologique (durée de vie, taille de la ponte, durée d'éclosion et des larves, activité locomotrice et masse corporelle) d'une espèce sont déterminées par des gradients environnementaux, elles sont largement utilisées dans les études d'écologie comportementale et biologique des organismes (**Lailvaux et al., 2014**). De plus, les traits phénotypiques sont des composants de la lignée évolutive de l'espèce et peuvent être utilisés comme indicateur de la valeur adaptative de l'organisme (**Blanckenhorn, 2000 ; Williams, 1996 ; Suhling et al., 2005 ; Johansso et al., 2004**).

Les organismes sont généralement confrontés à des combinaisons de polluants avec des facteurs environnementaux. Ceci pose un problème pour l'évaluation des risques car les effets cumulatifs de ces combinaisons peuvent créer des surprises notamment sur la qualité et la diversité des espèces des écosystèmes (**Janssens et al., 2017**).

Une des principales sources de dégradation des écosystèmes aquatiques ainsi que du déclin de leur biodiversité est la pollution chimique. De nombreuses substances chimiques et organiques provenant des activités industrielles, agricoles ou domestiques atteignent directement ou indirectement les eaux. Il s'agit notamment, des pesticides. Ces pesticides qui sont appliqués pour la protection des corps sur les champs agricoles peuvent éventuellement

pénétrer dans les eaux de surface par dérive de pulvérisation ou par ruissellement lors de fortes pluies induisant un risque élevé pour les invertébrés aquatiques (**Finotello et al., 2017 ; Kuncce, 2017**). Ce sont l'un des principaux facteurs de la menace actuelle sur la biodiversité car en plus d'avoir un impact négatif sur les populations d'espèces nuisibles ciblées, il a été démontré que les pesticides réduisent également la performance des espèces non ciblées (**Janssens, 2017**).

Étant donné que les organismes accumulent des substances toxiques pendant toute leur vie, les concentrations tissulaires sont des mesures temporelles de la biodisponibilité des contaminants. *Les Odonates*, communément appelés «libellules», sont utilisés comme **bioindicateurs** pour caractériser la qualité des milieux aquatiques et plus particulièrement des zones humides, ou encore pour mesurer l'efficacité de procédures de restauration écologique des cours d'eau ou des zones humides (**Van Praet et al., 2014**).

En effet, au cours de la respiration, chez l'insecte comme chez le mammifère, la dégradation de l'oxygène donne naissance aux espèces réactives (espèces oxygénées activées (EOA)), comme les radicaux libres qui représentent des sources d'un stress oxydatif nocif pour les cellules. Dans des conditions normales, les EOA sont générées en faible quantité, Il se met alors en place un système antioxydant ou la balance antioxydant/pro-oxydant est équilibrée. Mais l'organisme peut être confronté à une surexposition à des composés oxydants lorsque la production endogène d'espèces réactives de l'oxygène (ERO) devient excessive suite à l'exposition à un phénomène toxique exogène comme les pesticides (**Fisher-Wellman et al., 2009**). Parmi les cibles des EOA on cite les lipides. Du fait de la présence en grande quantité et du rôle essentiel des lipides dans l'organisme et la richesse des membranes cellulaires en lipides particulièrement sensibles au stress oxydatif : les acides gras polyinsaturés. La peroxydation de lipide constitue la voie d'oxydation non enzymatique des lipides qui est contrairement aux trois voies d'oxydation enzymatique s'avère le plus souvent néfaste. Au lieu de conduire à des biomolécules essentielles pour l'organisme, elle génère des molécules capables de réagir avec les autres entités cellulaires ou nucléaires parmi lesquelles l'ADN (**Eymard, 2003 ; Falletti, 2007**).

Le MDA ou Malondialdéhyde est un marqueur de l'oxydation des lipides. Il est considéré comme un des produits terminaux de l'oxydation des acides gras polyinsaturés. Les taux élevés de MDA signent donc un stress oxydatif, portant notamment sur l'oxydation des lipides (**Guichardant et al., 2006**).

Cette étude, qui est menée sur une espèce d'Anisoptère menacée (*S. meridionale*) obtenue à partir de deux populations habitant deux méso-habitats différents du nord-est algérien exhibe de multiples objectifs:

1. Etudier les traits d'histoire de vie depuis l'éclosion des œufs jusqu'à la fin de l'expérience afin de mettre en évidence le rôle de la provenance de l'habitat parental de l'espèce dans le développement de leur progéniture.
2. Expliquer la réponse biologique de ces bioindicateurs à la pollution en analysant les biomarqueurs spécifiques qui mesurent l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental. L'inhibition ou l'induction de ces biomarqueurs est un bon outil environnemental pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur l'organisme. La capacité d'un organisme à s'adapter à un environnement altéré par la contamination anthropogénique, dépend principalement des mécanismes efficaces de la détoxification de divers composés endogènes et exogènes. Chez les organismes aquatiques, ces mécanismes sont les premiers sollicités par la présence des xénobiotiques (**Sifi et al., 2007**). Cette étude vise à préciser l'activité spécifique d'un biomarqueur de stress, le MDA (malondialdéhyde) des larves aux stades finaux exposées au Spirodiclofen.
3. Etude de la microflore intestinale pour suivre son développement chez les Odonates.

**Cette thèse est structurée en deux parties :**

- La première partie présente des connaissances et des généralités sur les odonates.
- Dans la deuxième partie sont présentés le matériel utilisé ainsi que la méthodologie suivie et des résultats et leur discussion.

---

**Première partie :**  
**Contexte général de**  
**l'étude**

---

## 1. Contexte général de l'étude

### 1.1. Histoire évolutive des odonates

C'est au Carbonifère, il y a 335 millions d'années, qu'apparaissent les premiers ancêtres des libellules, les Odonatoptères (Silsby, 2001). Il était notamment représenté par plusieurs espèces géantes dont *Meganeuropsis permiana*, pouvant atteindre 70 cm d'envergure et considéré comme le plus grand insecte ayant jamais existé (Grimaldi et al., 2005 ; Beckemeyer et al., 2007).

Les premiers fossiles de véritables odonates ont été trouvés dans des couches du Permien moyen, il y a 260 millions d'années (Fig. 01). Il s'agissait de Zygoptères très proches de nos espèces actuelles. A partir du Trias apparaissent les premiers anisoptères, mais les plus anciens fossiles d'Aeschnes et les Gomphidés ne datent que du Jurassique ancien (Silsby, 2001).

Les libellules résistent à l'extinction massive de la fin du Crétacé, qui marque la disparition des dinosaures. Elles poursuivent leur évolution et se maintiennent jusqu'à nos jours sous la forme d'insectes ayant finalement très peu évolué morphologiquement depuis les premiers âges (Jourde et al., 2009).



Figure 01. Fossile de Meganeuridae (1).

## 1.2. Etymologie odonate

C'est en 1792 que le naturaliste Fabricius donna le nom d'Odonata aux libellules qui par la suite s'est francisé en Odonate (**Satha, 2008**). Odonates, nom signifiant « mâchoires dentées » et provenant de la contraction des mots grecs odonto « dent » et gnathos « mâchoire », est la désignation scientifique du groupe des libellules (Anisoptères) et des demoiselles (Zygoptères). La principale différence entre ces deux taxons réside dans leur façon de disposer leurs ailes lorsqu'elles sont posées : ailes étendues chez les Anisoptères et au-dessus du corps chez les Zygoptères (**Dupont, 2010**).

## 1.3. Systématique et Classification

Appartenant aux arthropodes hexapodes, la classe des insectes se subdivise en aptérygotes et ptérygotes. Parmi ces derniers, le super-ordre des Odonatoptera (**Grand, 2010**). Les Odonates actuels sont représentés par près de 6 000 espèces et se séparent, en deux sous-ordres (**Legrand, 2001**) : les Zygoptera ou « demoiselles » et les Anisoptera ou « vraies libellules » (**Tab.01**) et des Anisozygoptera, représentés uniquement par quelques espèces tropicales (**Berquier, 2015**).

Ce sont des hémimétaboles à larves aquatiques dans leur immense majorité et prédateurs à tous les stades de leur cycle vital (**Durand et al., 1980**).

### 1.3.1. Zygoptères

Sont généralement de petite taille, les ailes antérieures et postérieures sont de forme identique (**Fig. 02**). Au repos, les ailes sont, le plus souvent, maintenues le long du corps (**Le Dû et al., 2014**). Elles partagent des caractéristiques similaires: les yeux sont très nettement écartés (habituellement séparés par la taille même d'un œil, si non, plus), l'abdomen est beaucoup plus long que les ailes, la structure du corps est fine et elles ont un vol ralenti (**Bybee, 2005**).



**Figure 02.** Caloptéryx éclatant (*Calopteryx splendens*) mâle (2).

### 1.3.2. Les Anisoptères

Ils regroupent les Odonates de taille moyenne et grande, à tête sphéroïde, aux yeux globuleux et massifs, à l'abdomen allongé et souvent élargi, au vol puissant et rapide dans la majorité des cas (**Fig. 03**). Au repos, les anisoptères maintiennent leurs ailes en position horizontale ou subhorizontale (**Durand et al., 1980**).



**Figure 03.** Libellule gracieuse (*Libellula pulchella*) (3).

### 1.3.3. Les Anisozygoptères

Ce groupe ne comprend que deux espèces, toutes deux asiatiques, pouvant vivre à plus de 3.000 mètres d'altitude (**Fig. 04**). Une espèce est himalayenne et une autre japonaise. Ce sont les plus anciennes apparues sur Terre et toujours présentes. Dotées d'yeux et d'ailes proches de ceux des Zygoptères, le reste de leur corps est semblable à celui des anisoptères (**Boucenna, 2018**).



Figure 04. Epiophlebiidae *Epiophlebia superstes* (Longchamps, 1889).

Tableau 01. Classification actuelle des Odonates.

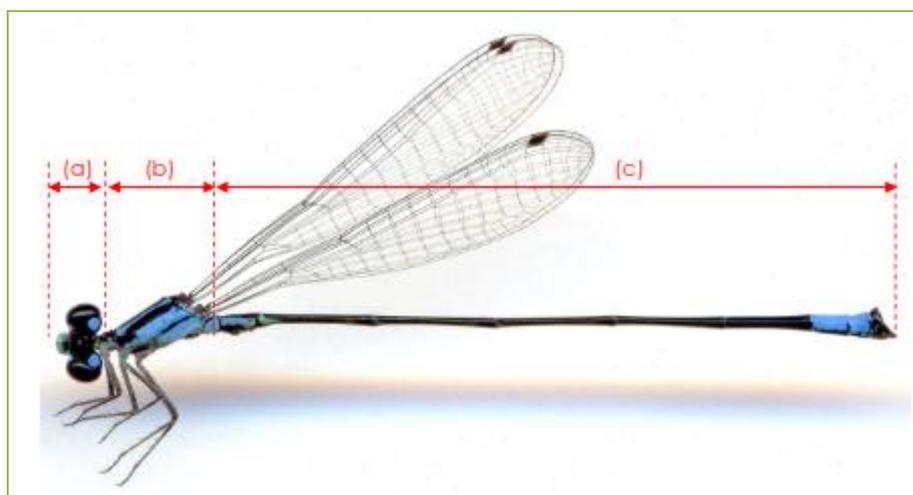
Sous-ordres	Familles	Genres	Nombre d'espèces
Zygoptera	<i>Calopterygidae</i>	<i>Calopteryx</i>	9
	<i>Lestidae</i>	<i>Lestes</i>	52
		<i>Sympecma</i>	3
	<i>Platycnemidae</i>	<i>Platycnemis</i>	33
	<i>Coenagrionidae</i>	<i>Ischnura</i>	21
		<i>Enallagma</i>	39
		<i>Coenagrion</i>	46
		<i>Pyrrhosoma</i>	3
		<i>Erythromma</i>	5
		<i>Ceriagrion</i>	2
Anisoptera	<i>Aeshnidae</i>	<i>Aeshna</i>	32
		<i>Anax</i>	29
		<i>Brachytron</i>	1
	<i>Gomphidae</i>	<i>Boyeria</i>	8
		<i>Gomphus</i>	62
		<i>Ophiogomphus</i>	30
	<i>Cordulegastridae</i>	<i>Onychogomphus</i>	6
		<i>Cordulegaster</i>	32
	<i>Corduliidae</i>	<i>Cordulia</i>	3
		<i>Somatochlora</i>	42
		<i>Epithea</i>	12
		<i>Oxygastra</i>	1
		<i>Macromia</i>	79
	<i>Libellulidae</i>	<i>Libellula</i>	27
		<i>Orthetrum</i>	60
		<i>Leucorrhinia</i>	11
<i>Sympetrum</i>		60	
<i>Crocothemis</i>		10	
<i>Trithemis</i>		42	

(d'Aguilar et al.,1998)

## 1.4. Morphologie des Odonates

### 1.4.1. Morphologie de l'adulte

Les odonates se distinguent des autres insectes non seulement par leur morphologie caractéristique tant chez l'adulte que chez la larve, mais surtout par des particularités structurales qui leur sont propres et qui sont, pour l'essentiel : l'existence chez le mâle de pièces génitales (genitalia) accessoires tout à fait à l'écart des voies génitales, et l'existence chez la larve d'un labium articulé : le masque qui recouvre les autres pièces buccales (**Durand et al., 1980**). Comme celui des autres insectes le corps des imagos se divise en trois parties (**Fig. 05**) : tête, thorax, abdomen (**D'Aguilar et al., 1985**).



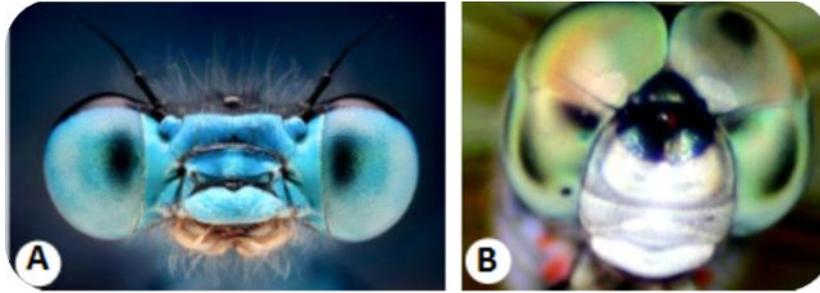
**Figure 05.** Morphologie de l'adulte d'Odonate (Coenagrionidae, Zygoptère) (4).

(a) Tête, (b) Thorax et (c) Abdomen.

#### 1.4.1.1. Tête

La tête de l'imago, plus large que le thorax, est très développée du fait de l'hyper développement des yeux, qui peuvent dans certains cas en occuper la plus grande partie. Le nombre d'ommatidies peut atteindre 30 000 chez certains Anisoptères. Les pièces buccales de type broyeur, sont constituées de maxilles et de mandibules munies de dents dont la répartition et la forme donnent parfois de précieux renseignements pour distinguer les larves. La tête est reliée au thorax par un cou très fin qui lui confère une très grande mobilité.

Chez les Zygoptères, la tête est très transverse et les yeux, fortement séparés, sont rejetés sur les côtés (**Fig.06**). L'espace interoculaire est très grand, le front et l'occiput sont très développés. Chez les Anisoptères, la tête est globuleuse et les yeux sont contigus sur une distance variable (les Gomphidae font exception à ce schéma et présentent une tête proche de celle des Zygoptères avec des yeux fortement séparés (**Legrand, 2001**).

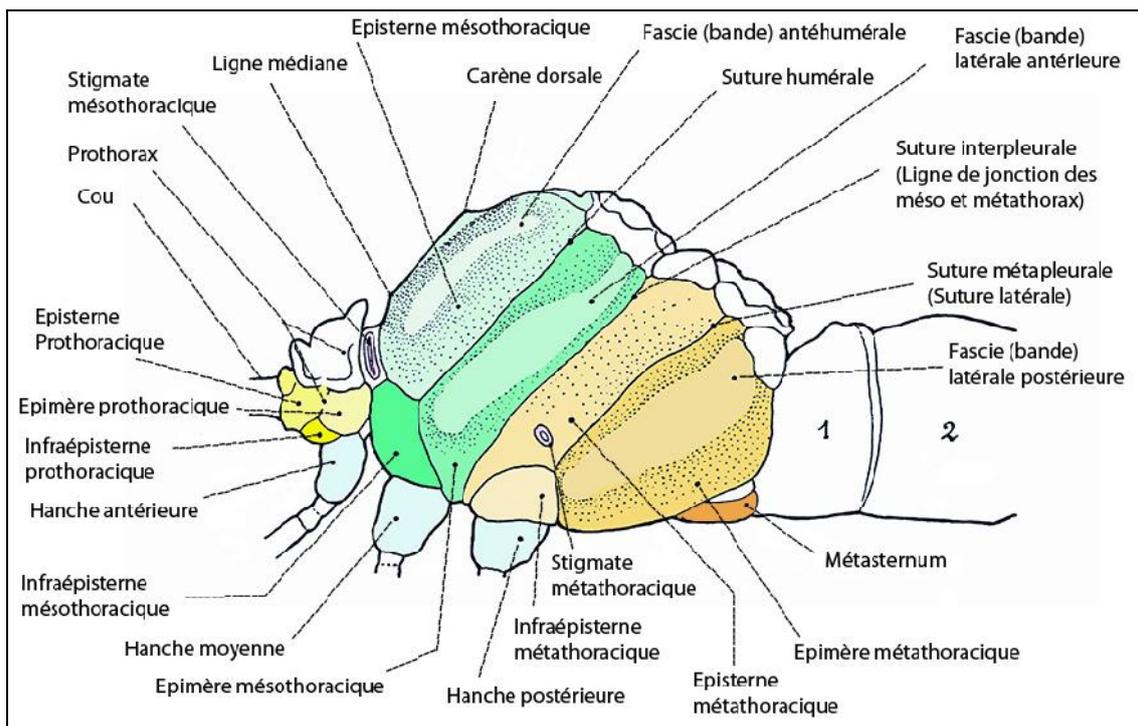


**Figure 06.** Têtes des adultes des odonates (Khelifa, 2017).

(a) Zygoptère, (b) Anisoptère.

### 1.4.1.2. Thorax

Le thorax se subdivise en deux parties inégales : à l'avant, un *prothorax* étroit et postérieurement un volumineux *synthorax* résultant de la fusion du méso- et du métathorax (Fig. 07). Ses éléments sont inclinés vers l'arrière en partant de la base, tels que les ailes se trouvent rejetées en arrière par rapport aux pattes (Durand et al., 1980).



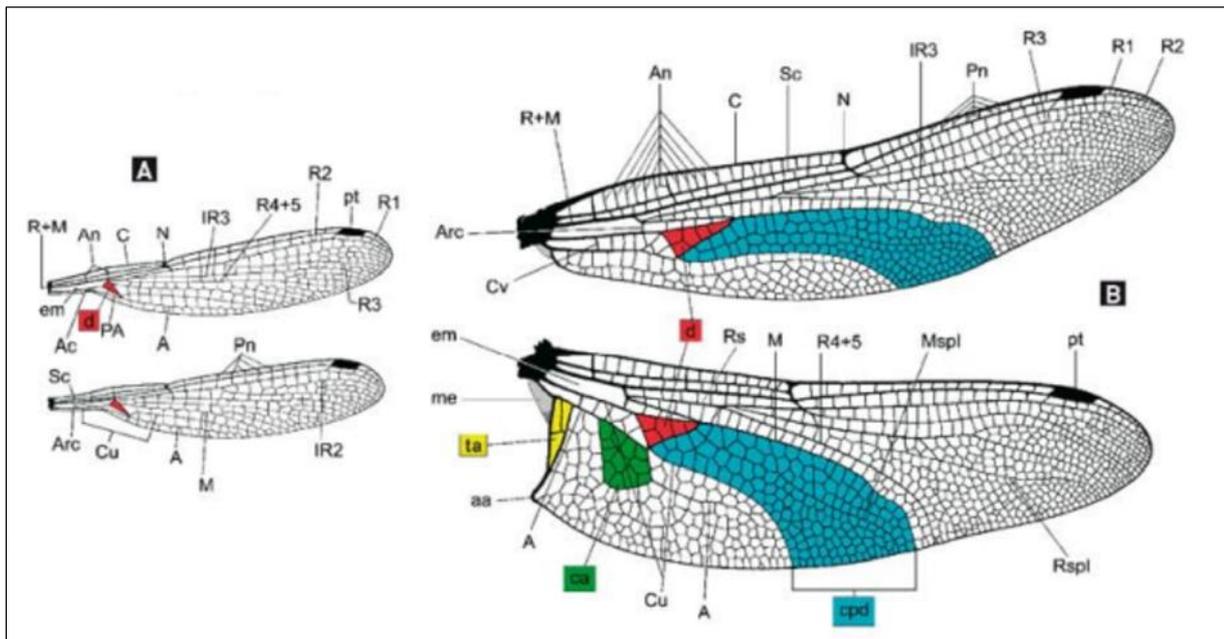
**Figure 07.** Morphologie générale du Thorax de *Aeshna juncea* (vue latérale) (5).

### 1.4.1.3. Pattes

La structure des pattes d'odonates répond au schéma classique des pattes d'insectes. Elles sont courtes, garnies d'épines et toutes dirigées vers l'avant (Durand et al., 1980). Les pattes des odonates actuels ont un rôle locomoteur très faible et sont surtout utilisées pour se poser sur un support ou s'y accrocher ainsi que pour capturer les proies (Legrand, 2001).

### 1.4.1.4. Ailes

Sont considérées comme un critère d'identification pour les familles, genres et même pour les espèces parce qu'elles se caractérisent par une nervation très complexe (**Fig.08**). La forme des ailes est différente entre les deux sous ordres d'odonate. Chez les Zygoptères, les ailes antérieures et postérieures sont identiques. Alors que chez les anisoptères, la base d'aile postérieure est plus large que l'aile antérieure. En plus de la forme, il y'a plusieurs critères importants dans les ailes qui facilite l'identification comme la densité des cellules, l'occurrence de nervures longitudinales ou transversales et forme et couleur du ptérostigma (**Dijkstra et al., 2007**).



#### CELLULES ET CHAMPS REMARQUABLES

- pt = ptérostigma
- d = cellule discoidale (entière ou divisée par des nervures secondaires)
- ta = triangle anal (formé de plusieurs cellules)
- aa = angle anal
- cpd = champ postdiscoidal
- em = espace médian
- ca = champ anal
- me = membranule

#### NERVURES

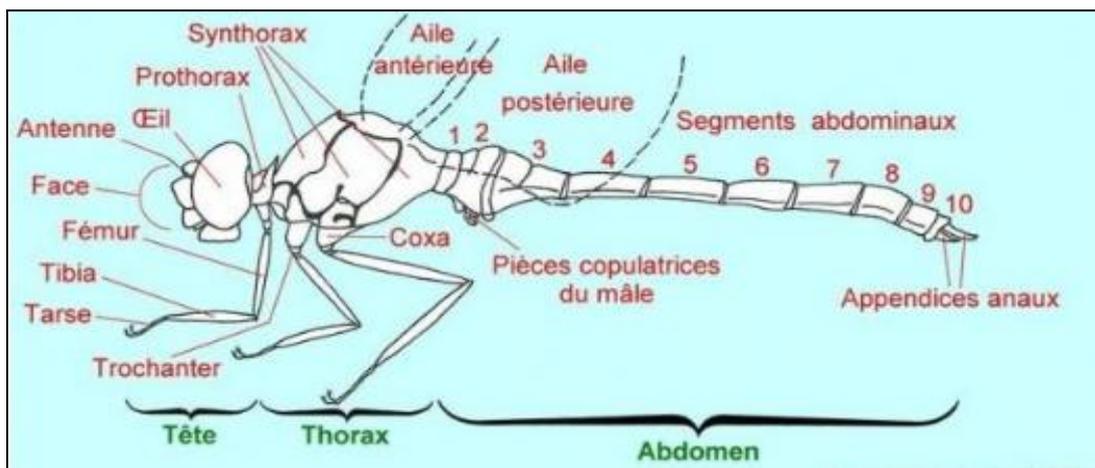
- C = costale
- Sc = subcostale
- R+M = médiane + radiale
- R1-3 = radiales 1 à 3
- M = médiane
- Cu = cubitale
- A = anale
- Ac = transverse cubito-anale
- Cv = transverses cubitales
- Rs = secteur radial
- IR2-3 = inter-radiales 2 et 3
- Rspl = radiale supplémentaire
- R4+5 = radiale 4+5
- Mspl = médiane supplémentaire
- An = transverses anténodales
- Pn = transverses postnodales
- Arc = arculus
- N = nodus
- PA = pont anal

**Figure 08.** Ailes et nervations des Zygoptères (A) et Anisoptère(B) (Tillyard et al., 1938-1940).

### 1.4.1.5. Abdomen

Il est constitué par les dix anneaux qui font suite au thorax. En général, il est cylindrique, mais, dans le groupe des Anisoptères surtout, il est fréquemment aplati dorso-ventralement. Ces dix anneaux de l'abdomen varient beaucoup dans leur longueur respective (**Robert, 1966**).

Il présente très souvent des motifs colorés permettant d'identifier les espèces d'Odonates. Le dixième (10ème) segment, porteur de l'anus, est prolongé par une paire d'appendices dorsaux et un ou deux appendices ventraux, auxquels on applique le terme général d'appendices anaux parce qu'ils voisinent l'anus (**Fig. 09**). Les mâles portent les pièces copulatrices sous le deuxième (2ème) segment abdominal, tandis que chez les femelles l'organe qui permet la fécondation et la ponte des œufs est appelée l'ovipositeur. Il est situé sous le huitième (8ème) et neuvième (9ème) segment (**Boucenna, 2018**).



**Figure 09.** Morphologie des odonates (6).

### 1.4.1.6. Appareil génital

Les Odonates se distinguent en ce que le mâle possède un appareil génital « secondaire », à fonction copulatrice et inséminatrice dont la structure est totalement différente des structures génitales des autres Insectes.

Les orifices génitaux s'ouvrent sur le 9ème segment chez les mâles et à la jonction des segments 8 et 9 chez les femelles. Chez le mâle, le pore génital est protégé par une paire de plaques sclérifiées- ou gonapophyses – de taille réduite et homologues des valves de l'ovipositeur femelle. Chez la femelle, lorsque l'ovipositeur est complètement développé, il

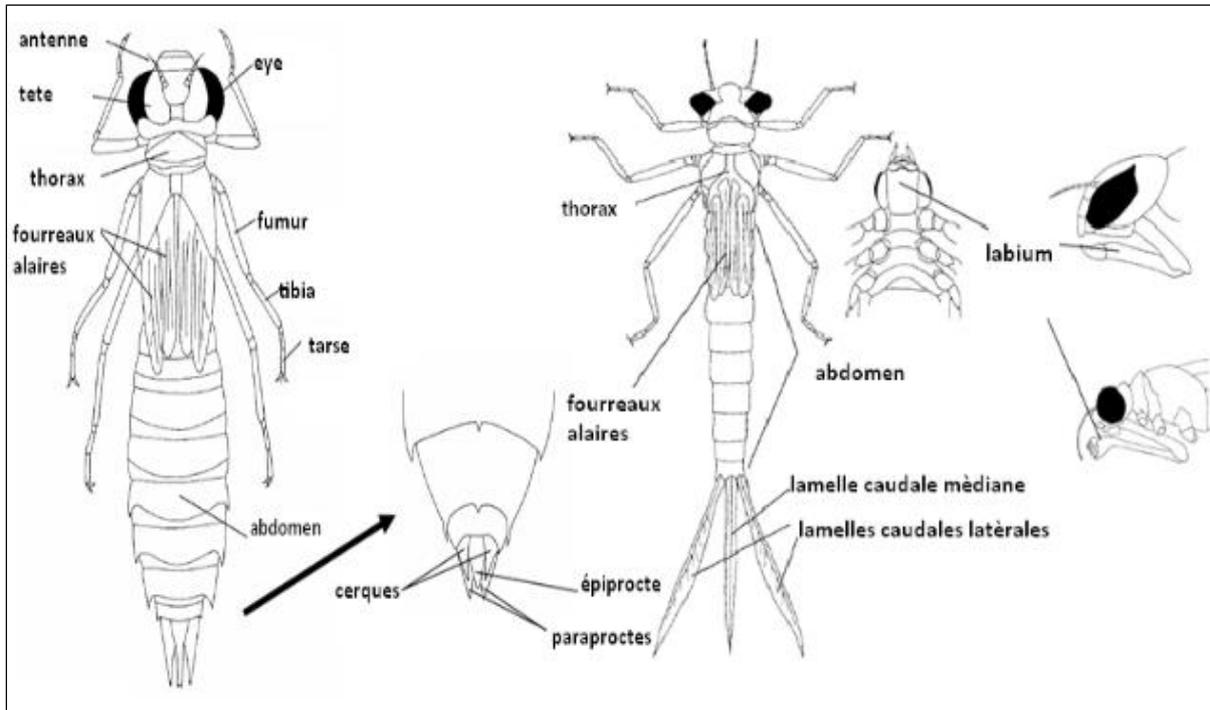
comporte trois paires de pièces allongées et arquées destinées à l'insertion des œufs dans des substrats solides, végétaux et éventuellement sédiments (**Testard, 1980**).

Chez les mâles, il existe une différenciation remarquable du 2<sup>ème</sup> segment abdominal formant un organe d'intromission secondaire. Il existe en arrière du 2<sup>ème</sup> sternite, régressé, un (pénis) très sclérifié, segmenté, articulé ; il lui est adjoint des lobes d'aspect varié et dont les formes sont spécifiques.

