



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi – Tébessa –



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie

Département : Des êtres vivants

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière : Sciences Biologiques

Option : Ecophysiologie Animale

Thème :

**Impact de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur
les biomarqueurs de détoxification chez les larves de
*Culiseta longiareolata***

Présenté par :

M. MECHERI Mohamed Nadji

M^{elle}. MENNAH Rayen Safa

Devant le jury :

Mme. ZEGHIB Assia	M.C.B.	.Université de Tébessa	Présidente
Mme. BOUABIDA Hayette	M.C.A.	.Université de Tébessa	Rapporteuse
Mme. SEGHIR Hanene	M.A.A.	.Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : Le 22Juin 2019

Année 2018/2019

Note /20



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi – Tébessa –



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la vie

Département : Des êtres vivants

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière : Sciences Biologiques

Option : Ecophysiologie Animale

Thème :

**Impact de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur
les biomarqueurs de détoxification chez les larves de
*Culiseta longiareolata***

Présenté par :

M. MECHERI Mohamed Nadji

M^{elle}. MENNAH Rayen Safa

Devant le jury :

Mme.ZEGHIB Assia	M.C.B.	.Université de Tébessa	Présidente
Mme.BOUABIDAHayette	M.C.A.	.Université de Tébessa	Rapporteuse
Mme.SEGHIR Hanene	M.A.A.	.Université de Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : Le 22Juin 2019

Année 2018/2019

Note /20

Remerciement

Nous tenons d'abord à remercier le tout puissant, notre DIEU, le clément et miséricordieux, de nous avoir donné la clair voyance et la persévérance, pour mener à terme ce travail,

Prière et salut sur notre prophète MOHAMED.

A nos parents et tous nos frères et sœurs de leur soutien et leur grande affection et les grands efforts pour nous aider à réaliser ce travail.

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à Mme Assia ZEGHIB qui m'a fait l'honneur de présider le présent jury.

Nous voudrions exprimer notre gratitude à la Directrice de notre mémoire, Mme Bouabida Hayette. Nous la remercions d'avoir organisée, dirigée et assistée notre travail, ainsi que pour sa patience et sa disponibilité, en particulier ses conseils judicieux qui ont contribué à notre réflexion.

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à SEGHIR Hanene qui a bien voulu accepter d'être membre de ce même jury et de me faire l'honneur de juger ce travail.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, et leurs conseils.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude aux amis et collègues qui nous ont apporté leur soutien moral et intellectuel tout au long de mon travail.

Nous souhaitons exprimer notre gratitude à tous les chercheurs et spécialistes. Leur nombre est très important et il a fallu du temps pour en discuter de manière objective. Tous ces échanges m'ont aidé à pousser mon analyse.



Merci

Mennah Rayen Safa _ Mecheri Med Nadji

DÉDICACE

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut... Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect et la reconnaissance, et pourtant...

Je dédie ce travail :

*À ceux qui m'ont aimé, protéger et aidé dans toute ma vie, **mes chers parents**, c'est grâce à eux que j'ai atteint ce stade dans ma vie.*

*À ma précieuse sœur **Nadjah**, pour leur soutien toute au long de mon cursus*

*À ceux qui m'ont beaucoup aidé à faire ce travail : **Fares, Amel et Nouha***

*À mon meilleur ami depuis l'enfance, le grand écrivain : **Abderazak Touahria***

*À mes cher potes et mes bras : **Sid Ahmed et Nounou***

*À mon cher pote et mon gardien de secret : **Khaled Bahloul***

*À mon professeur et mon idole le grand journaliste : **Karim Boussalem***

*À tous les journalistes de **Beur TV** et mes anciens collègues, surtout : **Mohamed Rahmouni, Wafa Hamidouch et Nadhir Kharfallah***

*À mes oncles : **Rachid et Nouredine Bouzidi***

*À ma chère amie où le soleil se couche, Marrakech (Maroc) : **Khadija Aboudrar***

*À mon binôme : ma sœur **Rayen Safa** et sa famille*

À mes collègues de promotion

À tous mes enseignants

À tous mes chères, impossible à compter, impossible à citer...

Nadji... 

DEDICACE

*Avec un énorme bonheur et une extrême joie
Je dédie ce modeste travail à tous ceux qui j'aime et que j'apprécie
énormément leur aide et leur soutien durant ma vie*

À

Mes chers parents

*Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs
prières tout au long de mes études*

*À ma petite sœur **yasmin***

*A mes chers frères **chaker** et **Ramy***

Pour leur appui et leur encouragement

*À MA cher Encadrante Me **Bouabida Hayette.***

*Merci pour votre patience, Vos efforts intenses, et votre disponibilité
Permanente.*

À ma famille, mes amis et mes collègues de notre promotion

À tous mes proches

Rayen safa



Tableau de Matières

Remerciement	
ملخص	
Abstract	
Résumé	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des abréviations	
1. Introduction	1
2. Matériels et Méthodes.....	3
2.1. Présentation de l'insecte <i>Culiseta longiareolata</i>	3
2.1.1. Position systématique	5
2.1.2. Cycle de développement.....	5
2.2. Technique d'élevage	7
2.3. Présentation de la plante (<i>Ruta graveolens</i>).....	8
2.3.1. Nomenclature : (GUINOCHET & VILMORIN 1973-1984.).....	8
2.3.2. Description botanique	9
2.3.3. Position systématique de la plante (<i>Ruta graveolens</i>)	9
2.3.4. Les Huiles essentielles	9
2.4. Extraction des huiles essentielles et traitement	10
2.5. Rendement des huiles essentielles	10
2.6. Dosage des biomarqueurs	11
2.6.1. Dosage des glutathion S-transférases.....	12
2.6.2. Dosage du glutathion	12
2.6.3. Dosage des protéines totales.....	13
2.7. Analyses statistiques	14
3. Résultats.....	15
3.1. Rendement en huile essentiel.....	15
3.2. Effet sur le taux du glutathion	19
3.3. Effet sur l'activité spécifique des glutathion S-transférases.....	19
4. Discussion.....	24
4.1. Rendement en huiles essentielles	24
3.2. Effet sur les biomarqueurs	24
4.2.1. Effet sur l'activité spécifique des GSTs	25
4.2.2. Effet sur l'activité spécifique des GSH	26
5. Conclusion	27
6. Références Bibliographiques:	28