Le gonopore reste toujours sur le 9<sup>ème</sup> segment. Avant l'accouplement le mâle replie ventralement l'abdomen pour transférer le sperme dans le réceptacle du segment II. Il saisit ensuite la femelle avec ses cerques et celle-ci porte l'extrémité de son abdomen au contact du segment II du mâle (**Roth, 1980**).

#### **1.4.2. Morphologie des larves**

Les odonates ont un développement de type hétérométabole avec des larves exclusivement aquatiques et des adultes aériens. Les odonates regroupent les anisoptères et les Zygoptères qui présentent des morphologies très différentes aussi bien à l'état larvaire qu'adulte (**Fig. 10**). Les larves de Zygoptères sont caractérisées par un corps fin, cylindrique et allongé ainsi que par trois lamelles caudales (lamelles branchiales) situées à l'extrémité de l'abdomen. Ces larves peuvent atteindre 27mm au dernier stade de développement. Les larves d'anisoptère sont plus massives, pouvant mesurer jusqu'à 55 mm, et l'extrémité de leur abdomen forme une pointe conique : la pyramide anale (**Beat et al., 2013**). Les larves sont de teinte relativement terne comparées aux adultes qui sont richement colorés dans leur ensemble (**Tachet et al., 2000**).



**Figure 10.** Morphologie générale de la larve. A. larve Anisoptère, B. larve Zygoptère, C. Masque préhensile (Bouchard, 2004).

#### 1.4.2.1. Tête

La tête, moins développée que celle de l'imago, aplatie dorso-ventralement est prognathe ; les pièces buccales sont du type broyeur. Le labium est constitué de deux segments, le submentum et le mentum terminé par une pince. Communément appelé masque ; il est modifié en un organe préhensile articulé comme un bras, dont les palpes sont armés de crochets formant une sorte de pince. Au repos, il est replié sous la face ventrale du thorax, entre les pattes. Les antennes sont de trois à sept articles. Les ocelles sont visibles sur le dessus de la tête. Les yeux, beaucoup moins développés que chez l'adulte, sont très latéraux (Legrand, 2001).

#### 1.4.2.2. Thorax

Le prothorax est, comme chez l'adulte, bien séparé et mobile. Les deux autres segments, méso-et métathorax sont fusionnés et présentent le même aspect général que le synthorax des adultes. Les pattes sont très semblables à celles de l'imago, mais sont généralement plus réduites. Les ailes sont représentées par quatre étuis allongés vers l'arrière et recouvrant partiellement l'abdomen. Les fourreaux alaires de la larve prête à émerger sont gonflés d'air; caractère utile à repérer lors de la sélection des larves à mettre en élevage (Legrand, 2001).

### 1.4.2.3. Abdomen

Est constitué, comme chez l'adulte, de dix segments visibles. Il porte souvent des épines sur l'axe médio-dorsal et sur les bords latéraux postérieurs des derniers segments abdominaux, il s'agit souvent de critères distinctifs utilisés pour la reconnaissance des espèces. En plus, l'extrémité de l'abdomen permet de différencier les Zygoptères et Anisoptères. Chez les Zygoptères, elle comprend deux pièces latérales très courtes : les paraproctes, chacun prolongé par une lamelle branchiale (lamelle caudale), dorsalement un épiprocte court, également prolongé par une lamelle branchiale. Ces lamelles branchiales ont des formes variées selon les genres et sont de ce fait utilisées en systématique.

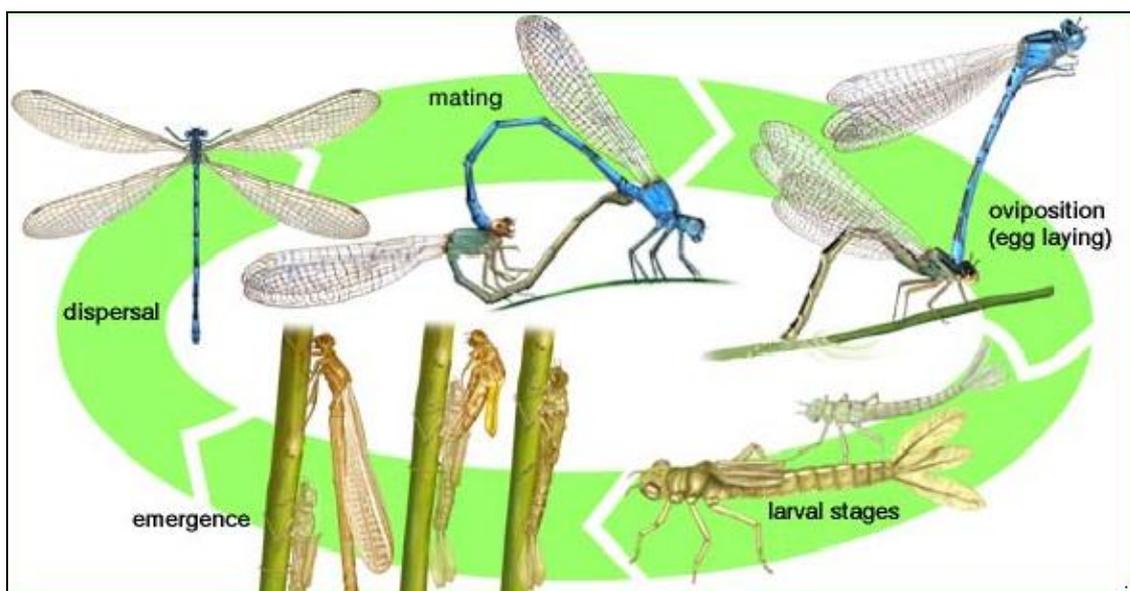
Chez les Anisoptères, l'extrémité de l'abdomen constitue une pointe conique (pyramide anale) constituée de deux paraproctes latéraux, flanqués de deux cerques uniarticulés et dorsalement d'un épiprocte impair (**Tachet et al., 2000**).

Le tube digestif est très particulier; sa partie distale ou proctodéum, est très renflée chez les Anisoptères chez les quels elle assure outre le transit des fèces, la respiration et la locomotion. Le proctodéum ou « corbeille branchiale » est garni d'une quantité de petites branchies reliées aux trachées ; leur oxygénation est assurée par des mouvements d'aspiration et d'expiration qui renouvellent l'eau en permanence à leur contact. Chez les Zygoptères la respiration est assurée de façon identique (**Legrand, 2001**).

Il existe chez ces larves une adaptation remarquable à la prédation (**Roth, 1980**). La plupart des familles chassent à l'affût en se cachant dans la végétation submergée ou en se camouflant dans la vase. Le développement larvaire peut durer de quelques mois à 2 ou 3 années en fonction des espèces et surtout de la température de l'eau. Le passage de la larve à l'adulte se fait à terre entre le printemps et la fin de l'été selon les espèces. Certaines larves peuvent parcourir plusieurs mètres hors de l'eau afin de trouver un support (le plus souvent vertical) ou elles vont subir une mue imaginale. Après l'émergence, l'adulte immature est reconnaissable à ses ailes encore fragiles et complètement translucides. Les exuvies larvaires restent le plus souvent accrochées au support et peuvent être très abondantes dans la végétation entourant les mares au printemps et en été (**Beat et al., 2013**).

## 1.5. Cycle de vie des odonates

Les odonates sont des insectes hémimétaboles montrant un changement d'habitat frappant au cours de leur cycle de vie. Le stade d'œuf est court (quelques semaines) et les œufs sont déposés dans les tissus des plantes aquatiques ou dans l'eau. Le stade larvaire est le plus long (quelques mois mais parfois quelques années) et est aquatique (**Fig.11**). Pendant ce stade, une croissance considérable, à la fois en taille et en masse, se produit. Les larves d'odonates sont d'importants prédateurs intermédiaires dans les réseaux trophiques aquatiques. Pendant ce stade, une croissance considérable, à la fois en taille et en masse, se produit. Les larves odonates sont d'importants prédateurs intermédiaires dans les réseaux trophiques aquatiques. Elles se nourrissent d'un large éventail de petits animaux, y compris d'autres odonates, et sont elles-mêmes la nourriture de prédateurs tels que les poissons. Les larves subissent environ 10 mues, et la dernière mue est la métamorphose en stade adulte terrestre volant. Une fois l'exosquelette durci, la taille et la forme de l'adulte sont fixées. Les adultes fraîchement émergés se dispersent loin de leur site de reproduction. Au cours de la période de maturation qui suit, de quelques jours à quelques semaines, les adultes s'extraient de l'eau, augmentent leur masse corporelle et développent des caractères sexuels; les femelles commencent à développer des œufs. Une fois sexuellement matures, les adultes retournent dans les eaux pour se reproduire. La période de reproduction dure 1 à 3 semaines et une dispersion dans d'autres plans d'eau peut survenir. Dans la plupart des espèces, les mâles se démènent pour obtenir des femelles, alors que chez les autres, les mâles sont territoriaux (**Stoks et al., 2012**).



**Figure 11.** Cycle de vie des odonates (**Encyclopædia Britannic, 1999**).

### 1.5.1. Œufs

Les œufs des Odonates existent sous un large éventail de formes, le plus grand atteint environ 2 mm de long, tandis que la majorité fait moins de 0,5 mm de diamètre (**Suhling et al, 2015**). Le nombre d'œufs peut atteindre 1500 oeufs, une femelle pouvant produisant plusieurs milliers d'œufs pendant son cycle biologique (**Corbet, 1999**). Les œufs éclosent 7 à 8 jours après la ponte mais l'éclosion peut être délayée de 80 jours (**Miller, 1992**) et voir 360 jours selon un cas étudié (**Sternberg, 1990**). L'œuf est le stade de vie le moins étudié chez les odonates et la mortalité des œufs sur le terrain peut être élevée (**Stoks et al., 2012**).

### 1.5.2. Stade larvaire

La phase larvaire est la période la plus longue du cycle de vie des libellules. Elle peut durer quelques semaines à plusieurs années selon les espèces (**Berquier, 2015**). Après l'éclosion de l'œuf et à la suite d'un premier stade très particulier appelé « **prolarve** » (stade bref ou de courte durée), les **larves** grandissent en effectuant un nombre de **mues** variable (entre 7 et 16) en fonction des espèces et des conditions écologiques régnant au sein des habitats dans lesquels elles se développent tels que : la température, la photopériode, l'altitude et la latitude (**Boucenna, 2018**).

Lorsque leur taille et les conditions environnementales le permettent, ces dernières vont quitter le milieu aquatique, puis se métamorphoser en adultes au cours d'une mue imaginale appelée « émergence » (**Berquier, 2015**) (**Fig. 12**). L'enveloppe larvaire ou exuvie, est abandonnée dans l'habitat aquatique. L'exuvie terrestre issue de la mue imaginale conserve toutes les caractéristiques morphologiques de la larve au dernier stade larvaire [6].



**Figure 12.** Emergence d'un Orthétrum réticulé (*Orthetrum cancellatum*) femelle (7).

### 1.5.3. Stade adulte

Au cours de leur vie adulte, les odonates passent par trois périodes importantes : la période pré-reproductive, la période reproductive et la période post-reproductive (**Corbet, 1962**).

#### 1.5.3.1. Période pré-reproductive

Se situe entre l'émergence et l'atteinte de la maturité sexuelle. Pendant cette période, les adultes peuvent se disperser loin ou pas du tout, en fonction de variables telles que la continuité de l'habitat et la présence de végétation parmi laquelle les adultes immatures peuvent s'abriter. Chez quelques espèces, la période de maturation dure 8 à 9 mois ou sa durée varie en fonction de la latitude. La plupart des Zygoptères étudiés terminent la période de maturation en trois semaines ou moins et la plupart des anisoptères en deux semaines ou moins. La période de maturation est souvent légèrement plus courte chez les mâles que chez les femelles et se prolonge par le froid.

#### 1.5.3.2. Période de maturation

Au cours de la période de maturation, des changements séquentiels se produisent dans la couleur du corps et des ailes, dans le développement des gonades, dans la taille et l'apparence de certains ectoparasites et probablement dans le nombre de couches de

croissance endo-cuticulaires. De tels changements peuvent être utilisés pour estimer l'âge post-émergence d'adultes immatures (Corbet, 1980).

### 1.5.3.3. Période de reproduction

Elle correspond à la période de ponte, commence lorsque les adultes manifestent pour la première fois un comportement sexuel (Corbet, 1980). Cette période comporte deux phases essentielles: l'accouplement et la copulation.

Le mâle reconnaît visuellement la femelle grâce à différents indices: sa coloration, la taille du corps, la transparence des ailes et les mouvements qu'elle réalise en volant. Une fois cette première reconnaissance faite, le mâle devra chercher à savoir si la femelle est réceptive ou non. Quoi qu'il en soit, c'est la femelle qui choisit le mâle (Moreno et al., 2018). Le mâle produit du sperme au niveau de l'abdomen et le transfère dans les organes génitaux secondaires puis dans le corps de la femelle. Les femelles ont un orifice génital et un petit ovipositeur situé au bout de l'abdomen qu'elles utilisent pour déposer les œufs. En général, les couleurs du mâle sont plus vifs que celles la femelle qui est souvent de couleur terne ou grise.

Lors de la copulation, les odonates forment ce qu'on appelle « cœur copulatoire » (Fig. 13). Le mâle saisit la femelle par la tête, celle-ci courbe son abdomen afin d'atteindre les organes génitaux secondaires du mâle (Bybee, 2005). Avant l'accouplement, ils pourront voler ensemble quelques secondes ou quelques heures, formant ce qu'on appelle un tandem précopulatoire. Les demoiselles s'accouplent toujours posées, alors que les libellules peuvent le faire en vol. Il dure normalement moins d'une minute, bien que des copulations de plus de six heures aient été documentées chez certaines espèces de demoiselles (Moreno et al., 2018).



**Figure 13.** Caloptéryx vierge (*Calopteryx virgo*) (8).

#### 1.5.3.4. Période post reproductive

Après la période de reproduction, peu d'individus d'odonates passent une période de post-reproductive où ils se rendent de moins en moins sur les sites de ponte. Leurs couleurs deviennent ternes, leurs ailes amochées et finissent par mourir (Satha, 2008).

#### 1.5.3.5. Ponte « oviposition »

La ponte est très importante pour la survie de presque toutes les espèces d'insectes. Comme insectes avec larves aquatiques, les libellules sont confrontées à un problème particulier de détection de sites de ponte convenables dans le milieu aquatique. Les œufs doivent être déposés dans une zone qui les protège des prédateurs éventuels, offre des conditions environnementales propices au développement des œufs et offre aux larves nouvellement éclos un accès facile à l'eau et à la nutrition (Natalia et al., 2011).

Comme les mâles sont capables de retirer la plupart des spermatozoïdes des accouplements précédents, le mâle subit une pression évolutive lui demandant de rester attachée à la femelle ou à proximité de celle-ci jusqu'à ce qu'elle ait pondu ses œufs. Chez certaines espèces, le mâle reste attaché à la femelle, volant avec elle jusqu'au lieu de ponte en vol synchronisé (vol en tandem). Le mâle guide la femelle et elle dépose ses œufs. C'est ce qu'on appelle la surveillance en tandem. Chez d'autres espèces, le mâle se détache de la femelle mais plane près d'elle afin d'empêcher d'autres mâles de s'accoupler avec elle (protection sans contact). Chez d'autres espèces encore, la femelle pond des œufs sans protection (Conrad et al., 1992).

La durée de l'incubation des œufs est assez variable en fonction des conditions environnementales, que ce soit d'une espèce à l'autre et au sein même d'une espèce. Certaines libellules, adaptées aux conditions temporaires, peuvent éclore quelques jours seulement après la ponte. Un environnement défavorable peut entraîner l'arrêt du développement de l'œuf, qui entre en diapause. Cette stratégie adaptative permet aux œufs de passer l'hiver dans un état de dormance. L'éclosion retardée permet aux fragiles larves de commencer leur croissance alors que l'eau se réchauffe et que les proies se font plus abondantes (**Jourde, 2010**).

La plupart des odonates sont supposés avoir une production continue d'ovocytes pendant toute leur durée de vie mature et de courtes périodes de ponte entrecoupées de repos (**Corbet, 1999**).

Une femelle peut ponter plusieurs fois consécutives dans sa vie reproductive (**Fig. 14**). Les espèces avec des œufs endophytes pondent généralement moins de 300 œufs par ponte, tandis que de nombreuses espèces exophytiques pondent au moins 15 000 œufs par ponte (**James et al., 2015**).

- La ponte endophyte

L'insertion d'œufs dans des tissus végétaux vivants ou en décomposition, appelée « ponte endophyte », réduit les pertes en eau, réduit la mortalité hivernale et assure une certaine protection contre les ennemis naturels. La plupart des demoiselles et certaines libellules (famille Aeshnidae) utilisent cette stratégie de ponte endophyte, tandis que la plupart des autres espèces de libellules utilisent la ponte exophytique.

La ponte endophyte est une stratégie ancienne de ponte chez les Odonatoptères. Elle est documentée du Trias, mais son origine peut être encore plus ancienne. L'ovipositeur endophyte de demoiselles consiste en trois paires de valvules. Il est utilisé pour l'incision avant d'insérer l'œuf dans des substrats tels que les tissus végétaux (**Harabiš et al., 2019**).

- La ponte exophytique

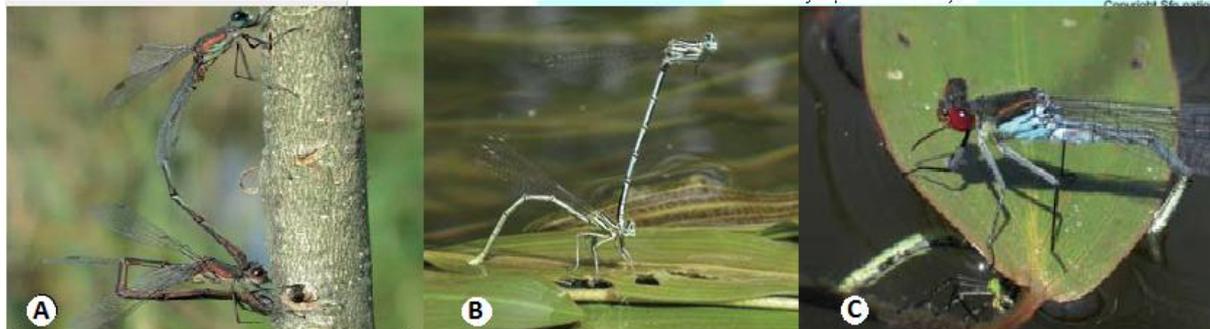
La ponte exophytique est inhérente aux anisoptères à ovipositeur modifié, conçu pour laisser tomber les œufs dans l'eau ou pour les déposer à la surface de certains objets péri-aquatiques, exemples : cailloux, terre, touffes d'herbes, coussinets de racines...etc. (**Matushkina, 2007**).

Chez les Anisoptères, on observe une réduction progressive de la complexité de l'ovipositeur, qui se termine par une simple plaque génitale chez les Corduliidae et les

Libellulidae. Les œufs sortent sous la plaque et s'accumulent sous le segment 9 S9 jusqu'à ce qu'ils soient déposés (par exemple, lorsque la femelle plonge son abdomen dans de l'eau) (Suhling, 2015).

- La ponte Épiphyte

Les œufs sont déposés sur la surface des plantes aquatiques -sans être introduits à l'intérieur - et enveloppés dans une pellicule gélatineuse qui les maintient adhérents à la plante (Moreno *et al.*, 2018).



**Figure 14.** Différents types de Ponte  
(A) Oviposition Endophyte (B) Oviposition Epiphyte (C) Oviposition Exophyte  
(Jourde, 2014).

## 1.6. Bio-écologie des Odonates

Ce sont des Insectes paurométaboles, c'est-à-dire des hémimétaboles dont l'imago mène une vie forte différente de celle de la larve. En effet si l'adulte mène une vie aérienne et possède une respiration trachéenne, la larve est exclusivement aquatique et présente une respiration branchiale (Legrand, 2001). Ce changement de mode de vie implique d'importantes transformations physiologiques (Jourde, 2004).

### 1.6.1. Alimentation

Les odonates sont des prédateurs aux stades larvaire et adulte. Leur morphologie et leur comportement sont parfaitement adaptés à ce mode de vie prédateur. Les larves d'odonate sont spécialisées dans la mesure où différentes espèces occupent un large éventail d'habitats et de micro-habitats au sein d'une zone humide. Les larves possèdent un labium extensible unique pour capturer et tuer la proie.

Les larves détectent leurs proies par leurs mouvements et les attrapent vivantes. Elles se nourrissent rarement de proies mortes ou immobiles. Les larves utilisent généralement une

stratégie d'embuscade ou de sit-and-and-wait pour capturer la proie. Ils restent immobiles jusqu'à ce que la proie arrive à portée du labium étendu. Les larves recherchent aussi activement la proie ou la traquent. Selon le mode de détection des proies, les larves sont classées comme grimpeurs ou tentacules. Les grimpeurs se déplacent dans la végétation aquatique proche de la surface et utilisent leurs grands yeux composés pour détecter leurs proies à distance, tandis que les tentacules vivant près du fond utilisent largement la simulation tactile pour capturer leurs proies. Des études montrent que les larves sont des euryphages et butineuses opportunistes. Les larves de diptères et de crustacés planctoniques tels que Cladocera et Ostracoda sont les principales proies des premiers stades larvaires. Les grandes larves se nourrissent de gros insectes aquatiques tels que *Gerris* sp. Les larves de *Aeshna*, de *Anax*, de *Tramea* et de *Pantala* se nourrissent de têtards et de poissons juvéniles (Ananthakrishnan, 2012).

Les Odonates se nourrissent de proies vivantes tout au long de leur vie adulte. Lors de la recherche de nourriture, les libellules peuvent être classées comme « percheurs » ou « volants ». Les percheurs passent une grande partie de leur temps à stationner, effectuant de courts vols à partir des perchoirs pour capturer leurs proies puis se percher pour les consommer. Par contre, les volants sont en vol pour la plupart du temps durant leur alimentation, capturant leurs proies dans l'air et avalant de petites proies en vol; ils se perchent toutefois pour consommer des proies plus grosses.

Le principal stimulus pour détecter les proies est le mouvement. Les Odonates ont de très grands yeux avec beaucoup d'ommatides, une spécialisation pour la détection du mouvement. Cependant, quelques espèces prennent des proies stationnaires, reconnaissant apparemment la proie par sa forme. Les proies telles que les petits insectes volants peuvent être capturées directement avec les pièces buccales, mais les pattes sont également utilisées pour maîtriser certains types de proies.

Les diptères, en particulier les moustiques et les moucherons, constituent une composante majeure du régime alimentaire des adultes. Certaines espèces capturent principalement des proies de grande taille, telles que Lépidoptères et les Odonates. Par exemple, le grand gomphide nord-américain *Hagenius brevistylus* a souvent été observé en train de se nourrir d'autres anisoptères (Tennessee, 2009).

### 1.6.2. Habitats

Les libellules et les demoiselles sont un groupe de tête et une composante importante des écosystèmes aquatiques, dans lesquels elles peuvent souvent être de principaux prédateurs. Leur sensibilité aux conditions environnementales fait des odonates d'excellents indicateurs biologiques des conditions environnementales (**Balzan, 2012**).

Les odonates utilisent divers habitats naturels et artificiels de zones humides comme les ruisseaux, les rivières, les mares d'eau de pluie temporaires, les étangs, les puits de stockage, les canaux d'irrigation, les rizières et les lacs. En général, les habitats érosifs tels que les ruisseaux et les rivières ont une diversité et un ensemencement plus élevés que les habitats de dépôt tels que les plaines inondables, les étangs, les lacs...etc. chaque espèce d'odonate a des besoins spécifiques en matière d'habitat pour le développement des larves (**Ananthakrishnan et al., 2012**).

Les exigences écologiques des adultes, associées aux habitats aquatiques et aux paysages terrestres, leur sélectivité aux sites de ponte et l'influence des processus aquatiques sur la phase larvaire, qui conduit à leur persistance dans les plans d'eau, donnent lieu aux associations familières entre chaque espèce et son habitat caractéristique, rendant les odonates vulnérables à certains types de changements d'habitat (**Balzan, 2012**).

L'association des odonates avec leurs habitats, en plus d'autres caractéristiques de ce taxon, dont leur importance fonctionnelle au sein des écosystèmes et leur association avec d'autres espèces et ressources, font des enquêtes sur les communautés d'odonates un outil important pour caractériser et évaluer l'interface terre-eau grâce à leur fonction d'indicateur de la qualité de l'écosystème. Les adultes sont remarquables, faciles à enregistrer, bien étudiés en taxonomie et sensibles aux modifications de l'habitat induites par les activités humaines, toutes les caractéristiques souhaitables des groupes de bio-indicateurs (**Brown, 1991**). Cependant, on sait très peu de choses sur les facteurs auto-écologiques qui limitent la répartition des espèces dans des habitats particuliers ; notamment les sites et les ressources pour le développement larvaire, l'émergence, l'alimentation des adultes, la recherche de partenaires, la ponte (**Mc Peek, 2008**).

Les Odonata (libellules) sont particulièrement de bons indicateurs de la santé des écosystèmes d'eau douce, comme ils sont visibles au-dessus de l'eau, mais ils dépendent de la qualité de l'eau et de l'habitat environnant pour persister. Par conséquent, ils servent

d'indicateurs de l'évolution de la qualité de l'eau et de la végétation environnante. Les assemblages d'odonates peuvent également être utilisés comme substituts pour déterminer les zones aquatiques à conserver en priorité (Hart, 2014).

### 1.6.3. Prédateurs, proies et parasites

Libellules et demoiselles sont des prédateurs très compétents, aussi bien durant le stade larvaire que lors de la phase adulte. Cependant, elles font partie de la chaîne trophique et possèdent une série d'ennemis qui, à la moindre occasion, les transformeront en proie (Moreno *et al.*, 2018).

Les principaux prédateurs des larves d'odonates sont les poissons qui jouent un rôle important dans la formation des structures de la communauté d'odonates. Les larves de certaines espèces réduisent leurs mouvements et leur activité de recherche de nourriture en présence de poissons, tandis que d'autres espèces évadent les prédateurs en s'éloignant. Comme l'a montré Crespo, les larves d'odonates peuvent détecter les phéromones de divers prédateurs et même apprendre à les associer à la présence de prédateurs. Les prédateurs invertébrés comprennent d'autres larves d'odonates, notamment des conspécifiques (cannibalisme), des coléoptères dytiques (larves et adultes), des écrevisses, des belostomatidae et plusieurs oiseaux aquatiques ; comme le merle d'eau, le martin pêcheur ou la bergeronnette grise (Del-Claro, 2019).

Les libellules adultes sont les plus vulnérables à la prédation pendant leur émergence et leur premier vol, lorsque leur capacité de vol est faible ou inexistante. La prédation pendant l'émergence annuelle cause jusqu'à 28% de mortalité. Divers prédateurs ont été observés se nourrissant d'Odonate émergents, en particulier d'oiseaux et de fourmis, mais aussi de prédateurs plus exotiques comme les vers plats et les jeunes crocodiles. Les Odonates matures sont souvent capturés par les prédateurs lorsqu'ils sont distraits, par exemple pendant la rencontre ou la reproduction. Ils peuvent alors se retrouver dans des toiles d'araignées ou se faire prendre par d'autres prédateurs en embuscade, tels que des mantides ou des grenouilles (Fig. 15). Les anisoptères se nourrissent souvent de Zygoptères et peuvent même causer un déclin marqué et temporaire de la population. Les Anisoptères extrêmement rapides et agiles semblent à faible risque pendant le vol normal, à quelques exceptions près : d'autres Anisoptères et quelques oiseaux ayant d'excellentes capacités de vol. Les anisoptères

constituaient 46% des proies des guêpiers européennes, *Merops apiaster* (Suhling et al., 2015).

Les œufs peuvent être parasités par des Hyménoptères Mymaridae. Certains Diptères Cecidomyiidae et Drosophilidae mangent les masses ovigères (Legrand, 2001).

Les Odonates abritent souvent des parasites et sont susceptibles d'être des vecteurs occasionnels de maladies parasitaires. Ils abritent souvent des Grégarines qui sont capables de réduire leur longévité en s'attaquant à leur épithélium intestinal. Eventuellement porteurs de Cestodes, les Odonates sont également vecteurs de trématodiasés (Oiseaux et Batraciens). Enfin, ils sont fréquemment parasités par des Nématodes Mermithidés. Leurs parasites externes sont essentiellement des larves d'Hydracariens (Testard, 1980). Certains Ceratopogonidae (genre *Forcypomyia* s.g. *Pterobosca*) se nourrissent de l'hémolymphe des adultes en les piquant au niveau des nervures alaires (Legrand, 2001).



**Figure 15.** Prédation des libellules (9).

**a.** Prédation par espèce d'Asilidae

**b.** Prédation par héron

**c.** Capture par araignée

---

# **Deuxième partie : Etude expérimentale**

---

---

# **Matériel et méthodes**

---

## 2. Matériel et méthodes

Ce travail est divisé en trois parties dont les objectifs sont les suivants :

Premièrement, mettre en évidence le rôle de l'habitat parental de l'espèce dans le développement de leur progéniture par l'étude des traits d'histoire de vie depuis l'éclosion des oeufs jusqu'à la fin de l'expérience (cinquième stade larvaire) avec dosage des métabolites primaires des larves.

Deuxièmement, expliquer la réponse biologique de ces bioindicateurs à la pollution en analysant un biomarqueur spécifique de stress, le MDA (malondialdéhyde) des larves aux stades finaux exposées au spirodiclofen et dosage des lipides totaux.

Et troisièmement, réaliser un inventaire de la microflore intestinale de l'espèce étudiée à plusieurs stades.

### 2.1. Présentation du matériel biologique

#### 2.1.1. Etymologie et Classification: *Sympetrum meridionale* (Selys, 1841)

*Sympetrum* signifie « abdomen renflé » et *meridionale* veut dire « méridional »(10).

**Classe:** Insectes

**Ordre:** Odonates

**Sous-ordre:** Anisoptères

**Famille:** Libellulidés

**Genre:** *Sympetrum*

**Espèce:** *meridionale*

**Nom scientifique :** *Sympetrum meridionale*

#### 2.1.2. Genre des Sympetrums

Dans la grande famille des Libellulidae, les Sympètres sont reconnaissables à leur petite taille à coloration rougeâtre (à l'exception d'une espèce noire). Marques noires variables mais généralement au moins quelques lignes aux sutures thoraciques, aux pattes et sur l'abdomen. Base de l'aile postérieure hyaline, ambre ou jaune. La nervation des ailes antérieures est caractéristique (Dijkstra et al., 2007).

### 2.1.3. Espèce étudiée

Le *Sympetrum meridional* est un anisoptère assez massif, de petite taille. Le mâle est de couleur dominante rouge alors que la femelle est jaune. Les pattes de ce *Sympetrum* sont presque entièrement jaunâtres (**Fig. 16**). L'espèce se distingue des autres *Sympetrum* essentiellement grâce à l'ornementation des cotés de son thorax (11). Tout d'abord la faible quantité de noir sur les pattes, l'abdomen et le thorax est notable chez l'insecte. Les sutures thoraciques sont très peu marquées de noir, tout comme le bout de l'abdomen (S8 et S9). La nervure cubitale contraste des autres nervures en étant très jaune; ce critère bien visible élimine les confusions avec les espèces proches (**Tab.02**). La femelle possède une lame vulvaire très peu saillante en vue de profil, à l'inverse des *Sympétrums strié* et *vulgaire* (12).

Le *Sympétrum méridional* est une libellule répandue et abondante dans les régions méditerranéennes, pouvant apparaître sporadiquement dans les régions d'Europe moyenne et centrale, surtout à la faveur de mouvements migratoires lors des étés les plus chauds (**Grand et al., 2006 ; Jacquier et al., 2005**). Présent dans toute la moitié sud de l'Europe, le nord du Maghreb et s'étend à l'est jusqu'à la Chine (**Jourde, 2009**).

Habite les eaux stagnantes et peu profondes, riches en végétation : mares ensoleillées, bras morts boueux ou dépressions inondées temporaires (**Dijkstra et al, 2007**). La période de vol s'étend du mi juin à la fin de septembre principalement, et du mi mai au début de novembre occasionnellement (**Bailleux et al, 2017**). Un puissant voleur que l'on trouve souvent loin de l'eau, il se perche sur le sol ou sur la végétation haute (**Smallshire, 2014**). Pour la reproduction, *S. meridionale* a besoin de plans d'eau peu profonds avec un faible niveau d'eau pour la ponte (**Roland et al, 2014**). La ponte commence généralement en tandem puis est terminée par la femelle seule sous la surveillance du mâle (**Ishizawa, 2012**).

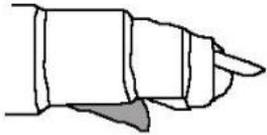
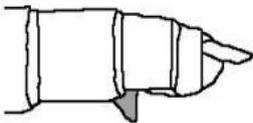
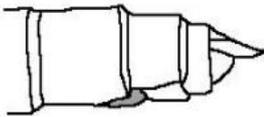


*S. meridionale* mature de nervure cubitale dorée, sutures fines et peu sombres

*S. meridionale* immature peu de noir sur le corps, ni même sur S8/S9

**Figure 16.** *Sympetrum meridionale* (13).

**Tableau 02.** Différences entre les espèces du genre *Sympetrum* (13).

Critères	<i>S.striolatum</i>	<i>S.vulgatum</i>	<i>S.meridionale</i>
Lame vulvaire ♀ vue de profil (ici en gris)	Saillante et oblique 	Saillante et perpendiculaire 	Non saillante 
Thorax	Souvent contrasté (♂) et avec des sutures noires épaisses et marquées	Souvent sombre et plutôt uniforme, avec des sutures thoraciques marquées	Lignes noires des sutures thoraciques étroites et peu marquées
Pattes	Noires et jaunes bien contrastées (sauf vieux individus)	Pattes bicolores plutôt marquées (sauf vieux individus)	Pattes plutôt claires avec peu de noir
Noir qui descend le long des yeux : « Moustaches »	Noir assez épais à la base du front mais absence de « moustaches »	Les « moustaches » sont très marquées	Absence de noir à la base du front, ou très peu marqué

## 2.2. Collecte des œufs

Au total, dix-sept femelles *Sympetrum meridionale* en copulation ont été capturées à l'aide d'un filet à main rectangulaire à des intervalles irréguliers entre le 21 novembre et le 6 décembre 2018 dans deux sites (**Tab. 03**).

Les œufs des espèces anisoptères sont obtenus en attrapant les femelles en train de copuler ou de pondre (**Schiel et al., 2015**). Les œufs de *Sympetrum meridionale* ont été obtenus des femelles par la méthode décrite par **Boehms, (1971)**, en plongeant l'abdomen de la femelle dans un tube rempli d'eau..

**Tableau 03.** Liste des sites d'échantillonnage, le code, l'information géographique et typologique.

Site	Code	Coordonnées Géographiques	Altitude (m)	Type de cours d'eau	Nombre de femelles
Masmassa (La Maouna, Guelma)	S1	36°22'0.57"N 7°24'47.95"E	1110	Marre temporaire	9
Marais de la Mekhada (El Taref)	S2	36°45'19.88"N 8° 4'54.18"E	7	Marais	8

### 2.3. Technique d'élevage au laboratoire

Les tubes contenant les œufs ont été transférés immédiatement au laboratoire (Laboratoire de Biologie, Eau et Environnement (LBEE), Université 8 Mai 1945 Guelma). Ensuite, les œufs de chaque femelle ont été immergés dans de l'eau de source dans de petits récipients ( $9 \times 15 \times 22 \text{ cm}^3$ ) à  $20 \pm 1 \text{ C}^\circ$ , avec une photopériode de 14H-:10H (lumière-obscurité, respectivement), une aération continue et sans renouvellement d'eau. L'eau de source a été occasionnellement ajoutée pour maintenir une profondeur minimale de 3 cm dans chaque récipient (Locklin, 2012). Les œufs ont été examinés deux fois par semaine, les deux premières semaines puis quotidiennement pour suivre l'éclosion.

### 2.4. Etapes expérimentales

Le processus d'éclosion a été observé dans douze récipients (7 femelles de la Mekhada \*5 femelles de Masmassa), après l'éclosion les larves fraîchement émergées ont été laissées ensemble, pour améliorer la survie (De block et al, 2003). Dix jours après l'éclosion, les larves ont été prélevées à l'aide d'une pipette et placées individuellement dans des gobelets de 200 ml remplis d'eau de source et élevés dans des conditions standards de lumière (14H-10H :lumière-obscurité, respectivement)) et de température (température ambiante). Les larves ont été nourries quotidiennement *ad libitum* avec *Artemia nauplii* cinq jours par semaine. L'eau dans les gobelets était changée complètement tous les 4-6 jours, ou plus fréquemment si nécessaire. Au total, 600 larves, 50 par récipient, dans lequel les larves ont été séparées en groupes de dix larves ( $10 \times 5 \times 7$ ,  $10 \times 5 \times 5$  ; espèce  $\times$  groupes  $\times$  réplicat). Pour chaque stade de un à cinq nous prenons un groupe ( $10 \times 7$ ,  $10 \times 5$ ) réplicat.

### 2.5. Suivi des paramètres de développement

Afin d'évaluer la durée de passage entre les stades larvaires, des observations ont été faites toutes les 48 H à 72 H. Les larves ont été séchées sur du papier absorbant avant d'être pesées pour éliminer l'excès d'eau. Nous avons estimé la masse humide en pesant les larves individuellement sur une semi-microbalance de laboratoire avec une précision de 0,0001 mg. (OHAUS Europe GmbH, Nänikon-Suisse). Les larves sont ensuite stockées à  $-20 \text{ }^\circ\text{C}$  et utilisées pour les tests biochimiques.

Le taux de mortalité est évalué par vérification des gobelets et dénombrement d'individus morts dans chaque groupe.

## 2.6. Extraction et dosage des constituants biochimiques

Les larves ont été conservées dans 1 ml de l'acide trichloracétique (TCA) à 20% (v/v), après la pesée dans un tube Eppendorf. L'extraction des principaux métabolites (protéines, glucides et lipides) a été réalisée selon le procédé de **Shibko *et al.* (1966) (Fig. 17)**. Dans un premier temps, les échantillons ont été broyées à l'aide d'un homogénéisateur à ultrason et centrifugées (5000 trs / min à 4°C, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de **Duchateau & Florkin (1959)**. Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (v/ v) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn, à -4°C), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (**Goldsworthy *et al.*, 1972**) et le culot II dissout dans de la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon la méthode de Bradford. Chaque dosage a été réalisé avec 3 répétitions comportant chacune un pool de larves de nombre varie (125 larves pour le premier stade, 10 larves pour le troisième et le cinquième stade) selon le stade larvaire (le poids des larves).

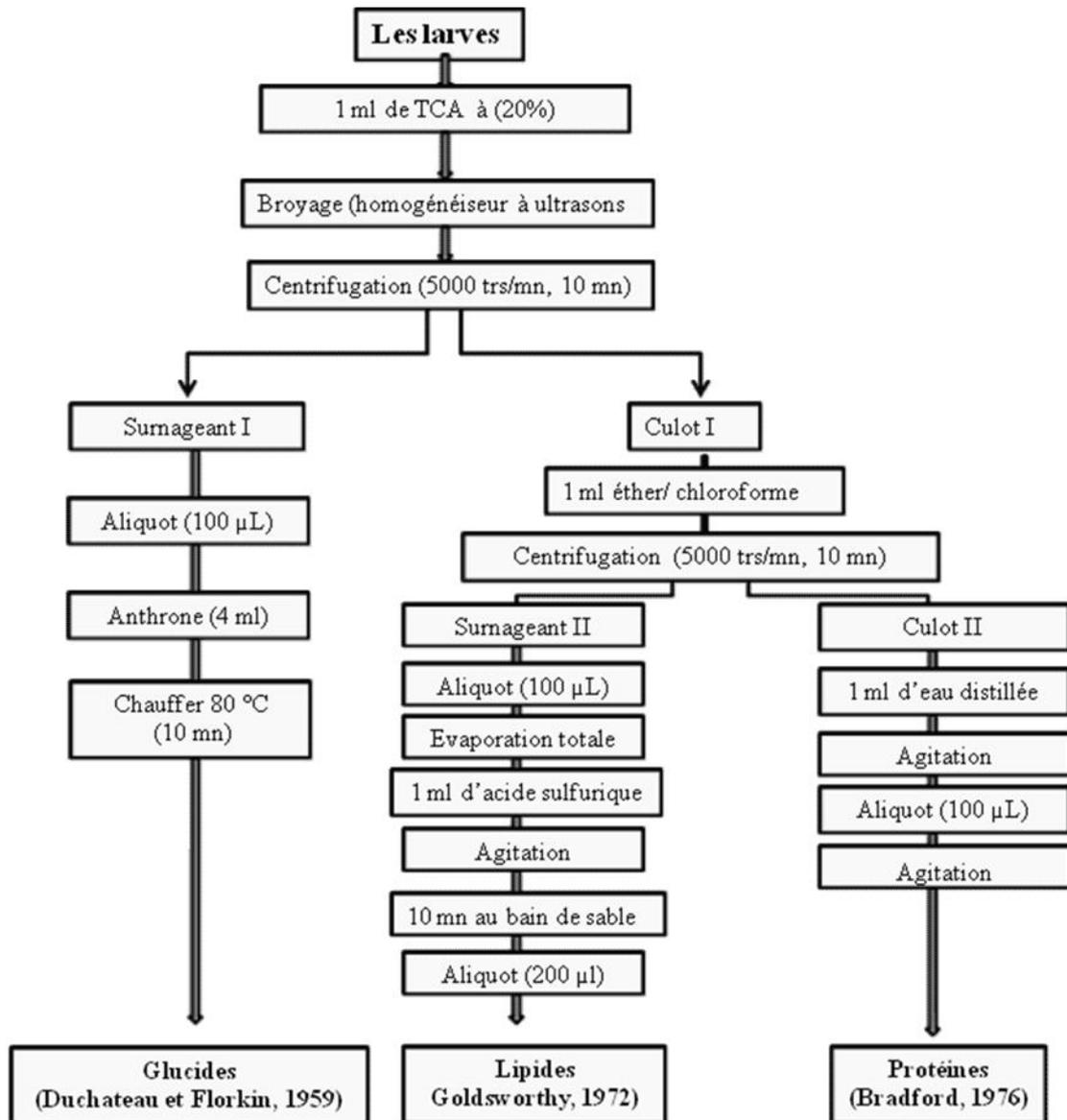


Figure 17. Extraction des glucides, protéines et lipides totaux selon (Shibko et al., 1966).

### 2.6.1. Dosage de protéines

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de **Bradford (1976)**, dans une fraction aliquote de 100 µl, à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de Commassie (BBC) G250 (Merck, Lyon-France) (On homogénéise 100 mg de BBC, dans 50 ml d'éthanol 95°, on y ajoute ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 1000 ml avec de l'eau distillée). La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4°C. Celui-ci révèle la présence des protéines par une coloration bleue. L'absorbance est lue au spectrophotomètre (Sigma 2-16KHL, Allemagne) à une longueur d'onde de 595 nm. La quantité des protéines est calculée par rapport à une gamme étalon réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) (Sigma Aldrich, St. Quentin Fallavier-France) titrant 1 mg/ml.

### 2.6.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides a été réalisé selon Duchateau & Florkin (1959). Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (Sigma-Aldrich, USA) (150 mg d'anthrone, 75 ml d'acide sulfurique et 25 ml d'eau distillée) et une solution mère de glucose (1 g/l) (Sigma-Aldrich, USA) comme standard. La méthode consiste à additionner à une fraction aliquote de 100 µl 4 ml de réactif d'anthrone. Après chauffage du mélange dans un bain marie (80 °C pendant 10 min), une coloration verte se développe. Les absorbances sont lues à une longueur d'onde de 620 nm. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1 mg/ml).

### 2.6.3. Dosage des lipides totaux

Le contenu en lipides corporels totaux est déterminé selon la méthode de **Goldsworthy et al., (1972)** utilisant le réactif sulfophosphovanillinique (0,38 g de vanilline, 55 ml d'eau distillée, 195 ml d'acide orthophosphorique (Merck, Lyon-France) à 85%) et une solution mère de lipides à 25 mg/ml (25 mg d'huile de table, 1 ml éther/chloroforme (v/v)) comme standard. Après évaporation des prises aliquotes de 100 µl du surnagent II dans un bain à sec à 40 °C pendant environ 20 minutes, on additionne 1 ml d'acide sulfurique concentré (96%); les tubes fermés sont mélangés vigoureusement, puis chauffés dans un bain à sec à 100 °C pendant 10 minutes. Après refroidissement, un volume de 200 µl de chaque tube Eppendorf est prélevé auquel 2,5 ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique est ajouté. Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose. La densité optique est lue par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 530 nm. La quantité de lipides est estimée à partir d'une gamme d'étalonnage (**Tab. 03**), effectuée à partir d'une solution mère de lipides (prendre 2,5 mg d'huile de tournesol 99% triglycérides (Eleo, Algérie)) dans un tube Eppendorf et ajouter 1 ml d'éther chloroforme (v/v).

### 2.7. Extraction et dosage du malondialdéhyde

Les larves au stade final témoins et traitées de *S. meridionale* sont prélevées pour le dosage du malondialdéhyde (MDA). L'essai est conduit avec 3 répétitions pour le témoin et les 6 concentrations. Les larves sont broyées aux ultrasons dans 1 ml de tampon tris-HCl (50 mM, pH 7,5) [1,5137 g tris, 0,0730 g EDTA (acide éthylène diamine tétra-acétique), 42,78 g sucrose, 250 ml eau distillée]. Une fois l'homogénéisation réalisée, une centrifugation est effectuée pendant 10 min à 10000 tours/min et le surnageant récupéré servira au dosage du malondialdéhyde (MDA).

Le dosage est réalisé avec 500 µl du surnageant, additionné de 2,5 ml de TCA (100 g TCA et compléter à 1000 ml avec de l'eau distillée). Après chauffage au bain marie à 100 °C pendant 15 min et refroidissement dans de la glace, une deuxième centrifugation est effectuée à 10000 tours/min pendant 10 min. Une fraction aliquote de 2 ml du surnageant est alors prélevée à laquelle on ajoute 1 ml d'acide thiobarbiturique (TBA) [6,7 g TBA, 1000 ml eau distillée]. Après un second chauffage (100 °C, 15 min) et refroidissement, 1,5 ml de butanol sont rajoutés. Après agitation, une dernière centrifugation (10000 tours/min, 10 min) est réalisée et le surnageant constitué de 1 ml de butanol renfermant le complexe ATB (acide thiobarbiturique) /MDA est récupéré. Le MDA est dosé selon la méthode de **Draper & Hadley (1990)**. La méthode est basée sur la mesure colorimétrique de la réaction entre ATB avec le MDA, composé issu de la peroxydation lipidique des acides gras polyinsaturés des membranes cellulaires, donnant un produit rouge brun dont l'intensité de la coloration est mesurée à une longueur d'onde de 532 nm contre un blanc (tampon tris-HCl). Le taux de MDA est déterminé selon la formule suivante :

$$X = \frac{[(DO/156) \times (V_t/V_s)]}{\text{mg de protéines}}$$

**X** : Taux du MDA (mM/mg de protéines).

**DO**: La densité optique obtenue après hydrolyse du substrat à 532 nm.

**e** : Coefficient d'extinction molaire du TBA =  $156 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1} = 1.56 \times 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

**V<sub>t</sub>** : Volume total de la cuve (1ml).

**V<sub>s</sub>** : Volume du surnageant utilisé (0,5 ml).

**mg de protéines** : Quantité de protéines exprimée en mg.

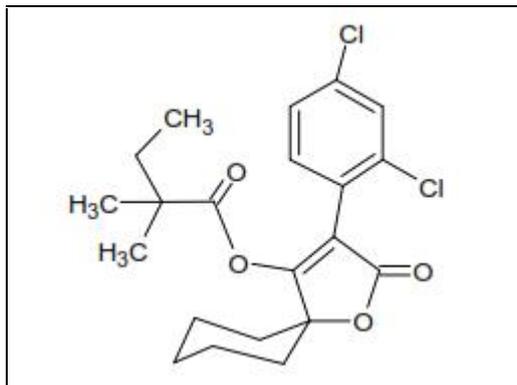
La détermination du taux de MDA nécessite le dosage des protéines réalisé selon la méthode décrite précédemment.

- L'EDTA, le TBA et le butanol sont des produits Sigma-Aldrich (France) et leur pureté est 99%.

## 2.8. Présentation de l'insecticide

Spirodiclofen (ENVIDOR<sup>®</sup> 240 SC : solution concentrée) est le nom commun du 3-(2,4-dichlorophenyl)-2-oxo-1-oxaspiro[4.5]dec-3-en-4-yl 2,2-dimethylbutyrate, **la formule brute de la substance chimique** est C<sub>21</sub>H<sub>24</sub>Cl<sub>2</sub>O<sub>4</sub> et sa masse moléculaire est de 411,3 g (**Fig. 18**). C'est un insecticide / acaricide à base de spirodiclofène qui appartient à la nouvelle famille chimique des acides tétroniques, il agit comme un inhibiteur de la biosynthèse des lipides, principalement contre les acariens.

Le spirodiclofène et le spiromesifène ont un nouveau mode d'action (interférence avec la biosynthèse des lipides).



**Figure 18.** Formule de structure du spirodiclofen

### 2.8.1. Exposition chronique à l'insecticide

La limite de la solubilité du Spirodiclofen dans l'eau est de (0.05 mg/l à pH 4 ; 190 mg/l à pH 7) (**Mac Bean, 2010**). Ainsi que des recherches récentes ont montré que le spirodiclofen existe dans les sédiments fluviaux avec une concentration de (0,881  $\mu\text{g/g}$ ) (**Zhang et al., 2019**). Le spirodiclofen est utilisé sur les larves au stade final respectivement aux doses de (0,00005 - 0,00012 - 0,00024 - 0,0006 - 0,0015 - 0,012) mg et les larves du groupe témoin reçoivent 1  $\mu\text{l}$  de solvant seul (acétone/eau : 50/50 (v/v)). L'insecticide a été dilué dans l'acétone et 1 ml a été déposé dans chaque gobelet.

L'exposition au pesticide s'étale sur une période de 14 jours vue que dans les systèmes aquatiques, le spirodiclofène se dissipe avec des demi-vies d'environ 1 à 7 jours dans des mésocosmes naturels eau/sédiment dans des conditions aérobies (**Riegner, 1999**).

### 2.9. Analyse bactériologique

L'objectif de l'analyse bactériologique est d'effectuer un inventaire des espèces présentes et de rechercher :

- Dans l'eau soit celles qui sont susceptibles d'être pathogènes, soit celles qui sont indicatrices de contamination fécales. L'analyse débute par l'acte de prélèvement qui doit mettre en œuvre des méthodes assurant l'absence de contamination et la survie bactérienne (**Dommergues et al., 1970**).
- Dans la microbiote intestinale de l'odonate étudié les différentes espèces bactérienne.

### 2.9.1. Prélèvement des eaux

Deux points de prélèvement déjà cités précédemment (P1= S1 Masmassa et P2=S2 le marais de la Mekhada) ont été sélectionnés pour l'analyse bactériologique, ce choix n'est pas fortuit mais représente mieux la variabilité spatiale et temporelle de la qualité du plan d'eau (Funasa, 2013).

Pour les analyses bactériologiques, les échantillons sont prélevés au moyen des flacons en verre d'une contenance de 250 ml fermés hermétiquement et préalablement bien stérilisés dans un four Pasteur à une température de 170° - 180°C pendant 30 minutes à 1 heure. Les flacons de prélèvement sont plongés dans l'eau du Lac fermés, nous les ouvrons à une profondeur de 30 cm et nous les rinçons 2 à 3 fois avec l'eau de Lac avant de les remplir et fermer hermétiquement dans l'eau sans laisser de bulles d'air.

**NB :** Le prélèvement s'effectue à environ 30 à 40 cm où a mi profondeur si l'hauteur de l'eau est faible, en évitant la remise en suspension des dépôts (Rodier *et al.*, 2016).

Le fait de prélever un échantillon d'eau et de le séparer de son milieu naturel entraîne des modifications plus ou moins importantes selon les paramètres. Certains peuvent être considérés comme stables à l'échelle de temps à laquelle on travaille, mais d'autres varient très rapidement, diverses réactions chimiques et biologiques se produisent tels la précipitation de sels, favoriser la mise en solution de gaz ainsi que la prolifération bactérienne. Donc les échantillons sont transportés directement au laboratoire dans des glacières (4 à 6 °C) (Sayad, 2008 ; Naimi, 2018).

L'objectif de cette étude est d'estimer d'abord le degré de contamination chimique et biologique des eaux des deux écosystèmes choisis soit la marre temporaire de la Maouna (S1 : Masmassa) et le marais de la Mekhada (S2).

### 2.9.2. Prélèvement du microbiome intestinal des odonates

Comme le concept de microbiome est assez récent, peu de méthodes standardisées ont été développées à ce jour pour en faire l'analyse. Les premières études d'écologie microbienne consistaient en différentes étapes d'isolement, d'enrichissement et de croissance sur gélose suivies par différents tests biochimiques visant à classer les microorganismes dans un taxon connu. L'étude du microbiome des insectes est grandement facilitée par le fait qu'ils se développent rapidement, se reproduisent en grands nombres, sont faciles à élever. Par contre, en raison de leur petite taille, l'échantillonnage signifie souvent la mort pour l'insecte étudié. Ceci empêche ainsi l'échantillonnage du même insecte à plusieurs points dans le temps (Landry, 2015). Après avoir capturer les adultes de *S. meridionale* à partir des deux sites de

l'étude. Les insectes sont anesthésiés par le chloroforme et sous une loupe binoculaire, chaque insecte est placé sur le dos et fixé sur le ventre par une aiguille sur une boîte de paraffine, ensuite le tégument de l'abdomen est coupé en utilisant un bistouri, au niveau de cette ouverture le prélèvement du microbiome est réalisé par une pipette Pasteur.

## **2.10. Isolements bactériens**

### **2.10.1. Dénombrement des germes totaux (micro-organismes revivifiables)**

Le principe consiste à mettre en évidence les bactéries

- Qui se développent à 20 °C favorisant ainsi les germes spécifiques de l'eau.
- Et celles qui se développent à 37 °C favorisant ainsi les germes issus de l'homme et des animaux à sang chaud.

Après avoir bien agité l'eau échantillonnée, nous avons préparé des dilutions ( $10^{-1}$ ,  $10^{-2}$ ,  $10^{-3}$ , ...) de l'eau en utilisant l'eau physiologique stérile (0.9‰ NaCl) puis ensemencé en masse dans la gélose TGEA (Tryptone Glucose Extract Agar) une série de boîtes de Pétries est placée à 37 °C et à 20 °C pendant 48 heures selon les normes internationales **ISO 6222**. La gélose TGEA est utilisée pour le dénombrement de la flore totale et ne présente pas d'exigences particulières (**Rodier et al., 2016**).

### **Lecture**

Chaque bactérie isolée donne naissance à une colonie ou UFC pour « unité formant colonie ». En effet, plusieurs bactéries peuvent être à l'origine de la formation d'une seule colonie qui ne peut plus être qualifiée de colonie (pas de clone) mais alors d'UFC. Le calcul d'UFC se fait ainsi (avec : V = volume de dilution ; N = nombres de colonies ; F = facteur de dilution) : **UFC=N/(V\*F)** (**Rodier et al., 2016**).

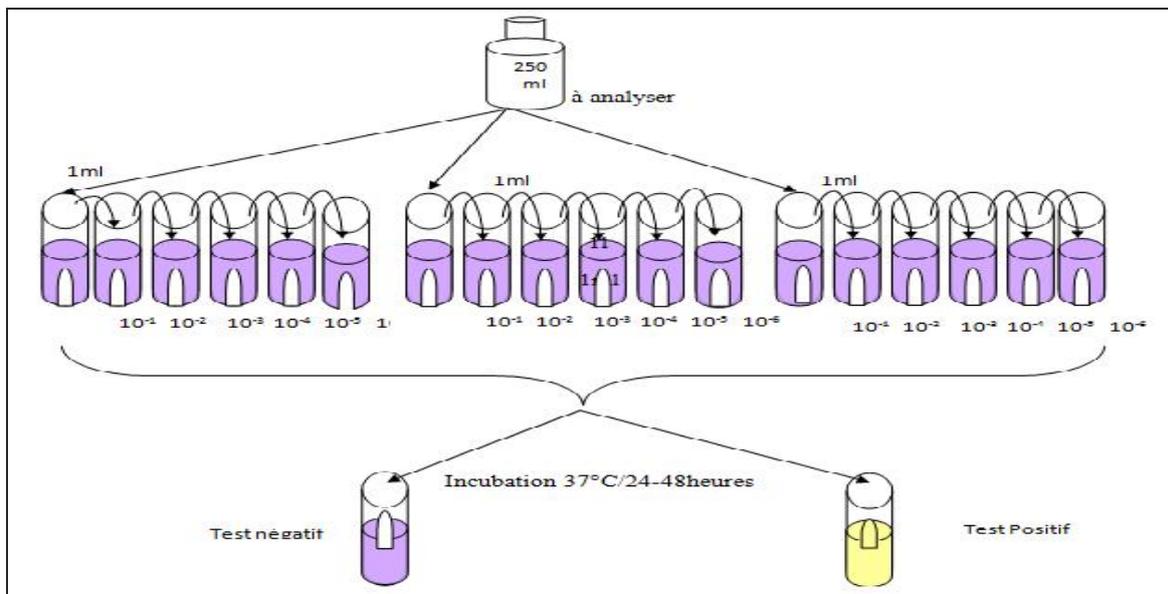
### **2.10.2. Recherche et dénombrement des coliformes totaux**

#### **Test présomptif**

Après la réalisation des dilutions de  $10^{-1}$  .....  $10^{-7}$  d'eau à analyser, sept tubes de BCPL (Bouillons Lactosé au Pourpre Bromocrésol) simple concentration, munis d'une cloche de Durham, à raison de 9 ml par tube, pour chaque série de dilution ont été prélevés et trois séries de dilution ont été réalisées. Après l'avoir homogénéiser soigneusement, prélever un volume de 1 ml d'eau à analyser a été prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur et la porter dans le premier tube de la série de dilution ( $10^{-1}$ ).