المخلص

البعوض من الحشرات المضايقة بلدغاته المتكررة والناقلة للعديد من الأمراض البشرية والحيوانية، ولمكافحة هذه الحشرات الماصة للدماء نعتد على استخدام مبيدات الحشرات الكيميائية التي تستهدف البالغين أو اليرقات، ولكن مع ظهور التلوث و ظاهرة المقاومة من قبل بعض الحشرات لبعض الفئات المختلفة من المبيدات الحشرية الكيميائية التي تهدد البيئة بشكل عام و البشر على وجه الخصوص، في هذا السياق ضروري اقتراح بدائل جديدة غير ملوثة ومحددة.

المكافحة بالمبيدات الحشرية النباتية يوصى بها للغاية، من بين الوسائل التي تستخدمها النباتات للدفاع ضد آفاتها.

يهدف عملنا إلى تقييم تأثير الزيوت الأساسية لـ *Ruta graveolens* على *Culiseta longiareolata*، أكثر أنواع البعوض انتشاراً في منطقة تبسة. تم تحديد عدة جوانب:

_ **المردود:** الزيوت الأساسية لـ *Rutag raveolens* تمثل مردود يبلغ 1.06% من المادة الجافة للجزء الجوي.

_ **المؤشرات الحيوية:** الزيوت الأساسية المستخلصة من *Ruta graveolens* تسبب انخفاضاً في معدل GSH وزيادة في نشاط GST في يرقات L1 و L2 و L3 و L4 لـ *Culiseta longiareolata* المعالجة، مقارنة بالشواهد.

_ **الكلمات المفتاحية:** *longiareolata Culiseta*، الزيوت الأساسية، *Ruta graveolens*، المردود، المؤشرات الحيوية.

Résumé

Les moustiques sont des agents nuisant et des vecteurs de nombreuses maladies humaines et animales. La lutte contre ces insectes hématophages dépend de l'utilisation d'insecticides chimiques ciblant les adultes ou les larves. Cependant, des phénomènes de pollution et de résistance à différentes classes d'insecticides chimiques, menacent aujourd'hui l'environnement en général et l'homme en particulier, dans ce contexte, il est nécessaire de proposer de nouvelles alternatives non polluantes et spécifiques.

La lutte par les insecticides d'origine végétale est très recommandée, parmi les moyens mis en œuvre par les plantes pour se défendre contre leurs prédateurs.

Notre travail a pour but d'évaluer l'effet d'huile essentielle de *Ruta graveolensa* l'égard d'une espèce de moustiques *Culiseta longiareolata*, l'espèce de moustique la plus répandue dans la région de Tébessa. Plusieurs aspects ont été déterminés :

_ **Rendement** : L'HE de *Ruta graveolensa* présente un rendement de 1,06% de la matière sèche de la partie aérienne.

_ **Biomarqueurs** : L'HE extraite de *Ruta graveolens* provoquent une réduction du taux de la GSH et une augmentation de l'activité de la GST chez les larves L1, L2, L3, L4 de *Culiseta longiareolata* traités comparativement aux témoins.

_ **Mots clés** : *Culiseta longiareolata*, huile essentielle, *Ruta graveolens*, biomarqueurs, Rendement.

Abstract

Mosquitoes are harmful agents and vectors of many human and animal diseases. Control of these hematophagous insects depends on the use of chemical insecticides targeting adults or larvae. However, phenomena of pollution and resistance to different classes of chemical insecticides, today threaten the environment in general and the man in particular, in this context, it is necessary to propose new non-polluting and specific alternatives

The fight by vegetal insecticides is highly recommended, among the means used by plants to defend against their pests.

Our work aims to evaluate the effect of the essential oils of *Ruta graveolens* on *Culiseta longiareolata*, the most widespread mosquito species in the Tebessa region. Several aspects have been determined:

Yield: The HE of *Ruta graveolens* has a yield of 1.06% of the dry matter of the aerial part.

Biomarkers: HE extracted from *Ruta graveolens* causes a reduction in GSH levels and an increase in GST activity in treated L1, L2, L3, L4 larvae of *Culiseta longiareolata* compared to controls

Keywords: *Culiseta longiareolata*, essential oils, *Ruta graveolens*, yield, biomarkers.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
Tableaux 01	Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage	14
Tableaux 02	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du premier stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	15
Tableaux 03	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du deuxième stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série et pour un même temps entre les différentes séries.	16
Tableaux 04	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du troisième stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série et pour un même temps entre les différentes séries.	17
Tableaux 05	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série et pour un même temps entre les différentes séries.	18
Tableaux 06	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du premier stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série et pour un même temps entre les différentes séries.	20
Tableaux 07	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du deuxième stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série et pour un même temps entre les différentes séries.	21
Tableaux 08	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du troisième stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série et pour un même temps entre les différentes séries.	22
Tableaux 09	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série et pour un même temps entre les différentes séries.	23