La pipette ne doit entrer en contact ni avec les parois des tubes, ni avec le liquide diluant. Avec une nouvelle pipette Pasteur, homogénéisée par aspiration le contenu de ce tube ( $10^{-1}$ ), prélever 1ml etensemencer le tube ( $10^{-2}$ ), et ainsi de suite jusqu'au tube ( $10^{-7}$ ), changer à, chaque fois de pipette (Funasa, 2013) (Fig. 19).

- Chassez l'air éventuellement présent dans les cloches de Durham et mélanger bien le milieu et l'inoculum. L'incubation se fait à 37 °C pendant 24 à 48 heures (Dommergues et al, 1970).



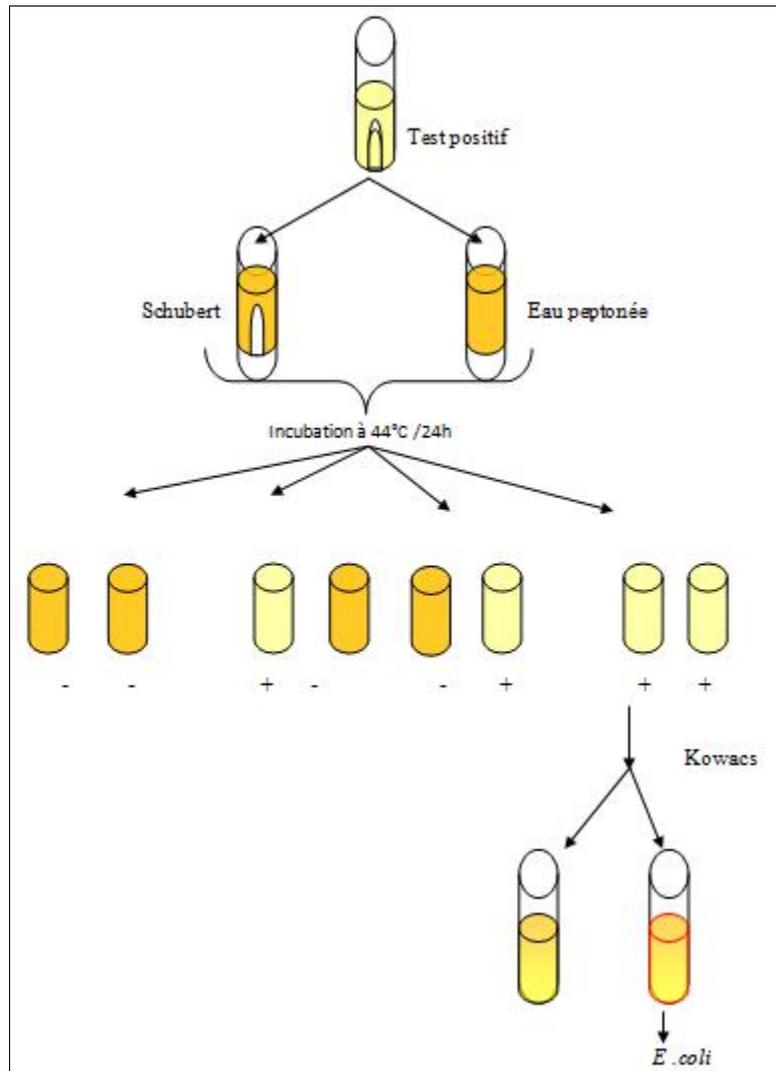
**Figure 19.** Recherche et dénombrement des coliformes totaux (test de présomption) (Aouissi, 2009).

### 2.10.3. Recherche et dénombrement des coliformes fécaux et de *E. coli*

#### Test confirmatif

Ce test fait suite à un dénombrement en milieu liquide des coliformes. Il utilise la propriété des **coliformes fécaux** de fermenter le lactose à 44 °C et de *Escherichia coli* de produire l'indole à 44°C (Fig. 20) (Funasa, 2013).

Nous notons le nombre de tubes positifs dans chaque série et nous reportant aux tables de NPP. Pour obtenir le nombre de coliformes fécaux présent dans 1ml de l'échantillon (Rodier et al., 2016).



**Figure 20.** Recherche et dénombrement des coliformes fécaux (test confirmatif) (Aouissi, 2009).

#### 2.10.4. Recherche et dénombrement des streptocoques fécaux ou Entérocoques

- **Test de présomption**

La recherche se fait en bouillon à l'azide de sodium (bouillon de Rothe), en utilisant des milieux à simple concentration et on réalise le même procédé utilisait pour la recherche des coliformes totaux autrement dit la méthode classique de dilution de 3 séries. On incube les tubes à 37 °C et on les examine après 24 et 48 heures. Les tubes présentant un trouble microbien pendant cette période sont présumés contenir un streptocoque fécal et sont soumis au test confirmatif (Rodier et al., 2016) (Fig. 21).

Nous notons le nombre de tubes positifs dans chaque série et se reporté aux tables de NPP pour connaître le nombre de streptocoques fécaux présent dans 1 ml de l'échantillon (Rodier *et al.*, 2016).

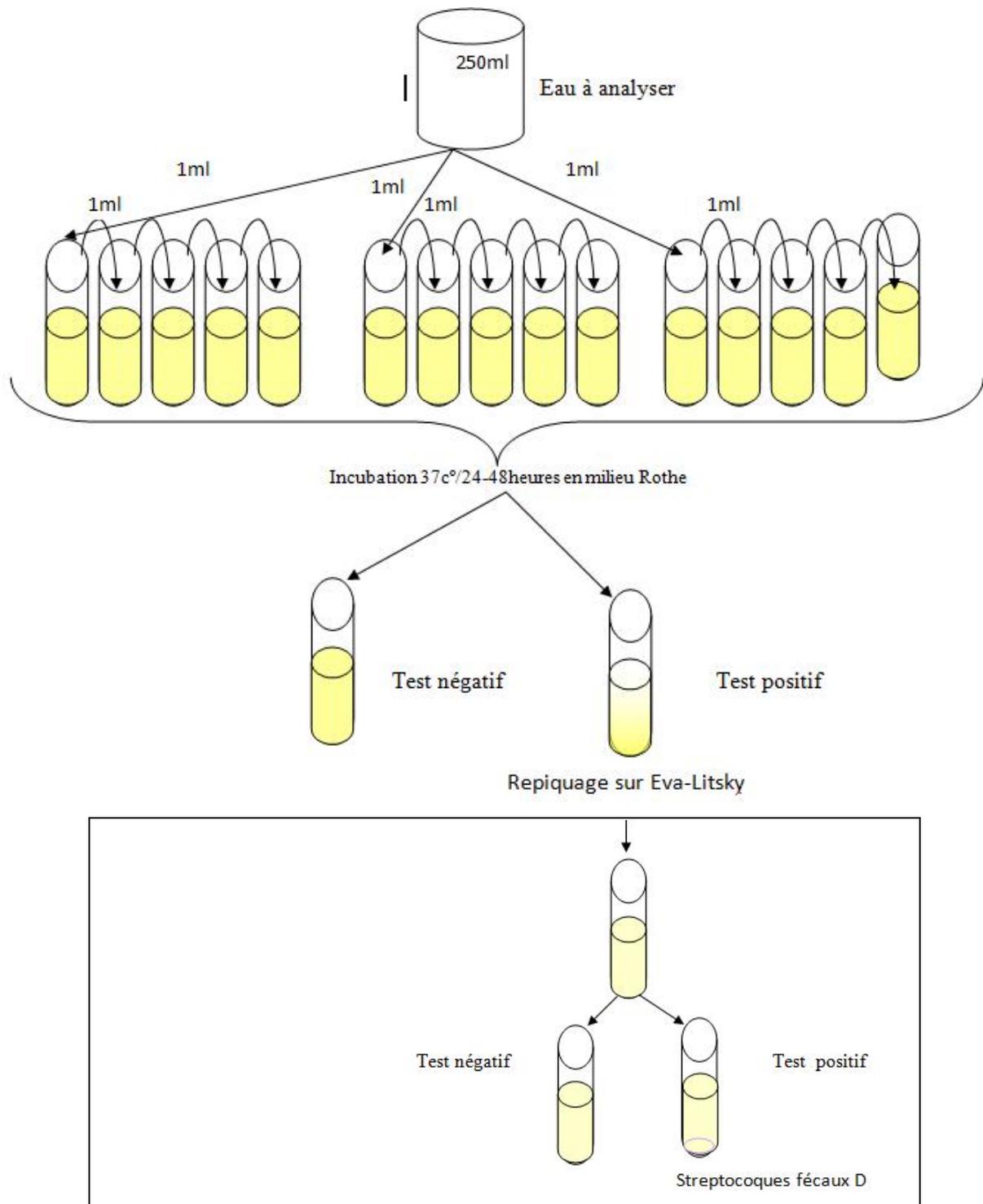


Figure 21. Recherche et dénombrement des Streptocoques (Aouissi, 2009).

### 2.10.5. Recherche et dénombrement des spores de bactéries des anaérobies sulfitoréductrice et de *Clostridium* sulfitoréducteurs

#### - Méthode par incorporation en gélose

Après destruction des formes végétatives par chauffage à 80 °C, l'échantillon est incorporé à un milieu de base fondu qui est la viande de foie, régénéré, additionné de sulfite de sodium et de sels de fer. La composition du milieu est établie pour tenir compte d'un volume déterminé d'eau incorporée. L'incorporation se fait dans un tube et non dans une boîte afin de limiter la surface de contact entre le milieu et l'air. Après solidification et incubation, la présence de germes sulfito-réducteurs se traduit par un halo noir autour des colonies. Placer les tubes inoculés à l'étuve ou au bain-marie réglé à 37 °C pendant 44 h  $\pm$  4 h (Sayad, 2008).

Considérer comme positifs les tubes où le milieu présente un noircissement par suite de la formation de sulfure de fer due à la réduction du sulfite de sodium. Le nombre de colonies par tube est déterminé après 18 à 24 heures. Le résultat final est exprimé en nombre de spores de CSR par 100ml d'eau analysée. Le dénombrement est effectué après 18 heures d'incubation, car parfois, après 24 heures, le tube devient complètement noire, et il est alors impossible compter les spores de CSR (Rodier *et al.*, 2016).

### 2.10.6. Isolement et identification des microorganismes pathogènes

#### ❖ Principe

Les milieux utilisés afin d'isoler les microorganismes sont la gélose nutritive qui est un milieu ordinaire permettant à la culture de la majorité des bactéries. Aussi nous avons utilisé la gélose de Mac Conkey qui est un milieu différentiel utilisé pour la détection des coliformes et des Entérobactéries pathogènes et dont elle permet leur croissance. Le développement des bactéries n'appartenant pas à la famille des Entérobactéries est inhibé par les sels biliaries. Elle est utilisée pour séparer les Entérobactéries fermentant le lactose (Lac+) de celles ne le fermentant pas (Lac-).

La fermentation du lactose conduit à la production des acides qui affectent l'indicateur de pH présent dans ce milieu avec l'apparition d'un halo (sels biliaries). Les bactéries (Lac+) donnent des colonies rouges tandis que les bactéries (Lac-) forment des colonies incolores.

Enfin, nous avons utilisé la gélose de Chapman qui est un milieu sélectif pour isoler les staphylocoques et empêcher la croissance des germes Gram négatif (Dommergues *et al.*, 1970).

❖ **Procédure :**

On prélève stérilement avec une anse de platine un inoculum de l'échantillon bien homogénéisé puis on ensemence par la méthode des stries les géloses suivants (gélose nutritive, Mac Conkey et Chapman) et on incube à 37 °C pendant 24 heures (**Funasa, 2013**).

**Isolement et purification des souches fermentant le lactose (Lac+)**

Sur les trois géloses mises en culture, les colonies suspectes sont repiquées dans de nouvelles boîtes gélosées afin de vérifier la pureté des souches. Le repiquage sur milieu Mac Conkey permet aussi de vérifier si la fermentation du lactose est effective ou non. Ces milieux gélosés sont ensemencés en surface par stries et incubés à 37°C pendant 24 heures (**Leclerc et al., 1977**).

**2.10.7. Identification**

**2.10.7.1. Caractéristiques morphologiques**

Dans les conditions données, chaque espèce bactérienne développe une colonie de taille, de forme, de couleur et de consistance caractéristiques

Nous avons noté pour chaque type des colonies distinctes les caractères suivants (contour, élévation, couleur, surface) (**Funasa, 2013**).

**2.10.7.2. La coloration de Gram**

Cette coloration aide à déterminer deux grands groupes appelés Gram positif et Gram négatif. Elle nous permet aussi de connaître la morphologie et le mode de regroupement des bactéries. Nous avons appliqué la coloration de Gram pour toutes nos cultures.

**Expression des résultats**

Les bactéries « **Gram positif** »: qui gardent leur coloration violette après décoloration par l'alcool.

Les bactéries « **Gram négatif** »: qui, décolorées par l'alcool, sont teintées par la fuchsine et apparaissent roses ou rouges (**Leclerc et al., 1977**).

**2.10.7.3. Identification biochimique**

Seules les colonies qui sont apparues sur Mac Conkey ont été identifiées biochimiquement. Ces colonies sont conservées sur gélose inclinée avant d'être identifiées.

### 2.10.7.3.1. Galeries biochimiques classiques pour les coliformes

#### Test du mannitol- mobilité

##### ❖ Principe

Le milieu utilisé est celui du mannitol -mobilité. Ce milieu faiblement gélosé en culot met en évidence la fermentation du mannitol par certaines bactéries qui entraînent l'acidification du milieu, indiqué par le virage d'un indicateur coloré de pH, le rouge de phénol deviens jaune à pH acide et rose à pH alcalin.

Ce milieu permet simultanément d'établir la mobilité éventuelle des bactéries matérialisée lors par leur diffusion autour de la piqûre centrale d'ensemencement du milieu.

#### Test au rouge de méthyle (RM)

##### ❖ Principe

C'est un test qualitatif qui permet de distinguer les Entérobactéries productrices de fortes concentrations d'acides (RM+) des bactéries faiblement productrices (RM-), par l'acidification finale d'un milieu peptoné tamponné au phosphate après fermentation du lactose. Le rouge de méthyle est l'indicateur de cette acidification, il vire au jaune à un  $\text{pH} > 6.3$  et au rouge à un  $\text{pH} < 4.2$ .

##### ❖ Procédure

La réaction est étudiée dans le bouillon Clark et Lubs qui permet de mettre en évidence cette caractéristique. L'ensemencement se fait par inoculation à partir de boites de repiquages et l'incubation se fait dans les conditions habituelles. Après incubation, ajouter une à deux gouttes de rouge de méthyle. La réaction est instantanée (**Leclerc *et al.*, 1977**).

#### Le test de Voges-Prauskauer (VP)

##### ❖ Principe

Ce test détecte la capacité de synthèse de l'acétoine par un microorganisme, qui est un métabolite spécifique intermédiaire de la fermentation butandiolique (VP+), elle-même caractéristique de certaine Entérobactéries.

Dans un milieu bien aéré et fortement alcalinisé (par addition de NaOH), il se produit une auto oxydation de butanediol en acétoine et en diacétyle.

L'acétoïne réagit avec le réactif VPI (soude au potasse) pour former le diacétyl ; ce dernier après addition du VP II va réagir avec le groupe guanidine de l'arginine pour former un complexe coloré en rose (**Aouissi, 2009**).

#### ❖ Procédure

Nous avons ensemencé le milieu Clarck et Lubs et incubé à 37 °C pendant 24 heures, puis ajouter 1 ml de la solution potasse à 16% et 0.5 ml d'naphtol. Maintenir le tube incliné pour favoriser l'oxydation. L'apparition de la couleur rose ou rouge au bout de 30 minutes traduit une réaction dite VP+.

### **Le test de décarboxylase**

#### ❖ Principe

Ce test permet de détecter la production d'enzymes de décarboxylase : la lysine décarboxylase, l'ornithine décarboxylase et l'arginine deshydratase qui décarboxylent respectivement la lysine, l'ornithine et l'arginine en cadaverine, putrescine et agmatine par ordre successif (**Funasa, 2013**).

#### ❖ Procédure

Nous avons ensemencé trois tubes contenant chacun un des trois acides aminés dissous dans du bouillon de Moeller (glucose - peptone) par le germe étudié et incubé à 37 °C pendant 24 heures.

Initialement, les bactéries métabolisent en priorité le glucose, le milieu est alors acidifié et vire au jaune grâce au virage d'un indicateur de pH. Si les acides aminés sont à leur tour décarboxylés, le milieu est alors alcalinisé et devient pourpre (**Rodier et al., 2016**).

### **Etude de la dégradation du glucose, saccharose et lactose en milieu TSI**

#### ❖ Principe

Le milieu TSI est utilisé pour l'identification rapide des Entérobactéries et qui permet de mettre en évidence la dégradation du glucose, du lactose, du saccharose, la production éventuelle du sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) et la production de gaz (CO<sub>2</sub>). Ce milieu est composé d'un culot et une pente, et contient le rouge de méthyle comme un indicateur de pH.

Si les bactéries utilisent le glucose, le culot se colore en jaune, alors que si elles utilisent le saccharose et le lactose c'est la pente qui se colore en jaune. La production du gaz se traduit

par la formation de bulles de gaz ou soulèvement de la gélose alors que la production d'H<sub>2</sub>S se traduit par un noircissement du milieu.

❖ **Procédure**

Nous avonsensemencé le milieu TSI à l'aide d'une anse stérile par des stries longitudinales au niveau de la pente et par une piqûre centrale dans le culot. Nous avons incubé les tubesensemencés à 37 °C pendant 24 heures. La lecture est réalisée après 24 heures (Leclerc *et al.*, 1977).

**Le test de l'uréase**

❖ **Principe :**

L'uréase est une enzyme qui hydrolyse l'urée (NH<sub>2</sub>) CO<sub>2</sub> en dioxyde de carbone et ammoniac qui se lient entre eux pour donner le complexe du carbonate d'ammonium (composé alcalin).

Le milieu urée -indole permet de mettre en évidence ce caractère dont le virage de l'indicateur au rouge violacé en raison de l'alcalinisation du milieu indique l'utilisation de l'urée par la bactérie.

❖ **Procédure**

Nous avonsensemencé 2 ml du milieu urée -indole par l'anse de platine stérile et incubé à 37 °C pendant 24 heures (Funasa, 2013).

**Le test de l'indole**

L'indole est le métabolite terminal de la dégradation du tryptophane présent initialement dans le milieu. Seules les bactéries indologènes permettent cette dégradation jusqu'à la formation de l'indole. Ce dernier va réagir avec le réactif de Kowacs (acide nitrique nitreux) pour former un anneau rouge surnageant (nitrose indole) (Naimi, 2018).

❖ **Procédure**

Nous avonsensemencé 2 ml du milieu urée -indole et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, nous avons ajouté deux gouttes du réactif Kowacs en assurant une légère agitation des tubes (Rodier *et al.*, 2016).

**Le test de réduction du nitrate**

❖ **Principe :**

Ce test permet de détecter si un organisme possède le nitrate réductase qui est une enzyme capable de réduire le nitrate (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) en nitrite (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>).

❖ **Procédure :**

L'ensemencement du bouillon nitraté permet de mettre en évidence, ce caractère par le germe étudié et incubé à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation, nous avons ajouté deux gouttes du réactif nitrate réductase I (solution naphthol à 6% dans l'alcool à 60%) et deux gouttes du réactif nitrate réductase II (Naimi, 2018).

Si le milieu devient rose ou rouge, la réaction est dite nitrate réductase positive.

Si le milieu reste incolore, on a deux éventualités :

- Les nitrates ont d'abord été réduits en nitrites mais la réduction s'est poursuivie.
- Ou les nitrates n'ont pas été réduits en nitrites et se trouvent donc dans le bouillon nitrate.

Dans ce dernier cas, nous provoquons la réduction chimique en ajoutant de la poudre de zinc si la couleur apparaît, la bactérie est dite nitrate réductase négative (Leclerc *et al.*, 1977).

### **La recherche du citrate perméase**

❖ **Principe :**

Ce test permet d'établir l'utilisation du citrate comme seule source de carbone par la bactérie qui possède l'enzyme citrate perméase, en provoquant l'alcalinisation du milieu utilisé.

Le milieu citrate de Simmons permet de mettre en évidence ce caractère, ainsi qu'il possède un indicateur de pH « le bleu de bromothymol » dont il vire vers la couleur verte (à pH acide) et en bleue (à pH alcalin).

❖ **Procédure :**

On ensemence le milieu citrate de Simmons par des stries longitudinales de bas en haut et incubé à 37°C pendant 24 heures (Funasa, 2013).

### **La recherche de l'enzyme tryptophane désaminase (TDA)**

❖ **Principe :**

L'enzyme TDA agit sur l'acide aminé tryptophane en formant l'acide indole pyruvique. Ce dernier donne avec le perchlorure de fer une coloration brun rouge.

❖ **Procédure :**

Nous avons ensemencé 2ml du milieu urée -indole et incubé à 37°C pendant 24 heures. Après incubation, nous avons ajoutée deux gouttes du réactif TDA (perchlorure de fer) (Naimi, 2018).

### **La recherche de l'enzyme B -galactosidase**

❖ **Principe :**

Cette enzyme permet de scinder la molécule du lactose après leur pénétration dans la cellule bactérienne en glucose et galactose.

La présence de la galactosidase est mise en évidence à l'aide d'un analogue structural du lactose, l'ONPG (orthonitrophényl B-D-galactoside) qui diffuse librement à l'intérieur des bactéries ou il est alors dégradé par B-galactosidase en galactose et en orthonitrophénol. Ce dernier donne une couleur en jaune citron lors de sa libération dans le milieu (réaction positive).

❖ **Procédure :**

Nous avons préparé une suspension dense d'une culture de la bactérie étudiée dans 0.25 ml d'eau physiologique, et ajouté un disque ONPG pasteur. L'incubation est faite à 37°C pendant 24 heures (Aouissi, 2009).

### **La recherche du catalase**

❖ **Principe :**

C'est une enzyme qui élimine des sa formation chez les bactéries, le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) en l'hydrolysant en eau oxygénée. C'est un test important pour différencier les staphylocoques des streptocoques.

Les staphylocoques donnent des réactions positives alors que les autres donnent des réactions négatives.

❖ **Procédure :**

Sur une lame, nous avons déposé une goutte d'eau oxygénée ( $H_2O_2$ ) et nous avons ajouté la colonie étudiée. S'il y a dégagement gazeux ( $O_2$ ), le test est considéré comme positif (Naimi, 2018).

### **La recherche de l'oxydase**

❖ **Principe :**

Ce test permet de mettre en évidence l'existence du cytochrome oxydase, enzyme caractéristique d'un métabolisme respiratoire aérobie spécifique de la réduction de l'oxygène moléculaire.

La présence de cette enzyme est réalisée par le disque oxydase qui se constitue de l'oxalate de diméthyle phénylène diamine et qui est incolore à l'état réduit et colore en rouge à l'état oxydé.

❖ **Procédure :**

Sur une lame propre, nous avons déposé un disque oxydase que nous avons imbibé d'eau distillée stérile et ajouté la colonie de bactérie à étudier puis étalé à l'aide d'une anse de platine. Les bactéries oxydases positives donnent une coloration violette au disque en quelques minutes (Rodier *et al.*, 2016).

**2.10.7.3.2. Galeries d'API 20 E**

❖ **Principe :**

C'est une galerie multi-tests (Fig. 22), formée d'une vingtaine de cupules, contenant chacune un milieu de culture spécifique déshydraté, correspondant à l'identification d'un caractère métabolique. Il permet en totalité d'étudier ces caractères biochimiques avec plus de fidélité.

Le principe d'utilisation repose sur la comparaison de profils biochimiques d'espèces préalablement établis et répertoriés.

Avec cette galerie plus performante, l'identification est considérée comme acceptable au delà d'un degré de probabilité de 80% et une signification statistique d'autant plus grande que l'on se rapproche des 100% (Sayad, 2008).

❖ **Procédure :**

Nous avons bien isolé deux bactéries (Lac +) à étudier sur le milieu Mac Conkey pour les Entérobactéries, puis reconstitué selon les indications du catalogue les différents micro-tubes de la galerie par la suspension bactérienne préparée dans l'eau physiologique qui sert à la fois d'inoculum et d'agent de réhydratation du milieu.

Après incubation pendant 24 heures, le test positif se manifeste par une coloration directe ou après ajout du réactif correspondant.

Reporter sur la fiche d'identification tous les résultats spontanés. Vérifier si le test glucose est positif et/ou si trois tests ou plus sont positifs. Révéler les tests nécessitant l'ajout ou l'ajout de réactifs.

Le test VP : la lecture se fait 10mn après de l'ajout d'une goutte de réactifs VP1 et VP2.

Le test TDA : la lecture se fait immédiatement après l'ajout de réactif TDA.

Le test IND : la lecture se fait 2mn après de l'ajout d'une goutte de réactif de Kowacs. La non formation d'anneau rouge indique une réaction négative.

Imprimez la fiche de lecture API 20 E, traduisez les résultats de chaque caractère par (+ ou -), les réunir en un profil numérique de 07 chiffres qui sera ensuite identifié à l'aide du catalogue API 20E.



Figure 22. Galerie avant incubation (15)

### 2.11. Analyse statistique

L'effet de l'habitat sur quelques traits phénotypiques du *Sympetrum meridional* a été évalué par l'analyse de la covariance (ANCOVA), avec l'origine d'habitat comme facteur indépendant, le stade larvaire comme covariable et le nombre de décès en tant que variable dépendant. Une analyse de variance (ANOVA à un facteur) a été effectuée pour déterminer l'effet du stade larvaire et l'habitat et la durée du stade larvaire sur la masse corporelle des larves. Toutes les variables sont normalement distribuées (suivent la loi normale).

Pour analyser l'évolution du métabolisme biochimique du *Sympetrum meridionale* durant les différents stades larvaires, un test un ANOVA à un facteur a été réalisé pour déterminer les différences des taux des protéines, des lipides et des glucides entre les différents stades larvaires. Alors que le T-test est appliqué pour l'évaluation des différences des taux de ces trois nutriments entre les deux habitats.

La régression (Probit) non linéaire utilisant une courbe dose réponse sigmoïdale exprimant le pourcentage des mortalités enregistrées en fonction des logarithmes des concentrations utilisées a permis d'estimer les différentes concentrations létales.

Toutes les analyses statistiques ont été effectuées avec le logiciel PASW Statistics 18 (SPSS Inc. Released, 2009), avec une valeur de  $p < 0,05$  comme significative.

---

# Résultats

---

### 3. Résultats

#### 3.1. Suivi des paramètres de développement

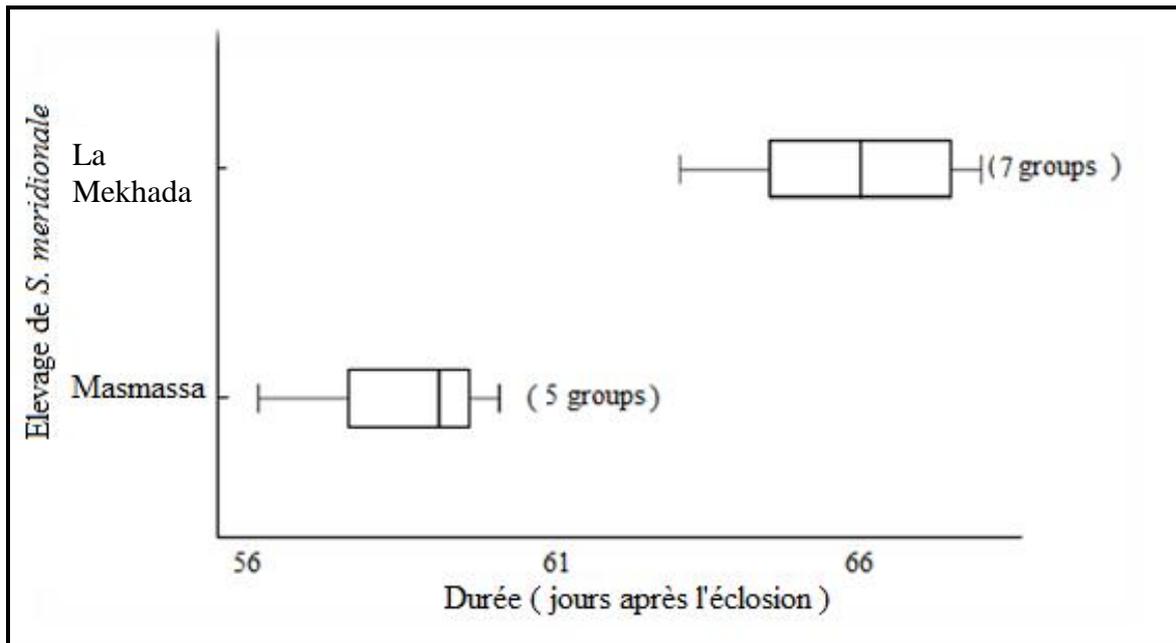
##### 3.1.1. Ecllosion et développement larvaire

Au cours d'un seul événement reproductif, un suivi des traits du cycle de vie a été effectué sur plus de 3400 œufs de *S. meridionale* collectées dans les deux sites de l'étude (**Tab.04**). Globalement, les deux populations ne se comportent pas de manière similaire au cours de la période de l'expérimentation. Tout d'abord, les œufs obtenus des femelles habitant la zone humide de la Mékhada ont connu un succès d'éclosion plus élevé (77,77%) que ceux obtenus des femelles habitant la Maouna (Masmassa marre temporaire) (37,68%). Ensuite, le nombre de larves émergées qui survivent jusqu'au dernier stade larvaire s'est avéré très faible (25,33%) dans la population de Maouna par rapport au second méso-habitat (50,95%). Enfin, il y a une interaction entre les types d'habitats et la durée de vie larvaire (échantillons indépendants T test :  $t = -7.96$  ;  $df = 12$  ;  $p < 0.05$ ) (**Fig.23**).