Liste des figures

N°	Titre	Page
Figure :01	Male de <i>C. longiareolata</i>	3
Figure :02	Nacelle d'œuf <i>C. Longiareolata</i>	3
Figure :03	Dents du peigne siphonal (flèche) de <i>C. Longiareolata</i> (Gr : X 40).	4
Figure:04	Taches d'écaillés sombres sur l'aile (flèche) de <i>C. Longiareolata</i> (Gr : X 60)	4
Figure:05	Trois Bandes blanches longitudinales (flèche)de <i>C. longiareolata</i> (Gr : X 40).	4
Figure:06	Cycle de vie de moustique <i>C. longiareolata</i> .	6
Figure:07	Sites de prélèvement et technique d'élevage des moustiques pépinière de Hammett wilaya de Tébessa	8
Figure:08	Les feuilles, les fleurs et les fruits de la plante <i>Ruta graveolens</i>	8
FIGURE:09	Montage de l'hydro distillateur de type Cl venger	11
Figure:10	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> CL25 et CL50) sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 1 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$).	16
Figure:11	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> (CL25 et CL50) sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 2 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$).	17
Figure:12	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> (CL25 et CL50) sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 3 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$).	18
Figure:13	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$).	19
Figure:14	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> (CL25 et CL50) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 1 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$).	20
Figure:15	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> (CL25 et CL50) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 2 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$).	21

Figure:16	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> (CL25 et CL50) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 3 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$).	22
Figure:17	Effet de l'HE de <i>R. graveolens</i> (CL25 et CL50) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n=3$).	23

Liste des abréviations

- _ **CL50**: Concentration létale de 50% de la population
- _ **CL25**: Concentration létale de 25% de la population
- _ **H.E**: huile essentielle
- _ **GST**: glutathion S-transférase
- _ **GSH**: glutathion S-déshydrogénase (glutathionréduit).
- _ **ACh**: acétylcholine
- _ **AChE**: acétylcholinestérase
- _ **trs**: tours
- _ **ppm**: partie par mille
- _ **ASS**: Acide sulfo salicilique
- _ **BBC**: Bleu brillant de commassie

1. Introduction

Les moustiques sont des insectes Diptères de la famille des "Culicidés" représentés par plus de 3500 espèces dans le monde. Les moustiques se développent en deux phases : une phase larvaire strictement aquatique thermo-dépendante et une phase adulte aérienne (Laëtitia, 2017 ; Philippe *et al.*, 2018).

Les moustiques sont le groupe le plus important des arthropodes ayant une importance médicale, qui peut transmettre de nombreux agents pathogènes et parasites causer des maladies importantes telles que le paludisme, dengue, fièvre jaune et filariose qui affectent plus de 700 millions de personnes chaque année à travers le monde parmi les espèces connues dans la transmission des maladies à l'homme, celles appartenant aux genres *Culex*, *Aedes* et *Anopheles* étant les plus citées. (Alireza Sanei-Dehkordi *et al.*, 2018, Alaoui *et al.*, 1999).

L'OMS a déclaré les moustiques comme ennemi public numéro un. (Fouzia Tine-Djebbar *et al.*, 2018).

Dans les campagnes de lutte anti-moustique, les matières actives des insecticides utilisés appartiennent aux organophosphorés, pyréthrinoïdes et carbamates de synthèse. Ces préparations, bien qu'elles se soient révélées très efficaces sur les moustiques culicidés, présentent plusieurs inconvénients. En effet, en plus de leur coût élevé, elles peuvent être à l'origine de divers problèmes environnementaux. Pour l'accumulation significative de matières actives dans les écosystèmes traités, aquatiques et terrestres est un problème de pollution. Par ailleurs, les substances actives des produits utilisés présentent un large spectre d'action et n'épargnent pas les organismes non cibles. A tous ces inconvénients s'ajoute aussi un grand problème de développement de résistance aux insecticides chimiques, chez les insectes traités (Acheuk, 2017 ; Abdellaoui *et al.*, 2017).

Pour assurer une meilleure intervention, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouvelles méthodes préventives ainsi que de nouveaux produits sont constamment recherchés. Ainsi, pour contribuer à une gestion durable de l'environnement, la mise en place de nouvelles alternatives de contrôle des moustiques est davantage encouragée. Les substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie, comme bactéricides, fongicides, acaricides, etc., peuvent aussi être utilisées comme insecticides de remplacement, mais celle qui retient l'attention des chercheurs à l'heure actuelle est la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles d'origines végétales qui sont les métabolites secondaires (huile essentielles, flavonoïdes, tanins...). (Houichiti *et al.*, 2018 ; Acheuk *et al.*, 2017). L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est connue depuis longtemps. En effet, le pyrèthre, la nicotine et la roténone sont déjà connus comme agents de lutte contre les

insectes (Crosby *et al.*, 1966). D'après Jacobson (1989), plus de 2000 espèces végétales possédant une activité insecticide sont déjà identifiées, les espèces de la famille de Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Lamiaceae et Canellaceae sont les principales familles les plus prometteuses comme source de bios insecticides. Ces derniers sont souvent connus pour leur toxicité pour les herbivores, et ils affectent profondément le comportement des insectes phytophages. De nombreuses molécules, qui présentent une action défensive des plantes contre les ravageurs (Benayad, 2008 ; J.P. JAEG, 2019)

Les progrès de la biologie cellulaire ont permis une identification des mécanismes moléculaires de leur action toxique. Ces connaissances fondamentales ont ouvert la possibilité de forger de nouveaux outils d'évaluation et de surveillance fondée sur les réponses biologiques induites par l'exposition d'organismes à des xénobiotiques. Ceci a donné naissance au concept de bio marqueurs, en référence à des mesures de modifications des réponses biologiques (Schlenk, 1999; Fahd et BrianVeitch, 2019).

La Rue (*R. graveolens*) est une plante médicinale très étudiée en raison de sa richesse en composés phytochimiques, tels que les furano coumarines et les flavonoïdes (Valentina *et al.*, 2019).

Cette étude s'intéresse à évaluer les réponses des populations d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata* à l'impact d'un nouvel insecticide à base d'huile essentielle d'une plante *Ruta graveola* sur : les biomarqueurs de détoxification le glutathion S-transférase (**GST**) et son cofacteur le glutathion réduit (**GSH**) chez les larves de premier, deuxième, troisième et quatrième stade d'une espèce de moustiques *Culiseta longiareolata* aux différents périodes (24, 48 et 72 heures).

2. Matériels et Méthodes

2.1. Présentation de l'insecte *Culiseta longiareolata*

Est un insecte nuisible à métamorphose complète, plus abondant dans les régions chaudes. Il fait partie des Diptères, famille des Culicidés. Ce moustique a une taille qui varie de 3 à 5mm il possède un corps mince et des pattes longues et fines avec des ailes membraneuses, longues et étroites (Villeneuve et Desire, 1965 ; Azzouz et Halib, 2017).

Cs longiareolata est multivoltine, peut présenter une diapause hivernale chez les imagos femelles (régions froides) et chez les larves (régions tempérées). Les adultes sont présents toute l'année avec un max de densité au printemps et un autre en automne (Bruhnes *et al.*, 1999 ; Tabti, 2016).

Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs (Boulkenafet, 2006). Les femelles sont sténogames et autogènes. Elles piquent de préférence les vertébrés surtout les oiseaux, très rarement l'humain, l'espèce est considérée comme un vecteur de *Plasmodium* d'oiseau. La larve est caractérisée par un peigne siphonal dont ses dents sont implantées irrégulièrement. Chez l'adulte, on remarque la présence au moins d'une tache d'écailles sombres sur l'aile, le thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues et fortes au niveau du lobe basal du gonocoxite (Bruhnes *et al.*, 1999; Tabti, 2016).

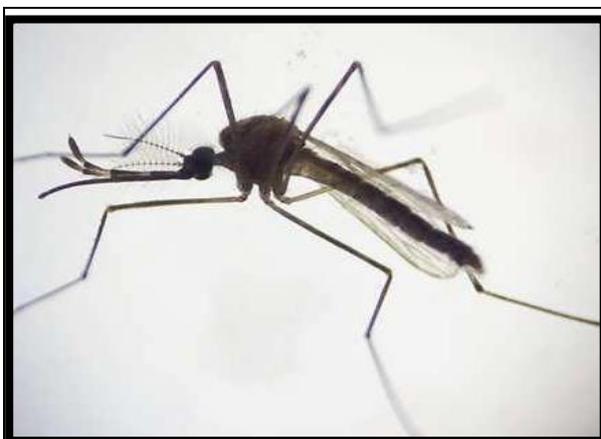


Figure 1 : Male de *Cs.longiareolata*



Figure 2: Nacelle d'œuf *Cs.longiareolata*



Figure 3 : Dents du peigne siphonal (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Bouabida, 2014).

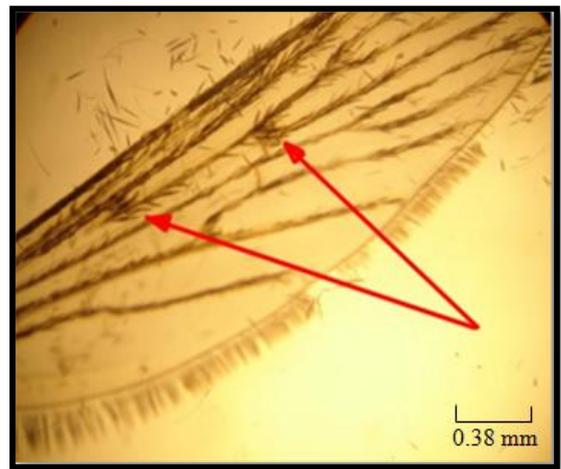


Figure 4 : Taches d'écaillés sombres sur l'aile (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Bouabida, 2014).

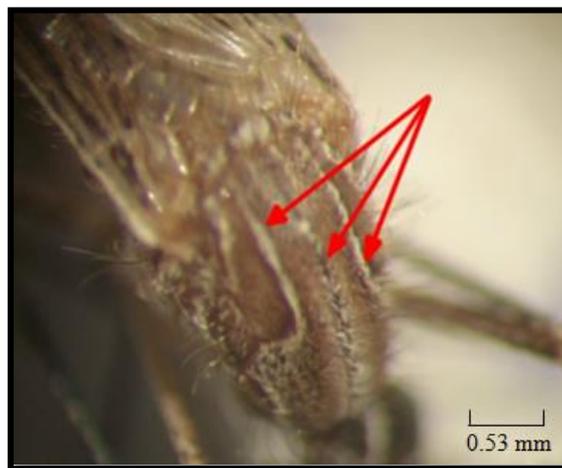


Figure 5 ; Trois bandes blanches longitudinales (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Bouabida, 2014).