Les nouvelles larves obtenues à partir des femelles habitant le lac Mékhada ont survécu plus longtemps (68 jours) (**Tab. 04**) que les individus provenant des femelles habitant la Maouna.

**Tableau 04. Analyse du nombre initial d'œufs, du succès d'éclosion, de la survie et de la durée de vie des larves de *Sympetrum meridionale*.**

	Marais de la Mékhada		Masmassa	
	Nombre	Valeur	Nombre	Valeur
Nombre d'œufs	1800		1600	
Nombre d'œufs éclos	1400	77,77%	603	37,68%
taux de survie pendant la période d'élevage (cinq stades)	214 (n 420)	50,95%	76 (n300)	25,33%
Durée de vie (jours)	Minimale	63		56
	Maximale	68		60



**Figure 23. Moyenne de la durée de vie des larves de *Sympetrum meridionale* émergées au laboratoire (plus de 60 larves par groupe).**

### 3.1.2. Taux de mortalité

Les variables étudiées ; stades larvaires, origine de l'habitat et leur interactions affectent significativement le taux de mortalité (ANCOVA factorielle : tous les  $p < 0,05$ ) (Tab. 05). Les individus issus des femelles habitant la Maouna ont connu des taux de mortalité plus élevés que les individus de la population de la Mékhada (Fig. 24). Pour les deux populations, une diminution du taux de mortalités au cours des stades larvaires pendant l'expérience a été observée, mais les résultats ne sont pas significatifs (Fig. 24).

**Tableau 05. Résultats d'une ANCOVA factorielle pour *Sympetrum meridionale* avec l'origine de l'habitat comme facteurs indépendants, les stades larvaires comme covariables, et le nombre de décès comme variables dépendantes.**

Source	df	Mean Square	F	Sig.
Modèle corrigé	12	472,18	28,15	,00
Intercept	1	31,32	1,86	,17
Stades larvaires	5	501,91	29,92	,00
Origine de l'habitat	1	260,35	15,52	,00
Origine de l'habitat * Stade larvaire	5	94,94	5,66	,00

R Squared = .878 (Adjusted R Squared = .847)

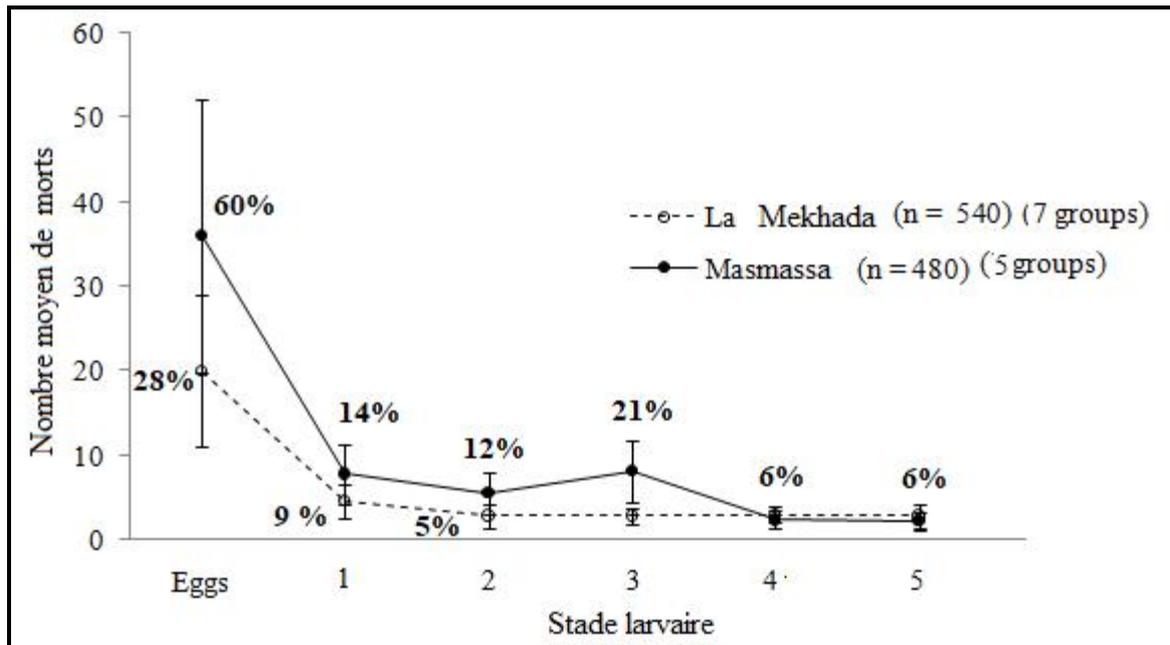


Figure 24. Taux de mortalité de *Sympetrum meridionale* émergées au laboratoire (jusqu'à 60 larves par groupe).

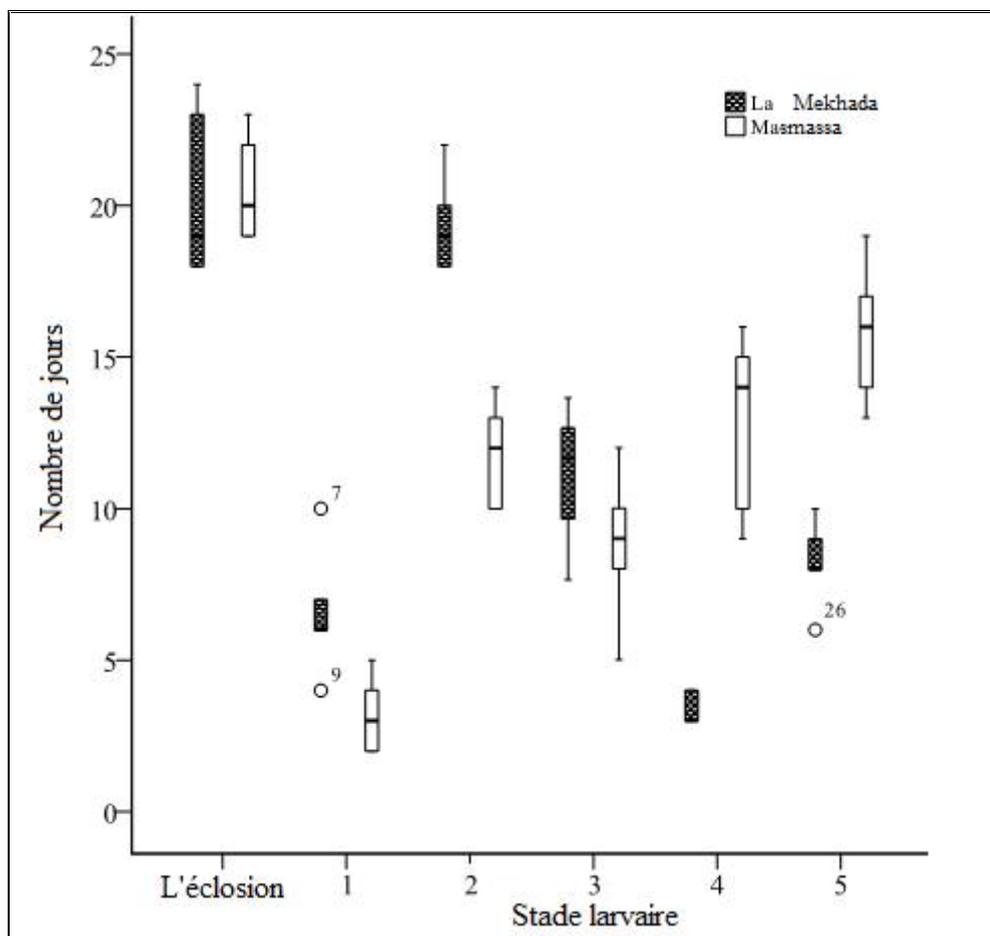
### 3.1.3. Développement larvaire et évolution de la masse corporelle

Notre étude est menée sur les cinq premiers stades à partir de l'éclosion pour les deux populations. L'ANOVA factorielle indique que le modèle global est statistiquement significatif (**Tab. 06**). La variable stade larvaire et son interaction avec l'origine de l'habitat sont également statistiquement significatives (**Tab. 06**). Cependant, la variable origine de l'habitat n'est pas statistiquement significative (**Tab. 06**). Ces résultats démontrent que l'influence significative de l'origine de l'habitat sur la durée de chaque stade larvaire dépend de l'âge des larves. Les comparaisons par paires ont montré que la similarité est notée exclusivement dans la durée d'éclosion ( $t=-0.13$  ;  $p=0.98$ ) (**Fig. 25**), c'est-à-dire qu'il n'y a pas de variabilité dans le temps d'éclosion des œufs entre les populations. Alors que les larves provenant des femelles habitant la Mékhada ont une durée de développement plus longue sur le premier ( $t=2,98$  ;  $p=0,02$ ), le deuxième ( $t=9,93$  ;  $p=0,007$ ) et le troisième ( $t=2,01$  ;  $p=0,03$ ) stade larvaire et une durée de développement plus courte sur le quatrième ( $t=-6,64$  ;  $p=0,007$ ) et le cinquième ( $t=-6,04$  ;  $p=0,06$ ) stade larvaire que les individus provenant de la Maouina (**Fig. 25**).

**Tableau 06. Résultats d'une ANOVA factorielle pour *Sympetrum meridionale* avec l'origine de l'habitat, les stades larvaires comme facteurs indépendants et la durée des stades larvaires comme variables dépendantes.**

Source	df	Mean Square	F	Sig.
Modèle corrigé	11	189,35	41,69	,00
Intercept	1	8449,06	1860,34	,00
Stades larvaires	5	308,66	67,96	,00
Origine de l'habitat	1	13,06	2,87	,09
Stade larvaire * Origine de l'habitat	5	105,30	23,18	,00

R Squared = .90 (Adjusted R Squared = .88)



**Figure 25. Durée de chaque stade larvaire d'élevage de *Sympetrum meridionale* provenant des deux habitats : Valeurs moyennes et Ecart types sont indiqués.**

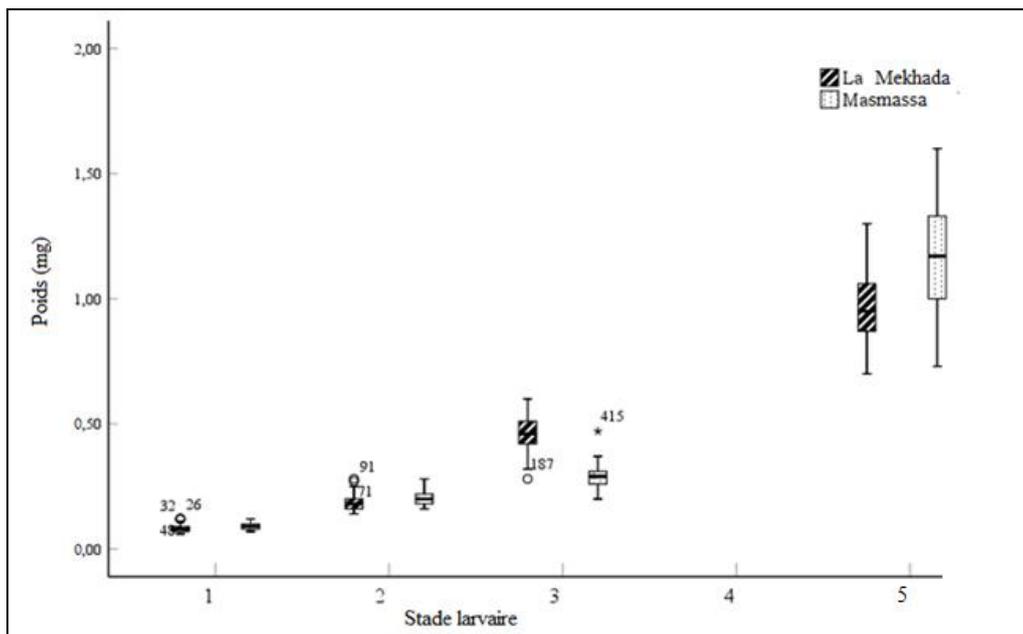
La masse corporelle larvaire de 480 individus (280 individus pour la Mékhada et 200 individus pour la Mouna) a été analysée. L'ANOVA factorielle a indiqué que le stade larvaire et son interaction avec l'origine de l'habitat avaient un effet significatif sur la variation de la masse corporelle larvaire (**Tab. 07**) (**Fig. 26**). Les comparaisons par paires ont montré que la

masse corporelle des larves parmi les populations d'insectes était similaire au premier stade larvaire ( $t = -1,4, p = 0,15$ ) et variait de manière significative lorsque le cycle de vie progressait (2ième stade :  $t = -4,15 ; p < 0,05$ , 3ième stade :  $t = 15,47 ; p < 0,05$ , et 5ième stade :  $t = -6,49, p < 0,05$ ).

**Tableau 07. Résultats d'une ANOVA factorielle pour *Sympetrum meridionale* avec l'origine de l'habitat, les stades larvaires comme facteurs indépendants et la masse corporelle des larves comme variables dépendantes.**

Source	df	Mean Square	F	Sig.
Modèle corrigé	7	9,97	1105,99	,00
Intercept	1	86,76	9621,68	,00
Origine de l'habitat	1	0,02	2,43	,11
Stade larvaires	3	22,75	2522,94	,00
Stade larvaire * Origine de l'habitat	3	0,75	84,11	,00

a. R Squared = .943 (Adjusted R Squared = .942)



**Figure 26. Variation de la masse corporelle larvaire de *Sympetrum meridionale* au cours de l'élevage**

### 3.2. Composition biochimique des larves

Les résultats de l'étude comparative de l'évolution des teneurs en constituants biochimiques (protéines, lipides et glucides) du *Sympétrum meridionale* entre deux habitats différents, le marais de la Mékhada et la mare temporaire de la Maouna, et entre les différents stades larvaires sont représentés ci dessous :

#### 3.2.1. Taux des protéines corporels

Une augmentation significative des taux des protéines entre les différents stades larvaire étudiés a été observée (Anova a un facteur :  $df=2$  ;  $F=123,32$  ;  $p< 0,001$ ). La quantité la plus élevée (1,79  $\mu\text{g}$ ) a été enregistré au niveau du stade larvaire numéro 5 pour la Mékhada (**Fig. 27**). Alors que entre les deux types d'habitat aucune différence significative n'a été enregistré, c'est-à-dire que le taux de protéines évolue de la même manière pour les deux populations du Lac Mékhada et celles de la maire temporaire de Maouna (T-test :  $df=124$  ;  $t= -0,18$  ;  $p=0,85$ ).

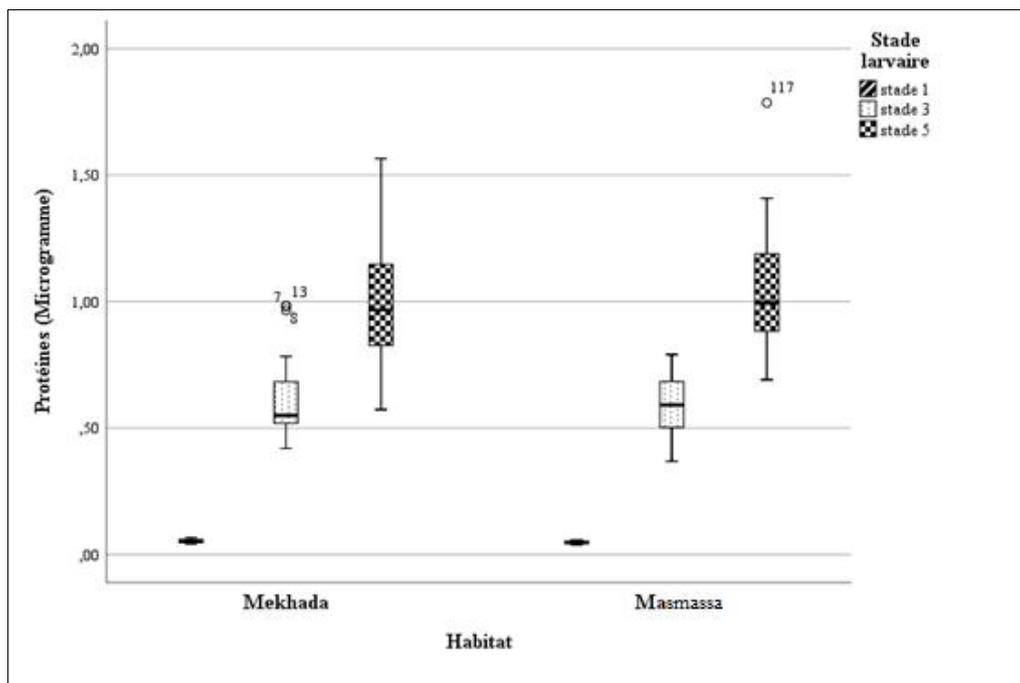


Figure 27. Evolution des teneurs en protéines durant les stades larvaire au niveau des deux habitats

### 3.2.2. Taux des lipides totaux corporels

Une différence significative entre les différents stades larvaires de cette espèce et le taux augmente avec l'évolution des stades (Anova à un facteur :  $df=2$  ;  $F=132,34$  ;  $p < 0,001$ ). Entre les deux sites le taux des lipides évolue de la même manière (T-test :  $df=124$  ;  $t= -1.05$  ;  $p=0.29$ ) (Fig. 28).

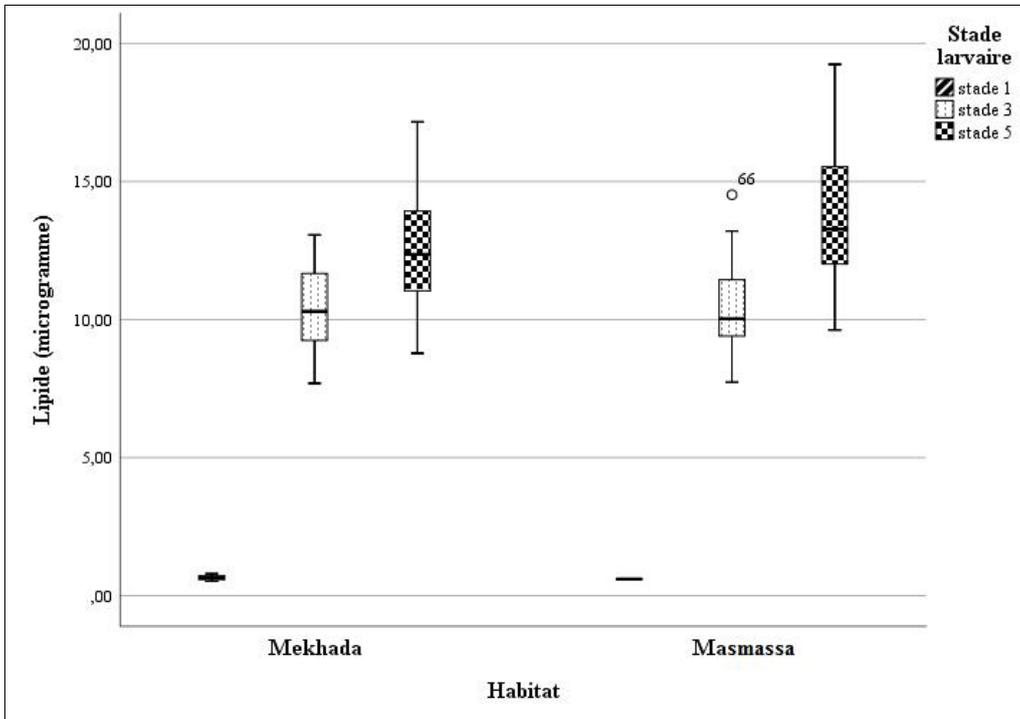


Figure 28. Evolution des teneurs en lipides durant les cycles larvaires au niveau des deux habitats

### 3.2.3. Taux des glucides totaux corporels

Les teneurs en glucides enregistrées augmentent au cours de l'évolution larvaire du *Sympetrum meridionale* (Fig.29), la différence est significative entre les stades (Anova à un facteur :  $df=2$  ;  $F=68,17$  ;  $p < 0,001$ ). Les maxima ( $3,81 \mu\text{g}$  pour la Mékhada et  $3 \mu\text{g}$  pour Maouna) sont enregistrés durant le cinquième stade. Entre les deux types d'habitat (la Mékhada et la Maouna) aucune différence significative des taux des glucides n'est enregistrée dans les différents stades larvaires de cette insecte (T-test :  $df=124$  ;  $t= 0,6$  ;  $p=0.53$ ) (Fig. 29).

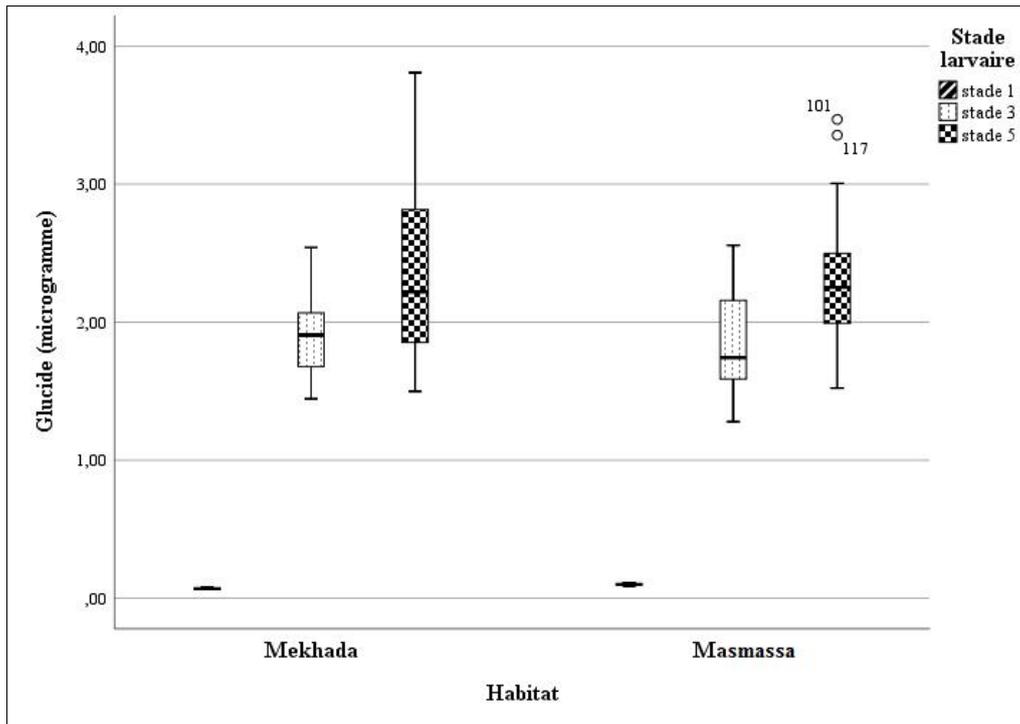


Figure 29. Evolution des teneurs en glucides durant les cycles larvaire au niveau des deux habitats

### 3.3. Caractérisation des effets du spiroadiclofen

#### 3.3.1. Effet du spiroadiclofen sur le taux de mortalité

Les effets du spiroadiclofen ont été testés par exposition des larves de *Sympetrum meridionale* à différentes concentrations (0.05-0.12-0.24-0.6-1.5-12  $\mu\text{g/l}$ ). La mortalité observée chez les larves est mentionnée dans le tableau (Tab.08) avec des taux variant de 3.33% à 20%. Pour les faibles concentrations aucune augmentation du taux de mortalité n'est observée par rapport au témoin.

Tableau 8. Effet du spiroadiclofen ( $\mu\text{g/l}$ ) appliqué sur les larves de *Sympetrum meridionale* sur le taux de mortalité observée (moyenne  $\pm$  SEM, n=3 répétitions comportant chacune 10 individus)

		Concentrations ( $\mu\text{g/l}$ )						
Répétitions	Témoin	0.05	0.12	0.24	0.6	1.5	12	
1	0	0	0	10	0	10	20	
2	10	10	10	10	10	10	30	
3	0	0	0	0	10	20	10	
m+SEM	3,33 $\pm$ 3,33	3,33 $\pm$ 3,33	3,33 $\pm$ 3,33	6,66 $\pm$ 3,33	6,66 $\pm$ 3,33	13,33 $\pm$ 3,33	20 $\pm$ 5,77	

Les pourcentages de mortalités observés chez les larves traitées ont été ensuite corrigés par la formule d'Abbott (1925) afin de soustraire la mortalité naturelle (Tab.09).

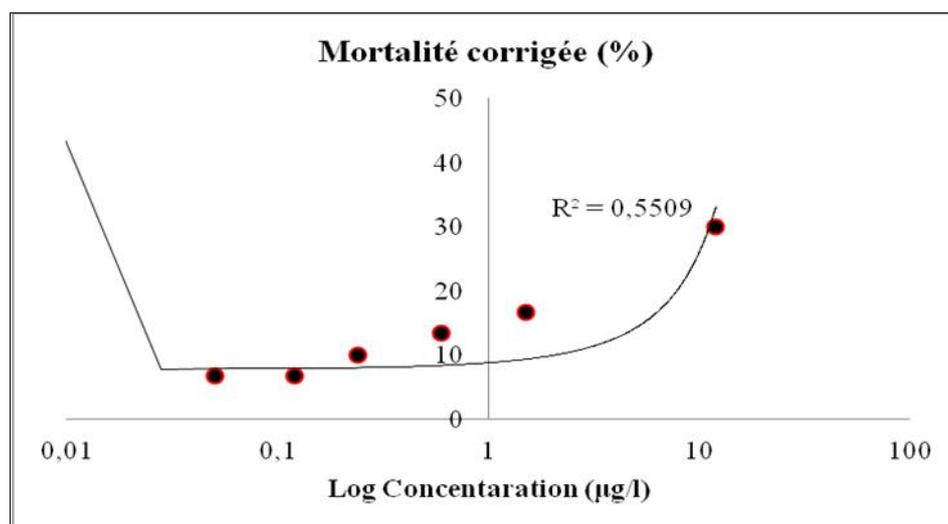
**Tableau 09. Effet du spirodiclofen ( $\mu\text{g/l}$ ) appliqué sur les larves de *Sympetrum meridionale*, sur le taux de mortalité corrigée (moyenne  $\pm$  SEM, n=3 répétitions comportant chacune 10 individus).**

	Concentrations ( $\mu\text{g/l}$ )					
Répétitions	0.05	0.12	0.24	0.6	1.5	12
1	0	0	10	0	10	20
2	11,11	11,11	11,11	11,11	11,11	33,33
3	0	0	0	10	20	10
m + SEM	<b>3,7+3,7</b>	<b>3,7+3,7</b>	<b>7,04+3,53</b>	<b>7,04+3,53</b>	<b>13,7+3,16</b>	<b>21,11+6,75</b>

La courbe dose-réponse exprimant les pourcentages de mortalité en fonction du logarithme des concentrations appliquées (**Fig.30**) a permis l'estimation des valeurs des différentes concentrations létales (CL) ainsi que leurs intervalles de confiance (**Tab.10**).

**Tableau 10. Toxicité du spirodiclofen : Détermination des concentrations létales (CL  $\mu\text{g/l}$ ) avec leur intervalle de confiance (IC).**

CL ( $\mu\text{g}/\mu\text{l}$ )	Valeur	Intervalle de confiance
CL10	0,24	0,1-0,8
CL25	6,01	1,61-7,79
CL50	207,91	18,44-1972,02



**Figure 30. Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme de la concentration de spirodiclofen ( $\mu\text{g/l}$ ).**

### 3.3.2. Effet du spirodiclofen sur le taux des lipides et les protéines corporels

Aucun effet significatif n'a été enregistré concernant les teneurs en lipides (Tab.11) (df=6 ; F=0,566 ; p=0,75) (Fig .31) et les teneurs en protéines (df=6 ;F=0.77 ;p=0.6)(Fig.32).

Tableau 11. Résultat de l'analyse de la variance à un critère de classification

ANOVA à un critère de classification			
	Df	F	Sig.
Lipide	6	0.566	0.751
Protéine	6	0.77	0.6
MDA	6	3.09	<b>0.03</b>

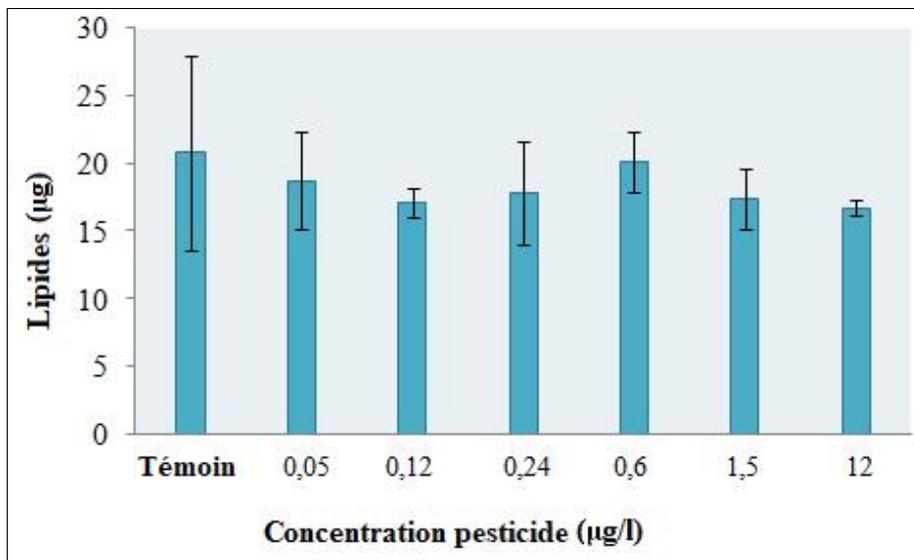


Figure 31. Taux des lipides totaux corporels (µg/mg de tissu) des larves de *Sympetrum meridionale* après exposition à différentes concentrations du pesticide.