2. 1.1. Position systématique

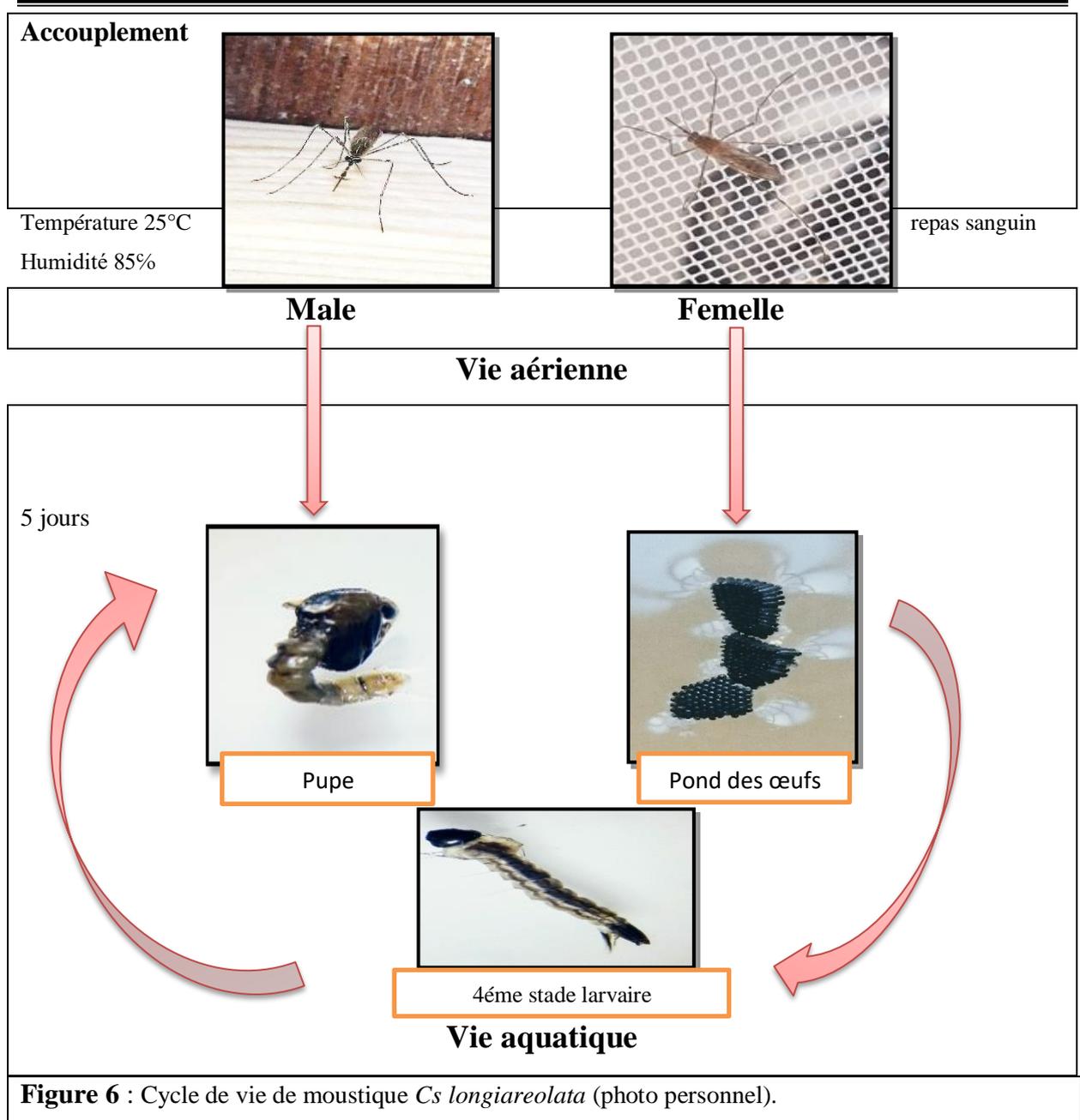
La position systématique de moustiques *Cs longiareolata* a été proposée par (Aitken, 1954) comme suit :

➤ Règne	Animalia
➤ Sous-règne	Metazoa
➤ Embranchement	Arthropoda
➤ Sous-Embranchement	Hexapodda
➤ Super-classe	Protostomina
➤ Classe	Insecta
➤ Sous-classe	Pterygota
➤ Infra-classe	Neoptera
➤ Super-ordre	Endopterygota
➤ Ordre	Diptera
➤ Sous-ordre	Nematocera
➤ Infra-ordre	Culicomorpha
➤ Famille	Culicidae
➤ Sous-famille	Culicinae
➤ Genre	<i>Culiseta</i>
➤ Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954)

2.1.2. Cycle de développement

Les moustiques sont des insectes holométaboles .leur développement passe par une phase larvaire aquatique avant le stade adulte aérien entrecoupé d'une courte phase nymphale (Poupardin, 2011 ; Azzouz et Halib, 2017).

Le développement larvaire peut durer entre 5 jours et 3 mois selon la température de l'eau (thermo-dépendance) et la disponibilité des ressources alimentaires (ils consomment de petits organismes planctoniques). Suite à leur émergence hors de l'eau, des femelles adultes recherchent les protéines nécessaires à la maturation de leurs œufs grâce à deux repas de sang sur différents hôtes (mammifères, oiseaux, reptiles...). Parmi les 37 espèces recensées en Rhône-Alpes, seulement une dizaine d'espèces piquent l'Homme (Himmi et al., 1998, Bacot 2017).



a. Œufs

Les femelles pondent les œufs sur la surface des gîtes différents (bassins, puits abandonnés, trous des rocher, mares, étangs, canaux, citernes, eau de pluie...), dont l'état de l'eau est toujours stagnant et riche en matières organiques. Ces gîtes sont permanents ou temporaires, ombragés ou ensoleillés, remplis d'eau douce ou saumâtre, propre ou polluée (Paul, 2009). Les œufs sont fusiformes, ils ont une taille de 0.5 à 1mm. Au moment de la ponte ils sont blanchâtres et prennent rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque ; une couleur noire (Peterson, 1980 ; Himmi *et al.*, 1998).

b. larve

On rencontre des larves de moustiques dans la quasi-totalité des pièces d'eau stagnante. Les gîtes larvaires sont variés, qu'ils soient en surface ou dans des abris souterrains, en eau permanente ou temporaire, au faciès naturel ou artificiel, avec des eaux oligotrophes ou eutrophies (eaux particulièrement pauvres ou riches en éléments nutritifs). Les moustiques utilisent une large gamme d'habitats tant que ceux-ci conservent de l'eau stagnante à minima 5 jours pour de nombreuses espèces (Bacot 2017).

Le développement des larves à ce stade est exclusivement aquatique, leur déplacement est assuré par des mouvements frétilants caractéristiques, et leur évolution comporte quatre stades, de taille variant de 2mm à 12mm (Boulkenafet, 2006). Les larves vivent environ 10 jours. La rapidité du développement des larves dépend de la quantité de nourriture contenue dans l'eau du gîte (Peterson, 1980).