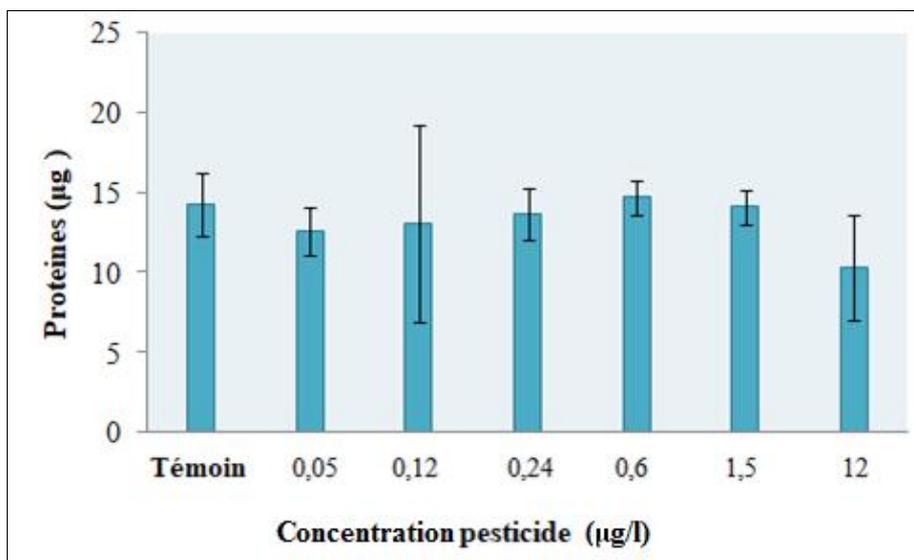
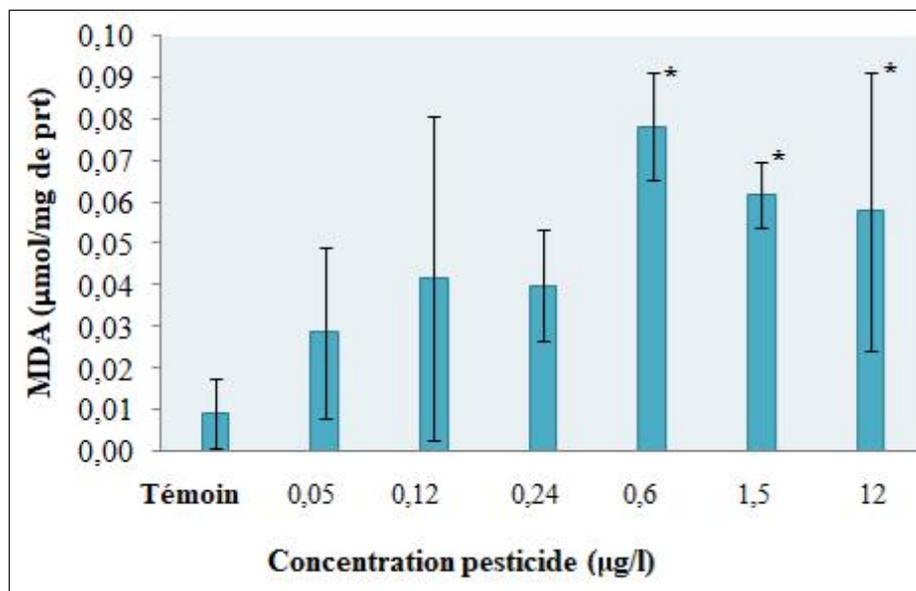


Figure 32. Taux des protéines totaux corporels (µg/mg de tissu) des larves de *Sympetrum meridionale* après exposition a différentes concentrations du pesticide.

### 3.3.3. Effet du spiroadiclofen sur le taux de malondialdéhyde (MDA)

Les taux de malondialdéhyde (MDA) ont été déterminés chez les larves au stade finale selon la méthode de **Draper & Hadley (1990)**. Les résultats sont représentés dans la **figure 33**. L'exposition des larves de *Sympetrum méridionale* au pesticide affecte significativement le taux de MDA (df=6 ; F=3.09 ; p=0.03) (**Fig. 33**).



**Figure 33.** Effet du spiroadiclofen sur le taux de MDA ( $\mu\text{M}/\text{mg}$  de protéines) des larves de *Sympetrum méridionale* après une exposition à différentes concentrations du pesticide.

### 3.4. Analyses bactériologiques

#### 3.4.1. Analyses bactériologiques des eaux

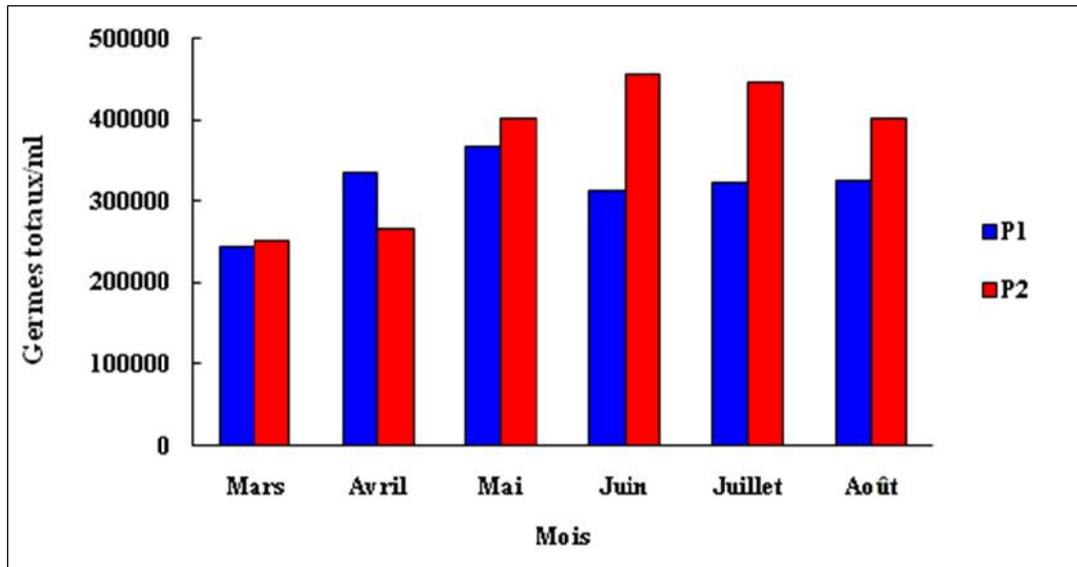
##### 3.4.1.1. Résultats des dénombrements des microorganismes dans l'eau

Les valeurs de dénombrement sont très élevés pendant toute la période d'étude et montre que l'eau des deux sites d'étude est non potable, et donc impropre à la consommation (**Tab.12**).

**Tableau 12.** Résultats des NPP pour les Germes totaux /ml à 37 °C.

Germes totaux /ml à 37 C°	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août
P1 (S1 : Masmassa)	$245 \times 10^3$	$336 \times 10^3$	$368 \times 10^3$	$312 \times 10^3$	$322 \times 10^3$	$324 \times 10^3$
P2 (S2 : La Mékhada)	$251 \times 10^3$	$266 \times 10^3$	$402 \times 10^3$	$455 \times 10^3$	$447 \times 10^3$	$402 \times 10^3$

Dans les deux points de prélèvements, les germes totaux à 37°C sont très importants, le minimum (245 germes/ml) dénombré au mois de Mars dans le site 1, tandis que le maximum (455 germes/ml) est dénombré au moi de juin dans le site 2 (**Fig. 34**).

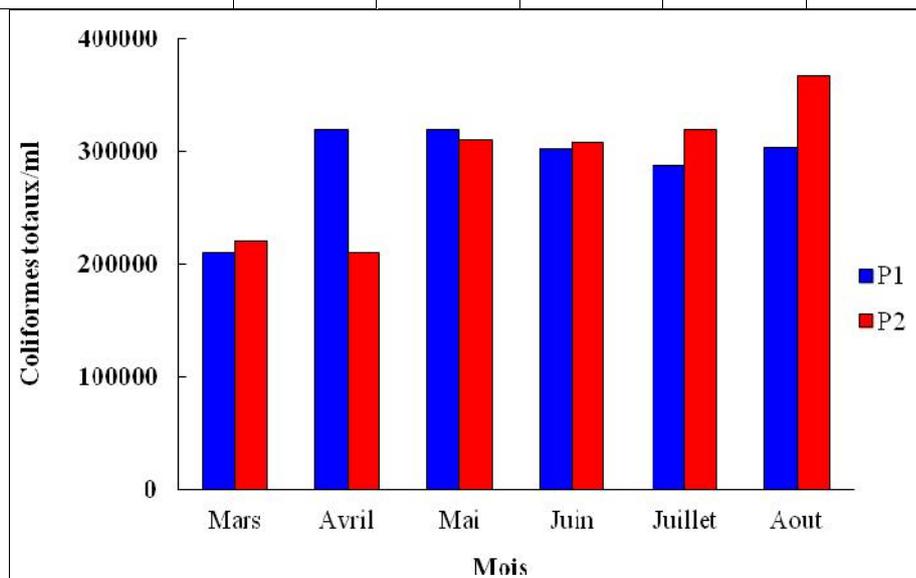


**Figure 34. Variation du nombre des Germes totaux dans les eaux.**

Pour ce qui est coliformes, les dénombrements restent élevés et c'est toujours le site 2 qui renferme les nombres les plus importants (**Tab. 13**) (**Fig. 35**).

**Tableau 13. Résultats des NPP pour les Coliformes Totaux/ml**

Coliformes totaux /ml à 37 C°	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août
<b>P1</b>	210 × 10 <sup>3</sup>	320 × 10 <sup>3</sup>	320 × 10 <sup>3</sup>	302 × 10 <sup>3</sup>	288 × 10 <sup>3</sup>	304 × 10 <sup>3</sup>
<b>P2</b>	220 × 10 <sup>3</sup>	210 × 10 <sup>3</sup>	310 × 10 <sup>3</sup>	308 × 10 <sup>3</sup>	320 × 10 <sup>3</sup>	368 × 10 <sup>3</sup>

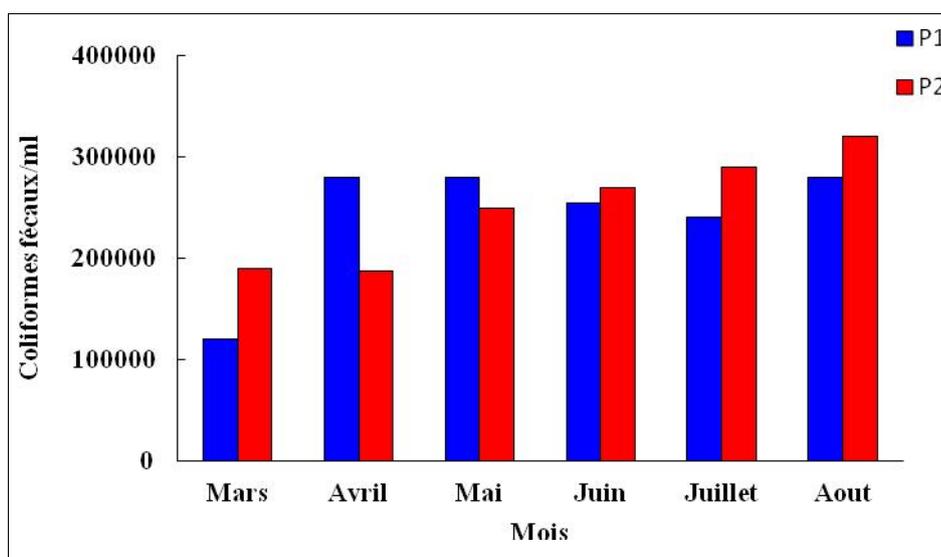


**Figure 35. Evolution des Coliformes totaux dans les eaux.**

Les coliformes fécaux qui indiquent une contamination récente due à la fréquentation du Lac par les animaux, présentent des valeurs inférieures à celle des coliformes totaux, car les coliformes fécaux préfèrent des températures plus élevées (**Tab.14**) (**Fig.36**).

**Tableau 14. Résultats des NPP pour les Coliformes fécaux/ml**

<b>Coliformes Fécaux /ml à 37 C°</b>	<b>Mars</b>	<b>Avril</b>	<b>Mai</b>	<b>Juin</b>	<b>Juillet</b>	<b>Août</b>
<b>P1</b>	120×10 <sup>3</sup>	280 ×10 <sup>3</sup>	280 ×10 <sup>3</sup>	255 ×10 <sup>3</sup>	240 ×10 <sup>3</sup>	280 ×10 <sup>3</sup>
<b>P2</b>	190 ×10 <sup>3</sup>	188 ×10 <sup>3</sup>	250 ×10 <sup>3</sup>	270 ×10 <sup>3</sup>	290 ×10 <sup>3</sup>	320 ×10 <sup>3</sup>

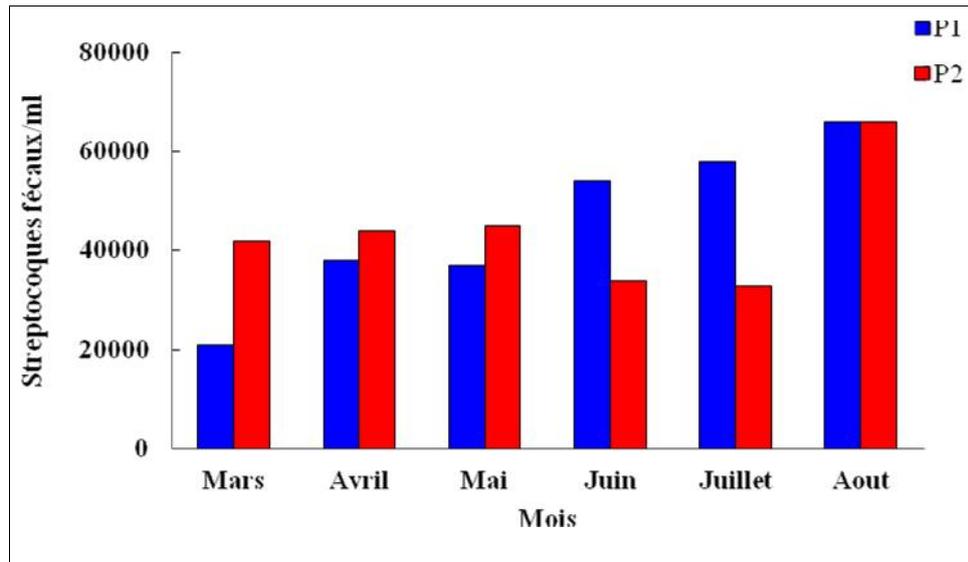


**Figure 36. Evolution des Coliformes fécaux.**

Les streptocoques fécaux ou les entérocoques, ce sont des germes très sensibles aux variations physicochimiques du milieu et ne résistent pas dans l'eau (ils s'adaptent difficilement en dehors de son milieu habituel qui est l'intestin). Mais leur présence est étroitement liée à la quantité et la concentration de la matière fécale dans l'eau. Dans les sites son origine est animale (aviaire). Les deux points présentent des effectifs presque similaires où le maximum est dénombré au mois d'Août (66 germes /ml) (**Tab.15**) (**Fig. 37**).

**Tableau 15. Résultats des NPP pour les Streptocoques fécaux/ml**

<b>Streptocoques fécaux /ml à 37 C°</b>	<b>Mars</b>	<b>Avril</b>	<b>Mai</b>	<b>Juin</b>	<b>Juillet</b>	<b>Août</b>
<b>P1</b>	21×10 <sup>3</sup>	38 ×10 <sup>3</sup>	37 ×10 <sup>3</sup>	54 ×10 <sup>3</sup>	58 ×10 <sup>3</sup>	66 ×10 <sup>3</sup>
<b>P2</b>	42 ×10 <sup>3</sup>	44 ×10 <sup>3</sup>	45 ×10 <sup>3</sup>	34 ×10 <sup>3</sup>	33 ×10 <sup>3</sup>	66 ×10 <sup>3</sup>



**Figure 37. Evolution des Streptocoques fécaux dans les eaux.**

- Pour la recherche et dénombrement des spores de bactéries des anaérobies sulfitoréductrice et de *Clostridium* sulfitoréducteurs, on a noté une présence non significative des colonies.
- La couleur des colonies des clostridies sulfito-réductrices (halo noir) résulte de la réduction du sulfite. La présence de ces colonies n'est pas la preuve absolue d'une contamination fécale ancienne, car les clostridies peuvent aussi avoir une origine tellurique (**Fig. 38**).



**Figure 38. Aspect macroscopique des colonies des Clostridies sulfito-réductrices sur milieu VF.**

### 3.4.2. Identifications des souches bactériennes

#### 3.4.2.1. Caractérisation morphologiques et coloration de Gram

La purification des colonies par le repiquage successive des colonies nous permet de distinguer de différents caractères de toutes les colonies sur leurs milieux d'isolement. Ces données sont résumées dans le (Tab.16).

L'observation microbiologique a montrée une grande part de bâtonnet Gram (-). Les cocci Gram (+) sont faiblement représentés. Des résultats identiques sont présentés dans les deux sites durant toute la période d'étude.

**Tableau 16. Caractères macroscopiques et microscopiques des colonies bactériennes isolées.**

Culture	Observation macroscopique des colonies	Observation microscopique des colonies
TGEA	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Circulaire, lisse, plate, brillante transparente, 2mm de diamètre</li> <li>- Dentelée, lisse, plate, opaque, blanche, 2mm de diamètre</li> <li>- Irrégulière, lisse, plate, jaune 1mm de diamètre</li> <li>- Ponctiforme, lisse, brillante, transparente.</li> <li>- Assez grande, plate, à contour dentelé, blanche légèrement transparente.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bacilles isolés ou en chainettes, Gram négatif.</li> <li>- Cocci isolés, Gram positif.</li> <li>- Bacilles isolés, Gram négatif.</li> <li>- Bacilles isolés, Gram négatif.</li> <li>- Bacilles isolés, ou en chainette, Gram négatif.</li> </ul>
Mac Conkey	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Rose élevée, lisse brillante, circulaire, 1mm à 2 mm de diamètre</li> <li>- Bombée à contour irrégulier, d'aspect rigoux, et de couleur blanchâtre.</li> <li>- Rose, clair, bombée, lisse, brillante, circulaire, 1mm de diamètre.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Bacilles isolés, Gram négatif.</li> </ul>
Chapman	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Petite, opaque, lisse, bombée, à contour régulier, pulvérulente, de couleur blanche.</li> <li>- Bombée, lisse, à contour régulier, jaunâtre avec virage de la couleur du milieu entourant les colonies au jaune brillant</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Cocci groupés en grappe de raisin, Gram positif.</li> </ul>
Milieu VF	Colonies avec halo noire	Bacilles isolés, Gram positif

### 3.4.2.2. Résultats d'identification biochimique

Ce type d'identification a été appliqué sur des germes (Lac+) isolés sur Mac Conkey et présentant des formes bacillaire, Gram (-) et qui sont suspectés d'être pathogènes (**Tab. 17**).

L'identification biochimique a permis de détecter la présence des bactéries suivantes :

**Tableau 17. Résultat d'identification biochimique des espèces isolées à partir des eaux**

	<b>P1</b>	<b>P2</b>
<b>Mars</b>	<i>E. coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Providencia sp.</i> , <i>Erwinia sp.</i> , <i>Staphylococcus : aureus et saprofiticus</i>	<i>E. coli</i> , <i>Serratia marcesans</i> , <i>Pseudomona fluoresence</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Hydrogenomonas sp.</i> ,
<b>Avril</b>	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella : oxytoca et Pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas : auruginosa et fluoresence</i> , <i>Proteus : mirabilis et vulgaris</i> , <i>Staphylococcus : aureus et epidermidis</i> ,	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas fluoresence</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>
<b>Mai</b>	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Pseudomonas : auruginosa et fluoresence</i> , <i>Proteus vulgaris</i> , <i>Morganella morgani</i> , <i>Staphylococcus : aureus et epidermidis</i> ,	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella : oxytoca et pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas: auruginosa et fluoresence</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Staphylococcus saprofiticus</i>
<b>Juin</b>	<i>E. coli</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Pseudomonas auruginosa</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Morganella morgani</i> , <i>Staphylococcus : aureus et saprofiticus</i>	<i>E. coli</i> , <i>E. edwardsi</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>Pseudomonas auruginosa</i> , <i>Proteus : mirabilis et vulgaris</i> , <i>Staphylococcus : aureus et epidermidis</i>
<b>Juillet</b>	<i>E. coli</i> , <i>Enterobacter : cloacae et aglomerans</i> , <i>Klebsiella oxytoca</i> , <i>P. vulgaris</i> , <i>Providencia sp.</i> , <i>Morganella morgani</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>E. coli</i> , <i>Enterobacter : cloacae et aglomerans</i> , <i>Pseudomonas fluoresence</i> , <i>Proteus : mirabilis et vulgaris</i> , <i>Providencia sp.</i> , <i>Staphylococcus : aureus et saprofiticus</i>
<b>Août</b>	<i>E. coli</i> , <i>E Klebsiella oxytoca</i> , <i>Pseudomonas auruginosa</i> , <i>Proteus: mirabilis et vulgaris</i> , <i>Morganella morgani</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> ,	<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella : pneumoniae et oxytoca</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Staphylococcus : aureus et epidermidis</i> , <i>Hydrogenomonas sp.</i> ,

### 3.4.3. Analyse du microbiome intestinale de *sympetrum meridionale*

La présence d'un microbiome intestinal peut apporter de multiples bienfaits à l'insecte hôte. La contribution du microbiome à la digestion est le premier avantage qui vient à l'esprit.

Au-delà de l'identification des microorganismes présents dans l'échantillon étudié pour chaque site d'étude, il est intéressant d'évaluer à quel point ces microbiomes sont proches, et comment les populations bactériennes sont réparties dans les deux groupes de l'étude (Lac Mékhada vs. Masmassa).

#### 3.4.3.1. Mesures de la similarité [*Indice de similarité de Jaccard (Jaccard index)*]

Définit la similitude comme étant l'importance de remplacement des espèces ou les changements biotiques à travers les gradients environnementaux. Il permet une comparaison entre deux sites, car il évalue la ressemblance entre deux relevés en faisant le rapport entre les espèces communes aux deux relevés et celles propres à chaque relevé. Il a pour formule :

$$I = N_c / (N_1 + N_2 - N_c)$$

$N_c$  : nombre de taxons commun aux stations 1 et 2

$N_1$  et  $N_2$  : nombre de taxons présents respectivement aux stations 1 et 2 (Elafri et al., 2020). Cet indice  $I$  varie de 0 à 1 et ne tient compte que des associations positives

$$I = 10 / (24 + 25 - 10) = 0.25$$

Dans ce cas, l'indice diminue (0,25), seul un faible nombre d'espèces est présent sur les deux habitats. Ainsi, les espèces pour les deux habitats comparés sont totalement différentes indiquant que les différentes conditions de l'habitat déterminent un turn-over des espèces importantes. Évoquant ainsi que la biodiversité inter habitat est forte.

Nous avons identifié 24 et 25 taxons successivement au niveau des microbiomes intestinaux de l'espèce des sites 1 et le site 2 (Annexe 1 et 2). Ce qui reflète la diversité remarquable de ces deux microbiomes, un tel résultat est confirmé par l'indice de Jaccard  **$I=0.25$** .

---

# **Discussion**

---

## 4. Discussion

### 4.1. Suivi des paramètres de développement

L'élevage au laboratoire pour *Sympetrum meridionale* provenant de deux populations écologiques habitant deux méso-habitats différents du nord-est de l'Algérie a été réalisé. La première est une zone humide Ramsar (le marais de la Mékhada) située près de la mer Méditerranée (à 10 m d'altitude) dominée par climat humide, et la seconde est une marre temporaire située dans la Maouna (1400 m d'altitude) caractérisée par un climat subhumide. Les deux populations d'insectes sont soumises aux mêmes conditions d'élevage, c'est pourquoi la variabilité dans les traits de développement et le cycle de vie observée dans cette étude est principalement liée à la variation des traits héréditaires entre les deux populations. Cette contribution de la génétique sur le phénotype des individus est amplement démontrée par les chercheurs scientifiques (**Schenk et al., 2004 ; Hassall et al., 2008**), et de nombreuses études en laboratoire, semi-naturelles et naturelles ont confirmé le grand rôle de la diversité génétique dans l'augmentation de la fitness des individus (**Jeffrey et al., 2010**).

Nos larves d'insectes sont issues de femelles appartenant à deux types d'habitats avec des caractéristiques géographiques différentes. Les habitats des deux populations diffèrent sur plusieurs aspects tels que le climat, la disponibilité des ressources, les agents pathogènes ou la présence d'autres espèces concurrentes, ce qui entraîne des adaptations locales, et donc des tactiques de développement différentes peuvent évoluer dans les deux populations de *Sympetrum meridionale*, ce phénomène est connu sous le nom de plasticité phénotypique (**Schradin, 2012**). Ce phénomène est non réversible (**Piersma et al., 2003**), donc fondamentalement, les caractères nouvellement acquis passent à travers les générations, et les descendants héritent des traits de leurs ancêtres. En d'autres termes, le phénotype d'une progéniture dépend de son phénotype paternel et maternel, (héritage génétique ou non génétique) (**Kirkpatrick et al., 1989 ; Mousseau et al., 1998 ; Luquet et al., 2016**).

Par conséquent, nos observations de laboratoire sur le développement des populations de *Sympetrum méridionale* pourraient révéler des informations importantes pour documenter la présence des effets de la diversité génétique sur la viabilité des populations et le potentiel évolutif d'une espèce pour répondre aux changements environnementaux. Une telle variabilité nous a offert une occasion

idéale de tester les variations phénotypiques qui peuvent être des indicateurs utiles des réponses de l'espèce aux contraintes écologiques dans un pays qui connaît déjà un stress de sécheresse sévère et qui a également été soumis à une urbanisation incontrôlée et à un taux de déforestation élevé. Les schémas de développement des deux populations de libellules varient en fonction du type d'habitat occupé par la génération parentale de l'espèce. De plus, nous avons constaté que cette variabilité dépend de l'âge larvaire des individus. Ceci est en grande partie dû au fait que les caractéristiques physiologiques des individus peuvent varier en fonction de nombreux facteurs tels que l'âge des animaux (**Childs et al., 2016**). La mortalité des œufs était très variable dans la population de libellules habitant la zone humide RAMSAR par rapport à celle de la montagne de Maouna. De plus, les différences d'infertilité et de non-éclosion entre les populations sont les deux causes possibles. Le succès d'éclosion est un indicateur précis et constitue un moyen efficace pour comprendre la condition physique et le cycle de vie des odonates (**Howard, 1979, Bennett et al., 1995 ; Anholt, 2008**). Les différences environnementales entre les habitats peuvent amplifier les différences dans les conditions physiques entre individus (**Kelly et al., 2013**).

Jusqu'à récemment, le "marais de la Mekhada" était une zone humide pérenne ayant le statut de conservation Ramsar depuis 1999 et abritant une étonnante diversité de végétation (environ 200 espèces), d'oiseaux, et considérée comme un habitat de reproduction approprié pour une large gamme d'insectes tels que les Odonates (**Halassi et al., 2016**). D'autre part, l'étang de la Maouna était une zone humide temporaire qui a connu des conditions très imprévisibles et les organismes comme les libellules qui se reproduisent dans de telles circonstances d'habitats (habitats inadaptés) devraient avoir une plus faible fitness (**Kelly et al., 2013**).

Le deuxième point de divergence entre les deux populations est la durée du développement. Les larves provenant de femelles habitant le marais de la Mekhada se développent plus lentement que celles provenant de la marre temporaire. En accord avec les études précédentes sur les libellules (**Hodgkin et al., 1958**) dans les régions arides tropicales et subtropicales, **Kumar (1976)** en Inde, et **Suhling et al (2004)** dans les régions arides africaines ont révélé que les espèces qui se reproduisent dans ces eaux temporaires présentent une croissance larvaire rapide. Cette réduction du temps

de développement est probablement la caractéristique clé qui permet aux odonates de réussir dans ces habitats imprévisibles (**Suhling et al., 2005**).

Dans le même sens, la masse corporelle différait significativement entre les deux populations ; les larves de *Sympetrum meridionale* provenant des femelles habitant l'étang de la Maouna (marre temporaire) ont une masse corporelle plus importante que celles habitant le "marais de la Mekhada" (zone humide pérenne). Indicateur précis du taux de croissance, la masse corporelle est un trait phénotypique largement utilisé dans les études sur la performance de la fertilité des femelles et du succès d'accouplement des mâles (**Minot et al., 2019**). Elle est influencée par l'efficacité de l'alimentation et la capacité de consommation des proies, c'est-à-dire la quantité de nourriture ingérée par période de temps (**Arendt, 1997**). Une forte activité de recherche de nourriture augmente la rencontre avec les proies et entraîne une plus grande consommation de nourriture (**Wissinger et al., 1999**), ce qui conduit à une croissance (masse corporelle) et un taux de développement plus élevés. Ce fait a été identifié précédemment comme étant particulièrement important pour les espèces vivant dans des eaux temporaires (**Johansson et al., 2004 ; Suhling et al., 2005**), ce qui est en accord avec nos résultats.

Le but de notre expérience d'élevage n'est pas d'étudier le mécanisme exact influençant le succès d'éclosion, la durée de vie, la mortalité et les différences de taux de croissance, mais plutôt de mettre en évidence le rôle de l'habitat parental de l'espèce (eaux temporaires ou pérennes) dans le comportement de développement de sa progéniture. Malgré cela, cette expérience était très courte et n'a été réalisée que sur des larves de stades très précoces. On pense cependant que ces résultats peuvent être utilisés pour prédire les réponses de l'espèce aux contraintes écologiques dans les populations de *Sympetrum meridionale* dans la partie sud de leur aire de reproduction. Selon **Garcia et al (2001)**, les différents facteurs environnementaux influençant les cycles de vie peuvent atteindre leurs valeurs extrêmes à la limite sud de la zone de reproduction de l'espèce, les études sur les populations nord-africaines de cette libellule sont donc très intéressantes.

Nos résultats permettent d'avoir un aperçu préliminaire sur l'interaction entre le développement et l'origine de l'habitat des populations de *Sympetrum meridionale* dans leur aire de reproduction méridionale (Afrique du Nord). Deux points de

divergence majeurs ont été observés entre les deux populations : premièrement, les espèces des eaux pérennes ont un fitness plus faible que les espèces des eaux temporaires, et deuxièmement, ces derniers présentent un taux de croissance (masse corporelle) plus élevé et un temps de développement plus rapide que les espèces des eaux permanentes. Bien que les comportements différents des deux groupes d'espèces que nous avons examinés soient déterminés par des différences dans les traits hérités de leurs ancêtres, la variation du cycle de vie au sein d'une même espèce peut être liée à d'autres facteurs (**Waringer et al., 1984**). Des études comparatives sur ce sujet devraient inclure plus d'espèces d'odonates appartenant à plusieurs catégories d'habitats et avec plusieurs traits de cycle de vie pendant plus de saisons de reproduction sont nécessaires pour déchiffrer les mécanismes qui sont responsables des effets de transfert entre l'origine de l'habitat et le développement.

#### 4.2. Comparaison des compositions biochimiques des larves

Les compositions biochimiques des insectes varient entre les différents ordres ainsi qu'entre les différentes espèces d'un même ordre, et même au sein d'une même espèce et pour des stades de développement équivalents, on observe également des teneurs variables. Ces différences s'expliquent par l'influence de facteurs tels que l'habitat, le régime alimentaire et le climat. Ces paramètres sont propres à chaque espèce. De plus, les larves sont beaucoup plus riches en nutriments que les adultes, ce qui s'explique par le fait que la larve fait des réserves pour se préparer au prochain stade (**Lavalette, 2013**). Pour ce qui est de la composition lipidique des insectes, la teneur totale en lipides d'un insecte peut aller de 1% à >50% du poids total (**Gilbert et al., 1974**). Le stockage de l'énergie est un autre rôle important des lipides. Les lipides peuvent fournir aux arthropodes l'énergie nécessaire à de nombreuses activités biologiques (par exemple, la locomotion et la reproduction). Bien que les sources d'énergie primaires qui alimentent l'activité des arthropodes varient, et peuvent inclure des protéines et des glucides (**Beenackers et al., 1985 ; O'Brien, 1999**), les lipides sont un carburant dense en énergie et rapidement mobilisable (**Canavoso et al., 2001**). Le taux lipidique est souvent plus important dans les larves et les nymphes que dans les insectes adultes (**Chen et al., 2009**). Dans la présente étude où la teneur en lipides est plus importante que des autres composants. Ceci est dû au fait que l'allocation larvaire des ressources pour le stockage, la croissance et la reproduction

peut être différente de l'allocation des adultes aux mêmes facteurs, aussi les coûts métaboliques peuvent varier en fonction de l'âge de l'insecte (**Greenlee et al., 2004**). Les insectes holométaboles et les arachnides présentent le schéma prédit selon lequel les animaux au stade précoce investissent davantage dans les réserves lipidiques que les adultes. Si elles sont maintenues jusqu'à la maturité, ces réserves d'énergie pourraient compenser une partie où la totalité de l'énergie requise pour les stades de vie adultes chez certaines espèces comme les odonates (**Lease, 2010**).

#### **4.3. Caractérisation des effets du spiroadiclofen sur le taux des lipides totaux et le taux de malondialdéhyde (MDA)**

La biodiversité dans les environnements d'eau douce est en déclin, cela est dû en partie à l'utilisation croissante de pesticides, qui sont maintenant détectés dans les eaux de surface au niveau mondial (**Kunze, 2017**). En plus d'avoir un impact négatif sur les populations des espèces nuisibles ciblées, il a été démontré que les pesticides réduisent également la performance des espèces non ciblées (**Relyea, 2005**). Toutefois, il est important de quantifier les effets sublétaux qui peuvent fournir des alertes précoces et entraîner des effets écologiquement pertinents, même en l'absence d'effets létaux directs des pesticides (**Relyea, 2006**). Par conséquent, les autorités compétentes ont instauré des systèmes complexes d'homologation; des organismes de suivi et de contrôle ont établi des conditions préalables avant toute mise sur le marché d'un nouveau produit. Ces programmes furent lancés pour le suivi des résidus de pesticides et leur persistance dans l'eau, le sol mais aussi leur bioaccumulation le long des chaînes alimentaires (**Dhadialla et al., 2005**).

Le spiroadiclofène (nom commercial : Envidor®) est un acaricide sélectif et non systémique de la nouvelle classe chimique des dérivés de l'acide tétronique. Il inhibe l'acétyl-CoA carboxylase (ACCase) et interfère avec la biosynthèse des lipides chez les insectes et les acariens (**Bretschneider et al., 2012**).

Son utilisation en tant qu'insecticide entraînera sa libération directe dans l'environnement. S'il est rejeté dans l'air, une pression de vapeur de  $5,29 \times 10^{-9}$  mm Hg à 20 °C indique que le spiroadiclofène existera uniquement dans la phase particulaire dans l'atmosphère. Le spiroadiclofène en phase particulaire sera éliminé de l'atmosphère par dépôt humide ou sec (**Bidleman, 1988**). S'il est rejeté dans le sol, le

spirodiclofène et ses métabolites sont rapidement dégradés dans le sol. De plus, s'il est rejeté dans l'eau, il devrait s'adsorber aux solides en suspension et aux sédiments. La demi-vie aquatique aérobie varie de 1 à 7 jours, ce qui suggère que la biodégradation est un processus important du devenir environnemental (**Swann et al., 2010 ; Macbean, 2010 ; lyman et al., 1990**).

Dans les études expérimentales réalisées avec le spirodiclofène sur les organismes aquatiques, aucun effet n'a été observé à la concentration d'essai la plus élevée, et la concentration d'essai a été limitée par la faible solubilité de la substance (avec un max de 0.05mg/l) (**Merete Dæhli et al., 2011**).

Notre étude sur le spirodiclofen a été réalisée sur les larves de *Sympetrum meridionale*. Ainsi, les paramètres de létalité ont été déterminés et les différentes concentrations sublétales ( $\mu\text{g/l}$ ) sont précisées :  $\text{CL}_{10} = 0.24$  et  $\text{CL}_{25} = 6.01$ . La molécule présente une faible toxicité à l'égard des larves avec une relation dose-réponse significative ( $\text{CL}_{50} = 207.91$ ).

Les lipides sont des sources essentielles d'énergie et de métabolismes et participent à la constitution de différentes parties du corps. Ils sont des molécules importantes dans le système biologique des insectes et ont différents rôles dans la synthèse des phospholipides qui maintiennent les composants de la structure et des fonctions cellulaires et sont considérés comme faisant partie de diverses hormones et servent de sources essentielles d'énergie qui peuvent être mobilisées pour répondre aux demandes énergétiques de l'insecte et pour surmonter le stress physiologique causé par les insecticides (**Klowden, 2007**). Le spirodiclofène diffère des autres acaricides par son mode d'action spécifique. Le composé interfère avec la biosynthèse des lipides, bloquant l'enzyme acétyl-CoA carboxylase qui permet aux acariens de former d'importants acides gras (**Dekeyser, 2005 ; Bretschneider et al., 2007**). Ces résultats ne sont pas confirmés dans nos expériences, chez *Sympetrum meridionale* le spirodiclofen n'affecte pas la teneur en lipides corporels totaux au cours du stade finale larvaire ceci avec une relation dose-réponse. Une analyse plus détaillée des différents lipides pourrait générer des informations plus pertinentes pour élucider le mode d'action du spirodiclofène et le rôle de lipides spécifiques dans ce processus (**Van Pottelberge, 2009**).

La peroxydation lipidique est une conséquence du stress oxydant et aussi un relais pour sa propagation. Le malondialdéhyde (MDA) est sans doute le marqueur le plus connu et celui qui a été le plus utilisé. Il résulte de la dégradation des hydroperoxydes formés au cours de la peroxydation des acides gras polyinsaturés (**Guichardant, 2004**). Le MDA peut interagir avec les acides aminés, les protéines, les phospholipides et l'ADN (**Storey, 1996 ; Stohs et al., 2000**), pour former des biomolécules toxiques, non dégradables par l'organisme et qui s'accumulent avec l'âge (**Leibovitz et al., 1980**).

Le présent travail montre que le spirodiclofen appliqué sur les larves de *Sympetrum meridionale* affecte significativement le taux de MDA (pour les trois concentrations élevées) par rapport aux témoins. Ceci révèle que le spirodiclofen induit un stress oxydatif qui conduit à la peroxydation des lipides. Cependant, la relation entre la teneur en lipides et MDA n'est pas entièrement comprise (**Nacitarhan et al., 1995**).

#### **4.4. Etude bactériologique**

La flore bactérienne concernée par cette étude est la flore totale hétérotrophe, les coliformes totaux et fécaux, les streptocoques totaux et fécaux et les staphylocoques récupérés respectivement sur milieux gélosés (TGEA, Mac Conkey et Chapman).

Dans ce travail, la flore totale récupérée consiste en une variété de bactérie à Gram (-) et à Gram (+). *E. coli* occupe une part importante dont elle existe dans tous les prélèvements effectués, suivie par la présence irrégulière de *Klebsiella* sp et *Enterobacter* sp.

La densité maximale en germes totaux à 37°C est de 455 germes/ml enregistrée au niveau du deuxième site en période estivale. Selon **Beverly et al., (1984)**, la température de 25° C est la température optimale pour une récupération efficace des flores totales hétérotrophes (bactéries Gram- Lac-). Il est à noter que certaines espèces bactériennes cultivent sur une large gamme de température et seront ainsi comptabilisées à 25° C et à 37 ° C.

La différence des numérations entre la flore totale et les coliformes laisse supposer qu'elle correspond essentiellement à la présence de microflore hétérotrophes (bactéries Gram- Lac-) qui constituent normalement la composante majeure de la flore totale, et qui seraient composés d'espèces Gram (+), dont les plus importantes sont les streptocoques et les staphylocoques.

Par contre d'après les normes de l'OMS relatives à la qualité des eaux superficielles, il devrait y avoir une absence absolue des germes pathogènes, et des streptocoques fécaux dans 50 ml d'eau. Les nombres des coliformes tolérés sont 10 et inférieur à 10 par 100 ml pour une eau destinée à la consommation (OMS, 2009). Ainsi nous pouvons déduire que l'eau que nous avons analysée est contaminée.

Cependant, la recherche des coliformes est primordiale du fait qu'un grand nombre d'entre eux vivent en abondance sur les matières fécales des animaux à sang chaud et de ce fait, constituent des indicateurs de la première importance.

Certains coliformes sont ubiquistes et vivent aussi bien dans le tube digestif que dans les milieux extérieurs (eau, sol) tel le cas de *Klebsiella oxytoca* et d'*Enterobacter agglomerans* que nous avons isolé. Par contre, *E.coli* ne peut vivre que dans le seul habitat fécal. La présence de ce dernier dans une eau est la preuve majeure que l'eau a subi une contamination par les matières fécales.

La présence des streptocoques fécaux dans les eaux indique généralement une pollution fécale. La recherche de ce groupe de bactéries dans l'eau constitue un complément justifié à celle des coliformes thermotolérants. Ils ne sont pas aussi ubiquitaires mais toujours présents dans les fèces d'animaux à sang chaud. Comme ils témoignent d'une contamination fécale ancienne et de ce fait ils sont plus fiables que les coliformes.

Nous pouvons ainsi conclure que l'eau étudiées des deux est contaminée principalement par les rejets des riverains ainsi que les différentes espèces animales qui fréquentent régulièrement ce lac pour s'abreuvoir.

Le degré de contamination peut être expliqué par l'importance de ces rejets et des saisons chaudes qui favorisent la multiplication des bactéries. Ce qui rend, le système d'autoépuration délicat.

En ce qui concerne l'analyse de microbiome, les deux sites présentent une intra-diversité remarquable (24 et 25 taxons successivement au niveau des microbiomes intestinaux de l'espèce des sites 1 et le site 2) et une inter-diversité forte, expliquée par l'indice de Jaccard  $I = 0.25$ .

On a noté que les deux microbiomes étaient dominés par des Protobactéries, principalement du genre *Proteus*, *Serratia marcescens* et des Firmicutes principalement les Staphylocoque pour les deux sites étudiés. En outre, le microbiome des Nymphe et des adultes était beaucoup plus riche que les autres stades pour les deux échantillons des deux sites. Nous avons donc conclu que la qualité des eaux influe directement sur les différentes communautés microbiennes dans l'intestin de l'espèce étudié. Ce qui montre vraiment l'impact de l'environnement de l'insecte sur la composition de son microbiome et donc sur les capacités métaboliques de l'insecte (le traitement des nutriments par ces bactéries).

---

# **Conclusion**

---

Les Odonates sont l'un des taxons les mieux adaptés à l'étude de la variabilité des traits selon les gradients environnementaux car ils ont un cycle de vie fascinant, une grande diversité de stratégies de reproduction et sont faciles à élever. Ils pourraient être aussi des indicateurs utiles de la stabilité, de la santé et de l'intégrité des habitats d'eau douce.

Notre étude sur l'espèce *Sympetrum miridionale* est une première contribution sur la compréhension de la biologie et l'écologie de cette espèce dans la limite sud de ses distributions mondiale. L'étude est menée sur des espèces provenant de deux habitats différents du nord-est de l'Algérie. Le premier est une zone humide Ramsar « le marais de la Mekhada » (El-Traf) et la seconde est un étang temporaire situé dans la montagne de la Maouna (Guelma).

Globalement, les modes de développement de ces deux populations de libellules varient en fonction du type d'habitat occupé par la génération parentale de l'espèce habitant la zone humide Ramsar montrant un taux de mortalité larvaire faible, un développement lent et un poids de la population faible par rapport à celles habitant la Maouna.

Cette étude a été aussi envisagée compte tenu de l'intérêt du spirodiclofen et de son mécanisme d'action encore peu connu sur les lipides. Les expérimentations menées, visaient à évaluer l'effet d'une formulation commerciale (ENVIDOR® 240 SC) sur plusieurs paramètres en vue d'approfondir son mode d'action sur les espèces non ciblées.

Les analyse biochimiques ont révélées que le spirdiclofen ne réduit pas la teneur en lipides corporels chez les larves traitées avec une relation dose-réponse non significative. L'ensemble des résultats acquis ont montrés que le spiromesifen n'affecte pas le métabolisme lipidique de *Sympetrum meridionale*, ce qui est différent des résultats des travaux menés sur la drosophile. Par contre, l'évaluation d'un biomarqueur de stress oxydatif le MDA a été envisagée et qui a révélé que le spirodiclofen induit un stress oxydatif qui conduit à la peroxydation des lipides.

Le présent travail visait aussi à établir un premier inventaire des populations bactériennes habitant le tractus gastro-intestinal de ces insectes au cours des différents stades de leur vie. Ces bactéries ont été identifiées et leur abondance relative a été mesurée. Un deuxième objectif consistait à évaluer l'impact de la qualité des eaux sur la composition de leur microbiome. En ce qui concerne le microbiome gastro-intestinal de *Sympetrum meridionale* dans les deux sites nous avons trouvé que le

microbiome était dominé par des Protéobactéries, principalement celles appartenant aux genres *Proteus* et *Serratia* et des Firmicutes principalement les Staphylocoques pour les deux sites étudiés. En outre, le microbiome des Nymphes et des adultes étaient beaucoup plus riches que les autres stades pour les deux échantillons des deux sites. Nous avons donc conclu que la qualité des eaux influe directement sur l'installation des différentes communautés microbiennes dans le tractus gastro-intestinal de l'espèce étudié. Ce qui prouve l'impact direct de l'environnement de l'insecte sur la composition de son microbiome et donc sur les capacités métaboliques de l'insecte surtout sur le traitement des nutriments par ces bactéries.

Ainsi, ces résultats réconfortent considérablement notre compréhension les mécanismes sont responsables des impacts possibles des changements et des variations environnementales des traits d'histoire de vie des libellules dans les rives méridionales de leur aire de distribution.

---

# **Références bibliographiques**

---

## Références bibliographiques

1. Allais, J., Bergerard, J., Etienne, J., & Polonovski, J. (1964). Nature et evolution des lipides au cours de l'embryogenese de *Locusta migratoria migratorioïdes* L. *Journal of Insect Physiology*, 10(5), 753-772. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(64\)90056-3](https://doi.org/10.1016/0022-1910(64)90056-3)
2. Ananthkrishnan, T. N., & Sivaramkrishnan, K. G. (2012). *Dynamics of Insect Behaviour*. Macmillan Publishers.
3. Anholt, B. R. (2008). Fitness landscapes, mortality schedules, and mating systems. *Dragonflies and Damselflies*, 167-174. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199230693.003.0013>
4. Aouissi, A. (2009). Microbiologie et physico-chimie de l'eau des puits et des sources de la région de Guelma (Nord-Est de l'Algérie) .Doctoral dissertation, Université 8 mai 1945 de Guelma.
5. Baker, K. S., & McIntyre, N. E. (2013). Associations Between Size and Fitness of Adult Females in the Model Odonate : *Enallagma civile*(Odonata : Coenagrionidae). *The Southwestern Naturalist*, 58(1), 91-96. <https://doi.org/10.1894/0038-4909-58.1.91>
6. Balzan, M. V. (2012). Associations of Dragonflies (Odonata) to Habitat Variables within the Maltese Islands : A Spatio-Temporal Approach. *Journal of Insect Science*, 12(87), 1-18. <https://doi.org/10.1673/031.012.8701>
7. Beckemeyer, R.J., Hall, J.D. (2007). The entomofauna of the Lower Permian fossil insect beds of Kansas and Oklahoma, USA. *African Invertebrates*. 48(1), 23-39.
8. Bidleman TF(1988). *Environ Sci Technol* 22: 361-367 .
9. Boucenna Nedjwa , (2018) « Biologie et écologie des Aeshnidés (genre *Anax*) dans le bassin versant de la Seybouse ». thèse de Doctorat, sous la direction de Pr HOUHAMDI Moussa, Guelma, Univ 08 Mai 1945, p.110
10. Brahmia, H., Elafri, A., Halassi, I., & Khemis, M. D. E. H. (2021). Local climate conditions impact on breeding performance of house martin (*Delichon urbica*) populations in Algeria. *Biologia*. <https://doi.org/10.2478/s11756-020-00666-w>
11. Bretschneider T., Fischer R., Nauen R. (2007). Inhibitors of lipid synthesis (acetyl-CoA-carboxylase inhibitors). In: Krämer W, Schirmer U (eds) *Modern crop protection compounds*. Wiley, Weinheim, 909–925

12. Bretschneider, T., Fischer, R., & Nauen, R. (2012). Tetroneic Acid Insecticides and Acaricides Inhibiting Acetyl-CoA Carboxylase. *Bioactive Heterocyclic Compound Classes*, 265-278. <https://doi.org/10.1002/9783527664412.ch21>
13. Briegel, H. (1990). Metabolic relationship between female body size, reserves, and fecundity of *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology*, 36(3), 165-172. [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(90\)90118-y](https://doi.org/10.1016/0022-1910(90)90118-y)
14. Bybee R. (2005). Scientific literacy and the environment document préparé pour le Forum PISA de L'OCED sur la science pologne
15. Bybee, S. (2006). Libellule et Demoiselles (Insecta : Ordre des rdonates). *EDIS*, 2006(7). <https://doi.org/10.32473/edis-in647-2005>
16. Canavoso, L.E., Jouni, Z.E., Karnas, K.J. et al. (2001) Fat metabolism in insects. *Annual Reviews of Nutrition*, 21, 23–46.
17. CHEN, X., FENG, Y., & CHEN, Z. (2009). Common edible insects and their utilization in China. *Entomological Research*, 39(5), 299-303. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5967.2009.00237.x>
18. Childs, D. Z., Sheldon, B. C., & Rees, M. (2016). The evolution of labile traits in sex- and age-structured populations. *Journal of Animal Ecology*, 85(2), 329-342. <https://doi.org/10.1111/1365-2656.12483>
19. Collins, N. M., & Thomas, J. A. (1991). *The Conservation of Insects and Their Habitats : insects as indicators*. Amsterdam University Press.
20. CONRAD, K. F., & PRITCHARD, G. (1992). An ecological classification of odonate mating systems : the relative influence of natural, inter- and intra-sexual selection on males. *Biological Journal of the Linnean Society*, 45(3), 255-269. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8312.1992.tb00643.x>
21. Corbet, P. S. (1963). *A Biology of Dragonflies* (First Edition). Quadrangle Books, Chicago.
22. Corbet, P. S. (1980). Biology of Odonata. *Annual Review of Entomology*, 25(1), 189-217. <https://doi.org/10.1146/annurev.en.25.010180.001201>
23. Corbet, P. S. (1999). *Dragonflies : Behaviour and Ecology of Odonata*. Harley Books.
24. Cyril Berquier (2015). Etude écologique et patrimoniale du peuplement des odonates de Corse appliquée à la conservation des espèces et des zones humides à enjeux. *Ecologie, Environnement*. Université Pascal Paoli., Français, p.202.

25. D. (1970). *Ecologie microbienne du sol*. Elsevier-masson.
26. Dekeyser, M. A. (2005). Acaricide mode of action. *Pest Management Science*, 61(2), 103-110. <https://doi.org/10.1002/ps.994>
27. Del-Claro, K., & Guillermo, R. (2019). *Aquatic Insects : Behavior and Ecology* (1st ed. 2019 éd.). Springer.
28. Dhadialla, T., Retnakaran, A., & Smagghe, G. (2005). Insect Growth- and Development-Disrupting Insecticides. *Comprehensive Molecular Insect Science*, 55-115. <https://doi.org/10.1016/b0-44-451924-6/00076-4>
29. Dijkstra, K.-D. B. & Lewington, R. (2007). Guide des Libellules de France et d'Europe. Delachaux & Niestle.1-320.
30. Domanget J.L. D'Aguilar J. (1985). Guide des libellules d'Europe et d'Afrique du Nord: les guides du naturaliste, p.461
31. Domanget/Aguilar. (1998). *Guide des libellules d'Europe et d'Afrique du Nord*. Delachaux & Niestle.
32. Dupont., P. coord. (2010). Plan national d'actions en faveur des Odonates. Office pour les insectes et leur environnement / Société Française d'Odonatologie. Ministère de l'Écologie, de l'Énergie, du Développement durable et de la Mer, p.170
33. Durand, J. R., & Lévêque, C. (1980a). *Flore et faune aquatiques de l'Afrique sahélo-soudanienne*. O.R.S.T.O.M.
34. Durand, J. R., & Lévêque, C. (1980b). *Flore et faune aquatiques de l'Afrique sahélo-soudanienne*. Editions de l'Office de la recherche scientifique et technique outre-mer.
35. Edelaar, P., Jovani, R., & Gomez-Mestre, I. (2017). Should I Change or Should I Go ? Phenotypic Plasticity and Matching Habitat Choice in the Adaptation to Environmental Heterogeneity. *The American Naturalist*, 190(4), 506-520. <https://doi.org/10.1086/693345>
36. Elafri, A., Boumaaza, O., Khemis, M. D. E. H., Boucherit, K., & Houhamdi, M. (2020). Population Dynamics and Distribution Patterns of Diurnal Raptors in Northeastern Algeria : Seasonal Variation and Some Nesting Characteristics. *Ekológia (Bratislava)*, 39(1), 58-71. <https://doi.org/10.2478/eko-2020-0005>
37. Engel, P., & Moran, N. A. (2013). The gut microbiota of insects – diversity in structure and function. *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 699-735. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12025>.

38. Eymard S. (2003). Mise en évidence et suivi de l'oxydation des lipides au cours de la conservation et de la transformation du chinchard (*Trachurus trachurus*) : choix des procédés. Thèse de doctorat en biochimie . UNIVERSITE DE NANTES. 217p.
39. Falletti O. (2007). Les adduits des produits de la peroxydation lipidique sur les bases de l'ADN comme biomarqueurs du stress oxydant. These de doctorat. En Chimie et Sciences du Vivant UNIVERSITE JOSEPH FOURIER-GRENOBLE I. 254p.
40. Finotello, S., Feckler, A., Bundschuh, M., & Johansson, F. (2017). Repeated pulse exposures to lambda-cyhalothrin affect the behavior, physiology, and survival of the damselfly larvae *Ischnura graellsii* (Insecta ; Odonata). *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 144, 107-114. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.06.014>
41. Fisher-Wellman, K., & Bloomer, R. J. (2009). Acute exercise and oxidative stress : a 30 year history. *Dynamic Medicine*, 8(1). <https://doi.org/10.1186/1476-5918-8-1>
42. Fodor, A. A., Klem, E. R., Gilpin, D. F., Elborn, J. S., Boucher, R. C., Tunney, M. M., & Wolfgang, M. C. (2012). The Adult Cystic Fibrosis Airway Microbiota Is Stable over Time and Infection Type, and Highly Resilient to Antibiotic Treatment of Exacerbations. *PLoS ONE*, 7(9), e45001. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045001>
43. Gagné, F., Pardos, M., & Blaise, C. (1999). Estrogenic Effects of Organic Environmental Extracts with the Trout Hepatocyte Vitellogenin Assay. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 62(6), 723-730. <https://doi.org/10.1007/s001289900933>.
44. Garcia, J. T., & Arroyo, B. E. (2001). Effect of abiotic factors on reproduction in the centre and periphery of breeding ranges : a comparative analysis in sympatric harriers. *Ecography*, 24(4), 393-402. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0587.2001.d01-195.x>
45. Gilbert, L. I., & Chino, H. (1974). Transport of lipids in insects. *Journal of Lipid Research*, 15(5), 439-456. [https://doi.org/10.1016/s0022-2275\(20\)36764-x](https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)36764-x)
46. Grand, D. (2010). Deux siècles d'étude des libellules en Rhône-Alpes (Insecta : Odonata). *Bulletin mensuel de la Société linnéenne de Lyon*, 2(1), 23-29. <https://doi.org/10.3406/linly.2010.13741>

47. Greenlee, K. J., & Harrison, J. F. (2004). Development of respiratory function in the American locust *Schistocerca americana* I. Across-instar effects. *Journal of Experimental Biology*, 207(3), 497-508. <https://doi.org/10.1242/jeb.00767>
48. Grimaldi, D., & Engel, M. S. (2005). *Evolution of the Insects (Cambridge Evolution Series)* (1st Edition). Cambridge University Press.
49. Guichardant, M., Bacot, S., Molière, P., & Lagarde, M. (2006). Les biomarqueurs de la peroxydation lipidique. *Oléagineux, Corps gras, Lipides*, 13(1), 31-34. <https://doi.org/10.1051/ocl.2006.5555>
50. Guichardant, M., Chantegrel, B., Deshayes, C., Doutheau, A., Moliere, P., & Lagarde, M. (2004). Specific markers of lipid peroxidation issued from n-3 and n-6 fatty acids. *Biochemical Society Transactions*, 32(1), 139-140. <https://doi.org/10.1042/bst0320139>
51. Harabiš, F., Rusková, T., & Dolný, A. (2019). Different Oviposition Strategies of Closely Related Damselfly Species as an Effective Defense against Parasitoids. *Insects*, 10(1), 26. <https://doi.org/10.3390/insects10010026>
52. Hart, L. A., Bowker, M. B., Tarboton, W., & Downs, C. T. (2014). Species Composition, Distribution and Habitat Types of Odonata in the iSimangaliso Wetland Park, KwaZulu-Natal, South Africa and the Associated Conservation Implications. *PLoS ONE*, 9(3), e92588. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0092588>
53. HASSALL, C., THOMPSON, D. J., & HARVEY, I. F. (2008). Latitudinal variation in morphology in two sympatric damselfly species with contrasting range dynamics (Odonata : Coenagrionidae). *European Journal of Entomology*, 105(5), 939-944. <https://doi.org/10.14411/eje.2008.120>
54. HODGKIN, E. P., & WATSON, J. A. L. (1958). Breeding of Dragonflies in Temporary Waters. *Nature*, 181(4614), 1015-1016. <https://doi.org/10.1038/1811015b0>
55. Horowitz, A. R., & Ishaaya, I. (2004). Biorational Insecticides — Mechanisms, Selectivity and Importance in Pest Management. *Insect Pest Management*, 1-28. [https://doi.org/10.1007/978-3-662-07913-3\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-662-07913-3_1)
56. Hottenbacher, N., & Koch, K. (2006). Influence of egg size on egg and larval development of *Sympetrum striolatum* at different prey availability (Odonata : Libellulidae). *International Journal of Odonatology*, 9(2), 165-174. <https://doi.org/10.1080/13887890.2006.9748275>