C. Nymph

La nymphe ou pupa est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (Boulkenafet, 2006). La nymphe, également aquatique, éphémère (de 1 à 5 jours), ne se nourrit pas. Il s'agit d'un stade de transition, au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte (Peterson, 1980).

d. Adulte

Une déchirure ouvre la face dorsale de la nymphe et l'adulte se dégage lentement. L'adulte qui vient d'émerger est plutôt mou en général, avant de s'envoler, il reste à la surface jusqu'à ce que ses ailes et son corps sèchent et durcissent. L'adulte pourra enfin voler de ses propres ailes, et leur corps est rigide grâce à la membrane chitineuse mince, il est composé de trois parties la tête, le thorax et l'abdomen bien différencié (Boulkenafet, 2006).

2.2. Technique d'élevage :

Les œufs de moustique sont récoltés dans des différents sites d'échantillonnages non traités de la ville de Tébessa. Les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients en plastique contenant d'eau déchlorurée et nourries avec du mélange biscuit 75% levure 25% (Soltani et Rehim, 1999). L'eau est renouvelée chaque deux jours. Le régime alimentaire joue un grand rôle dans la

fécondité car les protéines permettent à la femelle de pondre plus d'œufs par rapport aux femelles nourries de sucre seulement (Wiggles, 1972).



Figure7 : Sites de prélèvement Pépinière de Hammett wilaya de Tébessa (photo personnel)

2.3. Présentation de la plante (*Ruta graveolens*)

2.3.1. Nomenclature : (Guinochet et Vilmorin 1973-1984)

_ **Nom:** Rue officinale, *Ruta graveolens*

_ **Famille:** Rutacées, Rutaceae

_ **Noms populaires:** Rue fétide, herbe de la rue, rue des jardins, herbe de grâce



FIGURE 08 : les feuilles, les fleurs et les fruits de la plante *Ruta graveolens*

plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages. Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, soit des mono terpènes avec leurs phénols reliés, et des terpènes plus complexes, dont les sesquiterpènes (Chiasson et Beloin, 2007). Elles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau. Par contre, elles sont solubles dans les solvants organiques (acétone, sulfure de carbone, chloroforme, etc.) (Benayad, 2008).

2.4. Extraction des huiles essentielles et traitement

Les huiles essentielles sont extraites à partir de la partie aérienne de la plante (feuilles, fleurs et fruit) L'extraction est faite par un montage d'hydro distillation, elle est réalisée par ébullition pendant 3 heures d'un mélange de 50g de matériel végétal et 100 ml d'eau distillée. L'ensemble est ensuite porté à ébullition dans un ballon à 3 cols ou fiole d'un litre surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant.

Ce procédé va mettre en contact la matière végétale et l'eau et le tout est porté à ébullition. L'élévation de température provoque l'éclatement des cellules végétales et la libération des composés volatils. La vapeur émise composée d'huile essentielle et de vapeur d'eau va ensuite passer dans le réfrigérant. Le distillat refroidi est composé de la phase huileuse et de l'eau florale (Ralalarinivo, 2010)

2.5. Rendement des huiles essentielles

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante, évalué à partir de 3 échantillons. Le rendement, exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

$$R = P_B / P_A \times 100$$

Ou

$$R = [\Sigma P_B / \Sigma P_A] \times 100$$

R : Rendement en huile en %

P_A : Poids de la matière sèche de la plante en g

P_B : Poids de l'huile en g

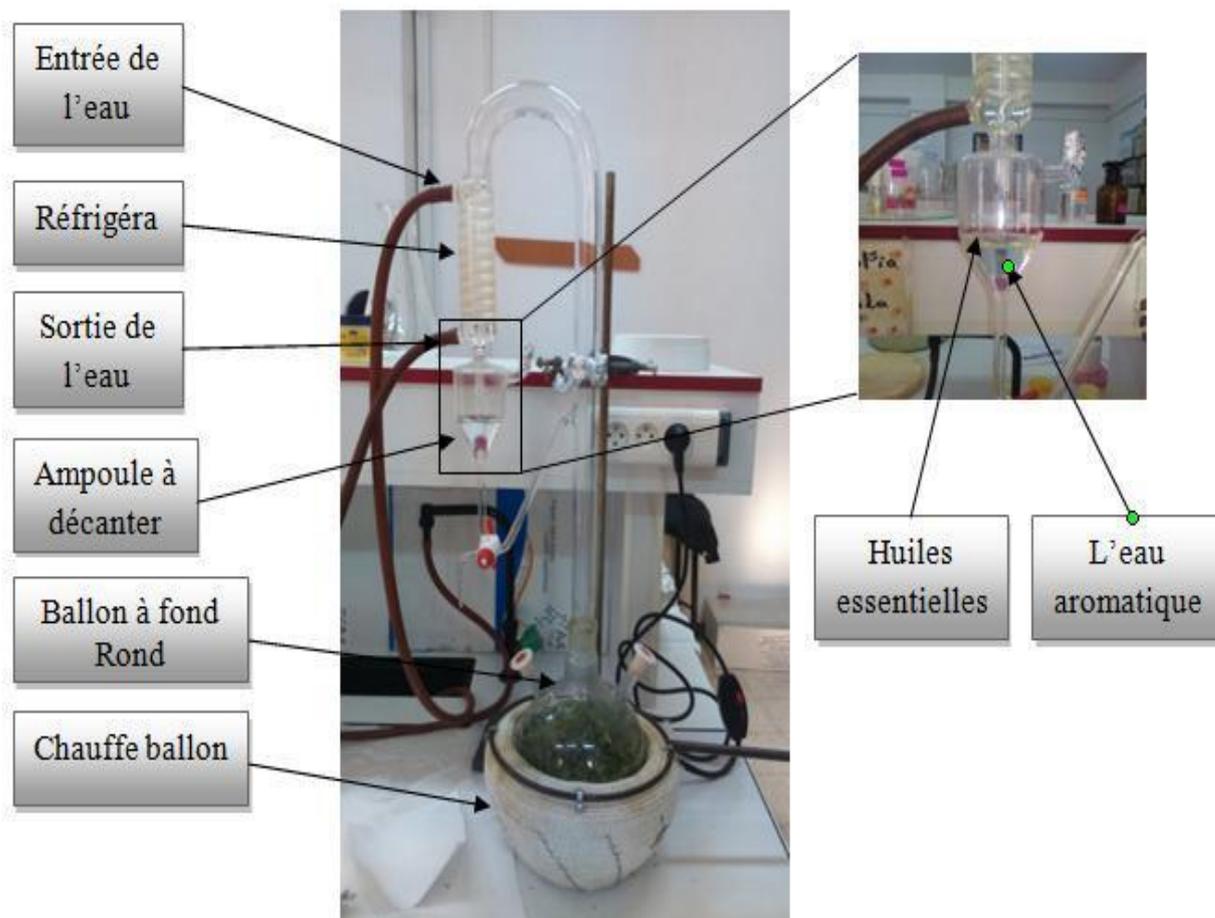


Figure 9 : Montage de l'hydro distillateur de type Clvenger

2.6. Dosage des biomarqueurs

Les larves du quatrième stade des séries témoins et traitées ont été utilisés pour le dosage de l'activité des glutathion S-transférases (GST), du taux du glutathion (GSH).

Tous les dosages ont été menés sur des échantillons biologiques prélevés à 24, 48 et 72 heures après traitement avec l'huile essentielle de *Ruta graveolens* à deux concentrations CL25 et CL50 pour les quatre stades larvaires L1, L2, L3 et L4 (Mannes & Khediri, 2018)

L1: CL25 (0,70ppm), CL50 (1,49ppm).

L2: CL25 (0,87ppm), CL50 (2,44ppm).

L3: CL25 (2,01ppm), CL50 (3,40ppm).

L4: CL25 (7,13ppm), CL50 (10,25ppm).

La concentration en protéines échantillons a été préalablement déterminée suivant la méthode de Bradford pouvoir calculer les différentes activités spécifiques.

2.6.1. Dosage des glutathion S-transférases

La mesure de l'activité des glutathion S-transférases (GSTs) est déterminée selon la méthode de Habig *et al.* (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 dinitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH) et mesurée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre visible /UV. Les échantillons des séries témoins et traitées des larves de *Culiseta longiareolata* L1, L2, L3 et L4 sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0,1 M ; pH 6). L'homogénat est centrifugé à 1400 trs/ mn pendant 30 mn et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM)/GSH (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin. La lecture des absorbances est effectuée toutes les minutes pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante:

$$X = \frac{\Delta Do/mn}{9,6} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : millimoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (mM/min/mg de protéines).

Δ Do : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB (mM⁻¹ cm⁻¹).

Vt : volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.6.2. Dosage du glutathion

Le taux du glutathion (GSH) est quantifié selon la méthode de Weckberker & Cory (1988), dont le principe repose sur la mesure colorimétrique de l'acide 2-nitro 5-mercaptopurique, résultant de la réduction de l'acide 5-5'-dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements thiol (-SH) du glutathion mesuré à une longueur d'onde de 412 nm.

Le dosage s'effectue après homogénéisation des échantillons témoins et traités des larves de *Culiseta longiareolata* L1, L2, L3 et L4 dans 1 ml d'une solution d'éthylène diamine tétra-

acétique (EDTA) à 0,02 M [7,448 g EDTA, 1000 ml eau distillée]. Afin de protéger les groupements thiols du glutathion, l'homogénat doit subir une déprotéinisation par l'acide sulfosalicylique (ASS) à 0,25 % [0,25 g ASS, 100 ml eau distillée] où 0,2 ml du ASS sont additionnés à 0,8 ml d'homogénat. Le mélange après agitation est plongé dans un bain de glace pendant 15 mn, puis centrifugé à 1000 trs/mn pendant 5 mn.

Un aliquote de 500 µl de l'homogénat (séries témoins et traitées) récupéré est ajouté à 1 ml du tampon tris/ EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm après 5 minutes de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où les 500 µl de surnageant sont remplacés par 500 µl d'eau distillée.

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do}{13,1} \times \frac{Vd}{Vh} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{ mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM / mg de protéines).

Δ Do : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13,1 : coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH)(mM⁻¹cm⁻¹).

Vd : volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisation : 0,8 ml.

Vt : volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris / EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

2.6.3. Dosage des protéines totales

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 comassie (BBC) G 250 (Merck). La solution de BBC, se prépare comme suit: 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 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 en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant 1

mg/ml (Tableau 1).

Tableau 1 : Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine (μ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (μ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine (μ g)	0	20	40	60	80	100

2.7. Analyses statistiques

Les données sont présentées sous forme de moyenne \pm écart type (SD). Test de Anova de suivie par Dunette et Ticket Toutes les statistiques ont été réalisées avec Prism V 6.01 pour Windows (Graph Pad Software Inc., www.graphpad avec un niveau significatif $p < 0,05$).

3. Résultats

3.1 Rendement en huiles essentielles

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* obtenue par un hydro distillateur de type Cl a donné un rendement de 1,06 % de la matière sèche de la partie aérienne de la plante

3.2. Effet sur le taux du glutathion

Le taux du glutathion ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 1, 2, 3 et 4 stade de *C. longiareolata* témoins et traitées (CL_{25} et CL_{50}) est enregistrée à 24, 48 et 72 heures après traitement.

La multiple comparaison des moyennes par le test Dunnett montre que l'HE de *R. graveolens* provoque une diminution très hautement significative du taux de GSH à 24 ($p < 0,001$), 48 ($p < 0,001$) et 72 heures après traitement ($p < 0,001$) et cela pour les deux concentrations létales CL_{25} et CL_{50} et pour les quatre stades larvaires.