57. Howard, R. D. (1979). Estimating Reproductive Success in Natural Populations. *The American Naturalist*, 114(2), 221-231. <https://doi.org/10.1086/283470>
58. James H. Thorp, D. Christopher Rogers. Thorp and Covich's Freshwater (2017) Invertebrates: Ecology and General Biology. Elsevier, London, 2015 - 1148.
59. Janssens, L., & Stoks, R. (2017a). Chlorpyrifos-induced oxidative damage is reduced under warming and predation risk : Explaining antagonistic interactions with a pesticide. *Environmental Pollution*, 226, 79-88. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.04.012>
60. Janssens, L., & Stoks, R. (2017b). Stronger effects of Roundup than its active ingredient glyphosate in damselfly larvae. *Aquatic Toxicology*, 193, 210-216. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.10.028>
61. Johansson, F., & Suhling, F. (2004). Behaviour and growth of dragonfly larvae along a permanent to temporary water habitat gradient. *Ecological Entomology*, 29(2), 196-202. <https://doi.org/10.1111/j.0307-6946.2004.00592.x>.
62. José Manuel Moreno-Benítez & Javier Ripoll (2018) .Premiers pas dans le Monde des Libellules. INLibellules du Grand Sentier de malaga et de la province. Guide d'identification.. Diputación de Málaga . 15-35.
63. Jourde P. (2010). Les Odonates : biologie et écologie I / Insectes n° 157.
64. K.J. Tennessen . (2009).Odonata (Dragonflies, Damselflies) . IN Encyclopedia of Insects. Elsevier Inc, 978-0-12-374144-8 :721-729.
65. Kawooya, J. K., Osir, E. O., & Law, J. H. (1988). Uptake of the major hemolymph lipoprotein and its transformation in the insect egg. *Journal of Biological Chemistry*, 263(18), 8740-8747. [https://doi.org/10.1016/s0021-9258\(18\)68368-1](https://doi.org/10.1016/s0021-9258(18)68368-1)
66. Kirkpatrick, M., & Lande, R. (1989). The Evolution of Maternal Characters. *Evolution*, 43(3), 485. <https://doi.org/10.2307/2409054>
67. Klowden, M. J. (2007). *Physiological Systems in Insects*. Academic Press.
68. Kumar, A. (1976). Biology of Indian dragonflies with special reference to seasonal regulation and larval development. *Bulletin of Entomology*, New Dehli 3: 37-47.
69. Kunce, W., Stoks, R., & Johansson, F. (2017). Single and mixture impacts of two pyrethroids on damselfly predatory behavior and physiological

- biomarkers. *Aquatic Toxicology*, 190, 70-77.  
<https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.06.025>
70. Lailvaux, S. P., & Husak, J. F. (2014). The Life History of Whole-Organism Performance. *The Quarterly Review of Biology*, 89(4), 285-318.  
<https://doi.org/10.1086/678567>
71. Landry, M. (2015). Étude du microbiome intestinal de *Choristoneura fumiferana*, la tordeuse des bourgeons d'épinette. Maîtrise en Microbiologie-Immunologie. Université de LAVAL
72. LEASE, H. M., & WOLF, B. O. (2010). Lipid content of terrestrial arthropods in relation to body size, phylogeny, ontogeny and sex. *Physiological Entomology*, 36(1), 29-38. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3032.2010.00767.x>
73. Leclere H., Buttiaux R. et Guillaume J. (1977). Microbiologie appliquée. Edition Doin G. FUNASA. (2013). Manuel Pratique D'analyse De L'eau . Fondation Nationale de la Santé, Brasilia. 4ème édition . Brésil , p.150 .
74. Legrand, J. (2001). Ordre des Odonates. Biodiversité et biotypologie des eaux continentales de Madagascar, Institut de Recherche pour le Développement, CNRE, LRSAE, 113-130.
75. Leibovitz, B. E., & Siegel, B. V. (1980). Aspects of Free Radical Reactions in Biological Systems : Aging. *Journal of Gerontology*, 35(1), 45-56.  
<https://doi.org/10.1093/geronj/35.1.45>
76. Luquet, E., & Tariel, J. (2016). Offspring reaction norms shaped by parental environment : interaction between within- and trans-generational plasticity of inducible defenses. *BMC Evolutionary Biology*, 16(1).  
<https://doi.org/10.1186/s12862-016-0795-9>
77. Lyman, W. J., Reehl, W. J., Rosenblatt, D. H., & Reehl, W. J. (1990). *Handbook of Chemical Property Estimation Methods*. American Chemical Society.
78. M., R. (1998). *INITIATION A LA MORPHOLOGIE, LA SYSTEMATIQUE ET LA BIOLOGIE DES INSECTES*. IRD.
79. M.Th. Beenackers, A., van der Horst, D. J., & van Marrewijk, W. J. (1985). Insect lipids and lipoproteins, and their role in physiological processes. *Progress in Lipid Research*, 24(1), 19-67. [https://doi.org/10.1016/0163-7827\(85\)90007-4](https://doi.org/10.1016/0163-7827(85)90007-4)
80. MacBean C.(2010). ed,The ePesticide Manual, 15th ed., Version 5.0.1. Surrey UK, British Crop Protection Council. Spirodiclofen (148477-71-8).

- 81.** Marie Lavalette (2013). Les insectes : une nouvelle ressource en protéines pour l'alimentation humaine. Sciences pharmaceutiques. hal-01732784, p.75.
- 82.** Markert, J. A., Champlin, D. M., Gutjahr-Gobell, R., Grear, J. S., Kuhn, A., McGreevy, T. J., Roth, A., Bagley, M. J., & Nacci, D. E. (2010). Population genetic diversity and fitness in multiple environments. *BMC Evolutionary Biology*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-205>
- 83.** Matushkina N. A, (2007). Regular Egg-Positioning by an Aeshnid Species (Odonata, Aeshnidae) with Comments on its Phylogenetic Value. *Vestnik zoologii*, 41(5): 457–462
- 84.** Matushkina, N. A., & Lambret, P. H. (2011). Ovipositor morphology and egg laying behaviour in the dragonfly *Lestes macrostigma* (Zygoptera : Lestidae). *International Journal of Odonatology*, 14(1), 69-82. <https://doi.org/10.1080/13887890.2011.568190>
- 85.** McPeck, M. A. (2008). Ecological factors limiting the distributions and abundances of Odonata. *Dragonflies and Damselflies*, 51-62. <https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780199230693.003.0005>
- 86.** Merete Dæhli., Siri Nesbakken Terje Haraldsen., Marit Randall (2010). Evaluation of the plant protection product Envidor 240 SC – spirodiclofen. The Norwegian Food Safety Authority, National Registration Section.p 72.
- 87.** MINOT, M., le GALL, M., & HUSTE, A. (2019a). Biometry of the large dragonfly *Anax imperator* (Odonata : Aeshnidae) : A study of traits from larval development to adults. *European Journal of Entomology*, 116, 269-280. <https://doi.org/10.14411/eje.2019.031>.
- 88.** MINOT, M., le GALL, M., & HUSTE, A. (2019b). Biometry of the large dragonfly *Anax imperator* (Odonata : Aeshnidae) : A study of traits from larval development to adults. *European Journal of Entomology*, 116, 269-280. <https://doi.org/10.14411/eje.2019.031>
- 89.** Mousseau, T. (1998). The adaptive significance of maternal effects. *Trends in Ecology & Evolution*, 13(10), 403-407. [https://doi.org/10.1016/s0169-5347\(98\)01472-4](https://doi.org/10.1016/s0169-5347(98)01472-4)
- 90.** Nacıtarhan, S., Özben, T., & Tuncer, N. (1995). Serum and urine malondialdehyde levels in NIDDM patients with and without hyperlipidemia. *Free Radical Biology and Medicine*, 19(6), 893-896. [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(95\)00096-g](https://doi.org/10.1016/0891-5849(95)00096-g)

91. Naimi, M. (2018). Cahier technique-2: Techniques de contrôle microbiologiques.
92. Nature, V., Dû, L. P., & Lesparre, D. (2014). *Les libellules des Côtes-d'Armor - guide atlas des odonates*. GINKGO.
93. Nauen, R., Schnorbach, H.J. & Elbert, A. (2005). The biological profile of spiromesifen (Oberon) –a new tetronic acid insecticide/acaricide. *Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer* 58: 417–440.
94. Nicolaus, B., Romijn, C. & Bowers L. (2005). Ecotoxicological profile of the insecticide Oberon. *Pflanzenschutz- Nachrichten Bayer*. 58: 353–370.
95. O'Brien, D. (1999). Fuel use in flight and its dependence on nectar feeding in the hawkmoth *Amphion floridensis*. *Journal of Experimental Biology*, 202(4), 441-451. <https://doi.org/10.1242/jeb.202.4.441>
96. Oertli, B., & Frossard, P. (2013). *Mares et étangs : Ecologie, gestion, aménagement et valorisation. (Science et ingénierie de l'environnement) (French Edition)*. PU POLYTECHNIQU.
97. Philippe JOURDE & Miguel GAILLEDROT (2009) . Le monde des libellules . IN : *Libellules du Poitou-Charentes* .Édité par PoitouCharentes Nature. 500 ill., p. 256.
98. Piersma, T., & Drent, J. (2003). Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends in Ecology & Evolution*, 18(5), 228-233. [https://doi.org/10.1016/s0169-5347\(03\)00036-3](https://doi.org/10.1016/s0169-5347(03)00036-3)
99. Planes, L., Catalán, J., Tena, A., Porcuna, J. L., Jacas, J. A., Izquierdo, J., & Urbaneja, A. (2012). Lethal and sublethal effects of spirotetramat on the mealybug destroyer, *Cryptolaemus montrouzieri*. *Journal of Pest Science*, 86(2), 321-327. <https://doi.org/10.1007/s10340-012-0440-3>
100. Reece JB, Urry LA, Cain ML, Wasserman SA, Minorsky PV. (2011). *Campbell biology*. Yorkshire: Pearson Benjamin Cummings.
101. Relyea, R. A. (2005). THE LETHAL IMPACT OF ROUNDUP ON AQUATIC AND TERRESTRIAL AMPHIBIANS. *Ecological Applications*, 15(4), 1118-1124. <https://doi.org/10.1890/04-1291>
102. Relyea, R., & Hoverman, J. (2006). Assessing the ecology in ecotoxicology : a review and synthesis in freshwater systems. *Ecology Letters*, 9(10), 1157-1171. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2006.00966.x>

- 103.** Richardson, J. M. L. (2001). The Relative Roles of Adaptation and Phylogeny in Determination of Larval Traits in Diversifying Anuran Lineages. *The American Naturalist*, 157(3), 282-299. <https://doi.org/10.1086/319196>
- 104.** Riegner, K. (1999) Aerobic Aquatic Degradation and Metabolism of BAJ 2740 in the Water-Sediment System: Lab Project Number: M 151 0865-6: 109582: 4431. Unpublished study prepared by Bayer AG, p.87.
- 105.** Robert Adrien (1966). Les libellules de Québec. Station biologique du Mont Tremblant, Service de la recherche, Ministère de la chasse et des pêcheries, p. 223.
- 106.** Rodier, J., Legube, B., & Merlet, N. (2016). *L'analyse de l'eau - 10e éd. - Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer : Eaux naturelles, eaux résiduaires, eau de mer (Technique et ingénierie) (French Edition)*. DUNOD.
- 107.** Satha Yalles, A. (2008) , « caractérisation du peuplement odonatologique des bassins versants de Bouhamdane et Seybouse », Thèse de Magister, sous la direction de Pr . Samraoui Boudjéma , Guelma, Univ 08 Mai 1945, p.113.
- 108.** Sayad L. (2008). Qualité physicochimique et bactériologique des eaux de l'écosystème lacustre Lac des Oiseaux. Mémoire due Magister. Université d'Annaba, p. 118.
- 109.** Schradin, C. (2013). Intraspecific variation in social organization by genetic variation, developmental plasticity, social flexibility or entirely extrinsic factors. *Philosophical Transactions of the Royal Society B : Biological Sciences*, 368(1618), 20120346. <https://doi.org/10.1098/rstb.2012.0346>
- 110.** Sherman Hollar Associate Editor, Compton's by Britannica, & Sherman Hollar Associate Editor, C. B. (2011). *Ecology*. Britannica Educational Pub.
- 111.** Sternberg K. (1990). Autökologie von sechs Libellenarten der Moore und Hochmoore des Schwarzwaldes und Ursachen ihrer Moorbindung. DrT, Albert-Ludwigs-University, Freiburg Germany.
- 112.** Stirling, G., & Wilsey, B. (2001). Empirical Relationships between Species Richness, Evenness, and Proportional Diversity. *The American Naturalist*, 158(3), 286-299. <https://doi.org/10.1086/321317>.
- 113.** Stohs, S.J., Bagchi, D., Hasoun, E. & Bagchi, M. (2000). Oxidative mechanisms in the toxicity of chromium and cadmium ions. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol*, 19: 201-213.

- 114.** Stoks, R., & Córdoba-Aguilar, A. (2012). Evolutionary Ecology of Odonata : A Complex Life Cycle Perspective. *Annual Review of Entomology*, 57(1), 249-265. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-120710-100557>
- 115.** Storey, K.B. (1996). Oxidative stress: animal adaptations in nature. *Braz. J. Med. Biol. Res*, 29: 1715-1733.
- 116.** Suhling, F., Sahlén, G., Gorb, S., Kalkman, V. J., Dijkstra, K. D. B., & van Tol, J. (2015). Order Odonata. *Thorpe and Covich's Freshwater Invertebrates*, 893-932. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-385026-3.00035-8>.
- 117.** Suhling, F., Sahlén, G., Kasperski, J., & Gaedecke, D. (2005). Behavioural and life history traits in temporary and perennial waters : comparisons among three pairs of sibling dragonfly species. *Oikos*, 108(3), 609-617. <https://doi.org/10.1111/j.0030-1299.2005.13230.x>
- 118.** Suhling, F., Schenk, K., Padeffke, T., & Martens, A. (2004). A field study of larval development in a dragonfly assemblage in African desert ponds (Odonata). *Hydrobiologia*, 528(1-3), 75-85. <https://doi.org/10.1007/s10750-004-3047-8>
- 119.** Swann RL et al; Res Rev 85: 1728 (1983) .,MacBean C,(2010). The ePesticide Manual, 15th ed., Version 5.0.1. Surrey UK, British Crop Protection Council Spirodiclofen (148477-71b8).
- 120.** Tachet H., Rochoux P., Bournaud et M. Ussegloi P. (2000). Invertébrés d'eau douce : systématique, biologie, écologie. CNRS, Paris. *The southwestern naturalist* 58(1): 91–96.
- 121.** Troy, S., Anderson, W. A., & Spielman, A. (1975). Lipid content of maturing ovaries of *Aedes aegypti* mosquitoes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B : Comparative Biochemistry*, 50(3), 457-461. [https://doi.org/10.1016/0305-0491\(75\)90258-8](https://doi.org/10.1016/0305-0491(75)90258-8)
- 122.** van der Vaart, H. (2004). Acute effects of cigarette smoke on inflammation and oxidative stress : a review. *Thorax*, 59(8), 713-721. <https://doi.org/10.1136/thx.2003.012468>
- 123.** van Pottelberge, S., Khajehali, J., van Leeuwen, T., & Tirry, L. (2008). Effects of spirodiclofen on reproduction in a susceptible and resistant strain of *Tetranychus urticae* (Acari : Tetranychidae). *Experimental and Applied Acarology*, 47(4), 301-309. <https://doi.org/10.1007/s10493-008-9226-y>
- 124.** van Praet, N., de Bruyn, L., de Jonge, M., Vanhaecke, L., Stoks, R., & Bervoets, L. (2014). Can damselfly larvae (*Ischnura elegans*) be used as

- bioindicators of sublethal effects of environmental contamination ? *Aquatic Toxicology*, 154, 270-277. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2014.05.028>
- 125.** Viarengo, A., Lowe, D., Bolognesi, C., Fabbri, E., & Koehler, A. (2007). The use of biomarkers in biomonitoring : A 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C : Toxicology & Pharmacology*, 146(3), 281-300. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2007.04.011>
- 126.** Wachendorff, U.; Brück, E.; Elbert, A.; Fischer, R.; Nauen, R.; Stumpf, N.; Tiemann, R. (2000). BAJ 2740: A novel broad spectrum acaricide. Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference – Pests and Diseases, 2, 53–58.
- 127.** WARINGER, J. A., & HUMPEsch, U. H. (1984). Embryonic development, larval growth and life cycle of *Coenagrion puella* (Odonata : Zygoptera) from an Austrian pond. *Freshwater Biology*, 14(4), 385-399. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.1984.tb00162.x>
- 128.** Williams, D. D. (1996). Environmental Constraints in Temporary Fresh Waters and Their Consequences for the Insect Fauna. *Journal of the North American Benthological Society*, 15(4), 634-650. <https://doi.org/10.2307/1467813>
- 129.** Wissinger, S. A., Whiteman, H. H., Sparks, G. B., Rouse, G. L., & Brown, W. S. (1999). Foraging Trade-Offs along a Predator-Permanence Gradient in Subalpine Wetlands. *Ecology*, 80(6), 2102. <https://doi.org/10.2307/176681>
- 130.** Zhang, J., Qian, L., Teng, M., Mu, X., Qi, S., Chen, X., Zhou, Y., Cheng, Y., Pang, S., Li, X., & Wang, C. (2019). The lipid metabolism alteration of three spirocyclic tetramic acids on zebrafish (*Danio rerio*) embryos. *Environmental Pollution*, 248, 715-725. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.02.035>
- 131.** Zielinski, S., & Pörtner, H. O. (2000). Oxidative stress and antioxidative defense in cephalopods : a function of metabolic rate or age ? *Comparative Biochemistry and Physiology Part B : Biochemistry and Molecular Biology*, 125(2), 147-160. [https://doi.org/10.1016/s0305-0491\(99\)00162-5](https://doi.org/10.1016/s0305-0491(99)00162-5)

## Site Internets et Photo Web

- [1]. [http://www.healeyhero.co.uk/rescue/individual/Bob\\_Bradley/Bk-5/B5-1975-P2.html](http://www.healeyhero.co.uk/rescue/individual/Bob_Bradley/Bk-5/B5-1975-P2.html)
- [2]. [https://www.nature22.com/odonates22/galerie/galerie\\_zygo.html](https://www.nature22.com/odonates22/galerie/galerie_zygo.html)
- [3]. <https://www.bestioles.ca/insectes/anisoptere-anisoptera.html>
- [4]. [http://efg.cs.umb.edu/~whaber/Odonata\\_of\\_Ecuador/Coenag.html](http://efg.cs.umb.edu/~whaber/Odonata_of_Ecuador/Coenag.html)
- [5]. <https://www.insecte.org/forum/viewtopic.php?t=75163>
- [6]. <http://www.libellules.org/morphologie/larves-odonates.html>
- [7]. <http://www.konigphoto.com/francais/recherche/zoom.asp?pre=41519&NumPhoto=113711&suiv=125231&motscl=x>
- [8]. [http://www.libellulesmaizieres.fr/odonates/cycle\\_de\\_vie.html](http://www.libellulesmaizieres.fr/odonates/cycle_de_vie.html)
- [9]. <https://ainvo.fr/nos-dossiers/accouplements-dinsectes/accouplements-dodonates/>
- [10]. [<http://entomofaune.qc.ca/entomofaune/odonates/Predateurs.html>].
- [11]. <https://www.quelestcetanimal.com/odonates/le-sympetrum-meridional/#:~:text=ETYMOLOGIE%20%3A,les%20libellules%20du%20genre%20Sympetrum>
- [12]. [https://ressources.shna-ofab.fr/fr/fiches-especes/sympetrum-meridional-sympetrum-meridionale\\_45\\_T65339.html](https://ressources.shna-ofab.fr/fr/fiches-especes/sympetrum-meridional-sympetrum-meridionale_45_T65339.html)
- [13]. [https://www.faune-alsace.org/index.php?m\\_id=20397](https://www.faune-alsace.org/index.php?m_id=20397)
- [14]. <https://cdnfiles1.biolovision.net/www.faune-lorraine.org/userfiles/ODONATES/Documentsdidentification/IdentifierlesSymptumsduGrandEstV2.pdf>
- [15]. <file:///C:/Users/DOUDA/Downloads/Spirodiclofen.pdf>
- [16]. <https://microbiologyinfo.com/api-20e-test>

---

# Résumés

---

## Résumé

Les Odonates constituent l'un des taxons les plus importants dans les zones humides algériennes et nord-africaines. Le travail présenté dans cette thèse porte sur l'étude des traits du cycle de vie de deux populations de *Sympetrum meridionale* provenant de deux habitats différents du nord-est de l'Algérie. Le premier est une zone humide RAMSAR appelée 'Mekhada', et la seconde est une marre temporaire située à la montagne "Maouna" (1400 m d'altitude), aussi de suivre l'évolution de la quantité des constituants biochimiques au cours des stades larvaires et la détermination d'un paramètre toxicologique (MDA) du spirodiclofen (ENVIDOR® 240 SC). Dans un second volet on a essayé d'obtenir un premier aperçu des communautés bactériennes de l'intestin des odonates et de mesurer l'effet des changements des conditions environnementaux notamment régime alimentaire et la qualité des eaux sur la composition de ces communautés.

Les modes de développement des deux populations de libellules varient en fonction du type d'habitat occupé par la génération parentale de l'espèce (ANCOVA factorielle :  $p < 0,05$ ) (mortalité larvaire faible, développement lent et poids faible dans la population de libellules habitant la zone humide RAMSAR par rapport à celles habitant la Maouna. Pour les constituants biochimiques aucune différence significative n'est observée entre les deux populations. Le spirodiclofen manifeste une activité insecticide à l'égard des larves avec une relation dose-réponse significative, il induit une augmentation du taux de MDA par rapport aux témoins. L'analyse microbiologique a montré que le microbiote intestinal de la tordeuse était dominé par des Proteobactéries, principalement du genre *Enterobacter et Proteus*. En outre, le microbiote des Nymphes élevées des deux espèces était beaucoup plus riche en termes de diversité taxonomique et de nombre de bactéries par rapport aux autres stades. De telles études ajouteront considérablement à notre compréhension les mécanismes qui sont responsables des impacts possibles des changements environnementaux sur les traits du cycle de vie des libellules dans la partie sud de leur aire de distribution.

## Mots clés :

odonate, bioindicateur, constituants biochimiques, lipide, microflore

**Abstract**

Odonates are one of the most important taxa in Algerian and North African wetlands. In this thesis, we aim to study several life history parameters of two populations of *Sympetrum meridionale*, coming from two different habitats across north-eastern Algeria. The first one is a RAMSAR wetland called 'Mekhada' (a perennial water body), and the second one is a temporary pond located at "Maouna" Mountain (1400 m altitude). Moreover, the evolution of biochemical components was carried out during the larval stages, and MDA levels were evaluated after a chronic exposure to spiroadicfen (ENVIDOR ® 240 SC). Furthermore, to obtain a first overview of bacterial communities in the gut of odonates and to measure the effect of changes in environmental conditions including diet and water quality on the composition of these communities, microbiological analysis was carried out.

The developmental patterns of the two dragonfly populations varied according to the type of habitat occupied by the parental generation of the species (factorial ANCOVA:  $p < 0.05$ ) (Low larval mortality, slow development and low weight in the dragonfly population inhabiting the RAMSAR wetland compared to those inhabiting the Maouna. For biochemical compounds, no significant difference is observed between the two populations. Exposure to Spirodiclofen was revealed insecticidal activity towards larvae with a significant dose-response relationship; it induces an increase in MDA levels compared to controls groups. We found that the gut microbiota of the larvae was dominated by Proteobacteria, mainly of the genus *Enterobacter* and *Proteus*. In addition, the microbiota of reared larvae of both species was much richer in terms of taxonomic diversity and number of bacteria compared to the other stage. Such studies will add considerably to our understanding of the mechanisms that are responsible for the possible impacts of environmental changes on the life history traits of dragonflies in the southern part of their range.

**Key words:**

odonate, bioindicator, biochemical components, lipid, microflora

اليعسوبيات هي واحدة من أهم الأصناف في المناطق الرطبة في الجزائر وشمال إفريقيا. هذه الأطروحة دراسة العديد من سمات دورة حياة مجموعتين من *Sympetrum meridionale* الآتية من منطقتين مختلفتين في شم . الأول عبارة عن منطقة رطبة ، والثانية عبارة عن بركة مؤقتة تقع " " (1400) ، كذلك معاينة تطور كمية المكونات البيوكيميائية مراحل تطور اليرقات وتحديد المعلمة السمية (MDA) spirodiclofen (ENVIDOR® 240 SC). تقييم آثاره شبه المميتة في اليرقات في المرحلة النهائية. ، وكذلك للحصول على لمحة أولية عن التجمعات البكتيرية في القناة الهضمية لليعسوبيات . بشكل عام ، تختلف أنماط التطور لمجموعتي اليعسوب وفقاً لنوع الموطن الذي يشغله الجبل الأبوي لهذه الأنواع (ANCOVA : p < 0.05). (انخفاض معدل وفيات اليرقات ، والتطور البطيء ، وانخفاض الوزن في مجموعة اليعسوب التي تعيش في المناطق الرطبة راسار مقارنة بتلك التي تعيش في ماونة. المكونات البيوكيميائية، لم يلاحظ فرق كبير بين المجموعتين . يظهر المبيد نشاط مبيد حشري ضد اليرقات بعلاقة مهمة بين الجرعة والاستجابة يؤدي إلى زيادة مستوى MDA بالشواهد. وجدنا أن الميكروبات المعوية لليرقات كانت تهيمن عليها البكتيريا المتقلبة ، وخاصة من جنس *Proteus* *Enterobacter*. بالإضافة إلى ذلك الكائنات الحية الدقيقة لليرقات المرشحة لكلا النوعين أكثر ثراءً من حيث التنوع التصنيفي وعدد البكتيريا مقارنة بالمراحل الأخرى. ستضيف مثل هذه الدراسات إلى حد كبير فهمنا للآليات المسؤولة عن التأثيرات المحتملة للتغيرات البيئية على سمات تاريخ حياة اليعسوب في الجزء الجنوبي من توزعها.

#### مفتاحية

اليعسوبيات مؤشر حيوي ، المكونات البيوكيميائية ، والدهون ، والكائنات الدقيقة

---

# **Annexes**

---

**Annexe 1:** Microbiome intestinal de *Sympetrum miridionale* (Site 1).

Site 1 : Masmassa	Stade larvaire (1 semaine)	Stade larvaire (2 semaine)	Nymphe	Adulte
<i>E. coli</i>	1	1	1	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	0	1	1	1
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0	0	1	1
<i>Enterobacter kobei</i>	1	1	1	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	1	1	1
<i>Enterobacter amnigenus</i>	0	0	1	1
<i>Klebseilla oxytoca</i>	1	1	1	1
<i>Klebseilla granulomatis</i>	1	1	1	1
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1	1	1
<i>Proteus vulgaris</i>	1	1	1	1
<i>Pontoa sp.</i>	0	0	0	1
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	1	1
<i>Serratia aquatilis</i>	1	1	1	1
<i>Serratia entomophila</i>	1	1	1	1
<i>Citrobacter freundii</i>	0	0	1	1
<i>Morganella morgani</i>	1	1	1	1
<i>Providencia alcalifaciens</i>	0	1	1	1
<i>Pseudomonas auruginosa</i>	0	1	1	1
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1	1	1
<i>Aeromonas sp.</i>	1	1	1	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	1	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	0	1	1	1
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	1	1	1
<i>Staphylococcus xylosum</i>	1	1	1	1

**Annexe 2:** Microbiome intestinal de *Sympetrum miridionale* (Site 2).

Site 2 : Lac Mecada	Stade larvaire (1 semaine)	Stade larvaire (2 semaine)	Nymphe	Adulte
<i>E. coli</i>	1	1	1	1
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	1	1	1
<i>Enterobacter kobei</i>	1	1	1	1
<i>Enterobacter aerogenes</i>	0	1	1	1
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	1	1	1
<i>Proteus mirabilis</i>	1	1	1	1
<i>Proteus vulgaris</i>	1	1	1	1
<i>Erwinia sp.</i>	0	0	1	1
<i>Serratia marcescens</i>	1	1	1	1
<i>Serratia aquatilis</i>	1	1	1	1
<i>Serratia entomophila</i>	1	1	1	1
<i>Serratia symbiotica</i>	0	1	1	1
<i>Citrobacter freundii</i>	0	1	1	1
<i>Morganella morgani</i>	1	1	1	1
<i>Hafnia sp.</i>	0	0	1	1
<i>Providencia alcalifaciens</i>	1	1	1	1
<i>Providencia ruttgeri</i>	1	1	1	1
<i>Pseudomonas auruginosa</i>	1	1	1	1
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1	1	1
<i>Aeromonas sp.</i>	1	1	1	1
<i>Plesiomonas sp.</i>	1	1	1	1
<i>Staphylococcus aureus</i>	0	1	1	1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	1	1	1
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	1	1	1	1
<i>Staphylococcus xylosum</i>	1	1	1	1

## **Annexe 3: publication scientifique**