Tableau 2 : Effet de l'HE de *R. graveolens* sur le taux de GSH ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du premier stade de *Cs longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoin	CL_{25}	CL_{50}
24	1,29 \pm 0,03 a A	0,96 \pm 0,11 b A	0,36 \pm 0,04 b A
48	0,96 \pm 0,04 a B	0,66 \pm 0,03 b B	0,30 \pm 0,03 b A
72	1,03 \pm 0,06 a B	0,28 \pm 0,07 b C	0,28 \pm 0,02 b A

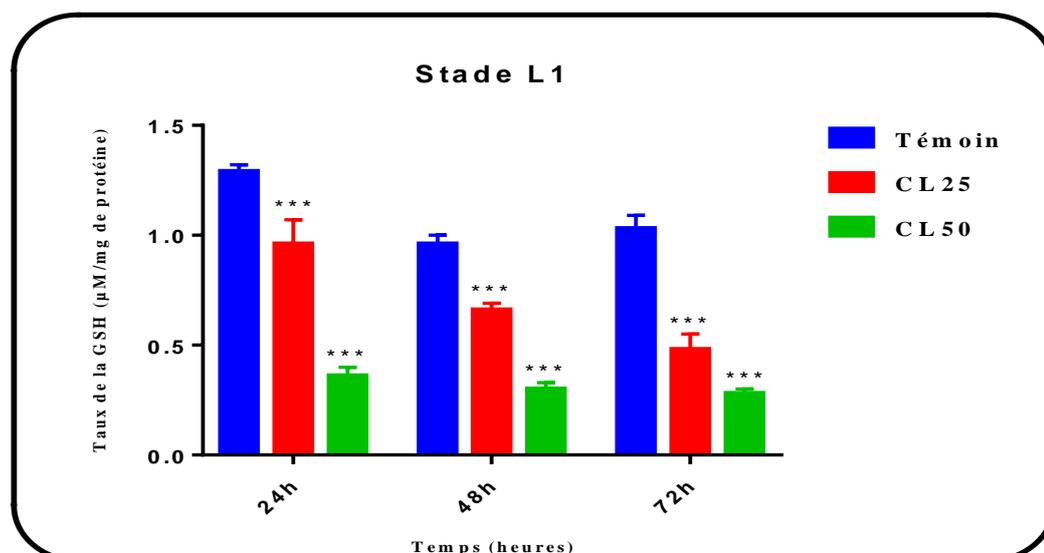


Figure 10. Effet de l’HE de *R. graveolens* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le taux de GSH (µM/mg de protéines) chez les larves 1 de *C. longiareolata* (m ± SD ; n= 3). (***) Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

Tableau 3 : Effet de l’HE de *R. graveolens* sur le taux de GSH (µM/mg de protéines) chez les larves du deuxième stade de *Cs longiareolata* (m±SD, n=3). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoin	CL ₂₅	CL ₅₀
24	2,24±0,15 a A	1,46±0,04 b A	0,89±0,06 b A
48	1,73±0,05 a A	0,69±0,08 b B	0,54±0,03 b B
72	2,04±0,07 a B	0,71±0,10 b B	0,57±0,09 b B

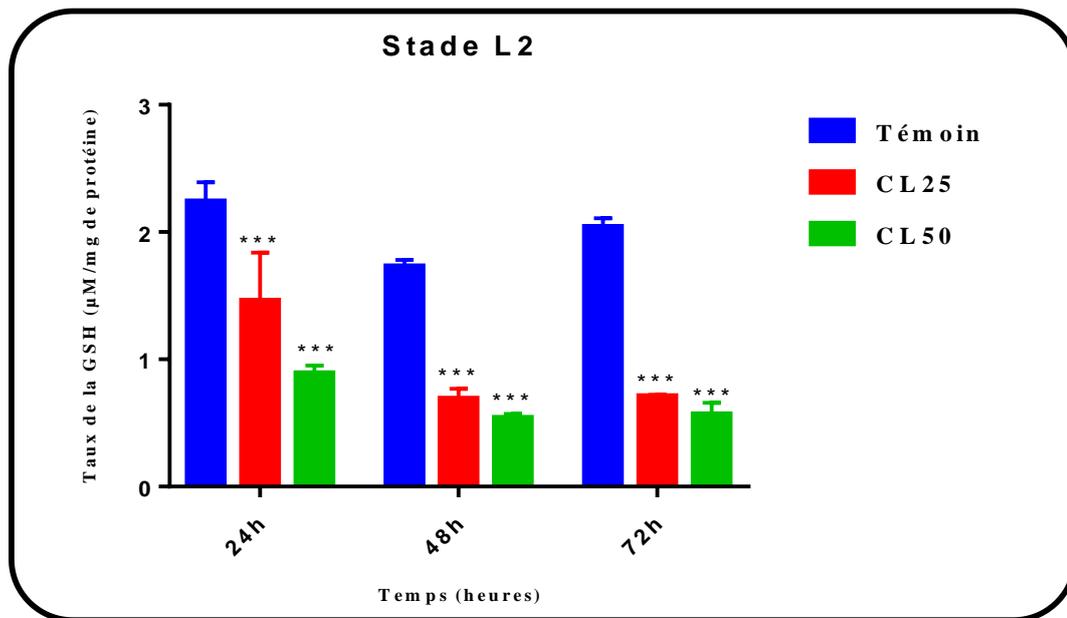


Figure 11. Effet de l'HE de *R. graveolens* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le taux de GSH (µM/mg de protéines) chez les larves 2 de *C. longiareolata* (m ± SD ; n= 3). (***) Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

Tableau 4 : Effet de l'HE de *R. graveolens* sur le taux de GSH (µM/mg de protéines) chez les larves du troisième stade de *Cs longiareolata* (m±SD, n=3). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoin	CL ₂₅	CL ₅₀
24	3,01±0,24 a A	0,27±0,08 b A	0,28±0,02 b A
48	2,78±0,13 a B	0,26±0,02 b A	0,26±0,03 b A
72	2,49±0,09 a C	0,20±0,06 b A	0,23±0,04 b A

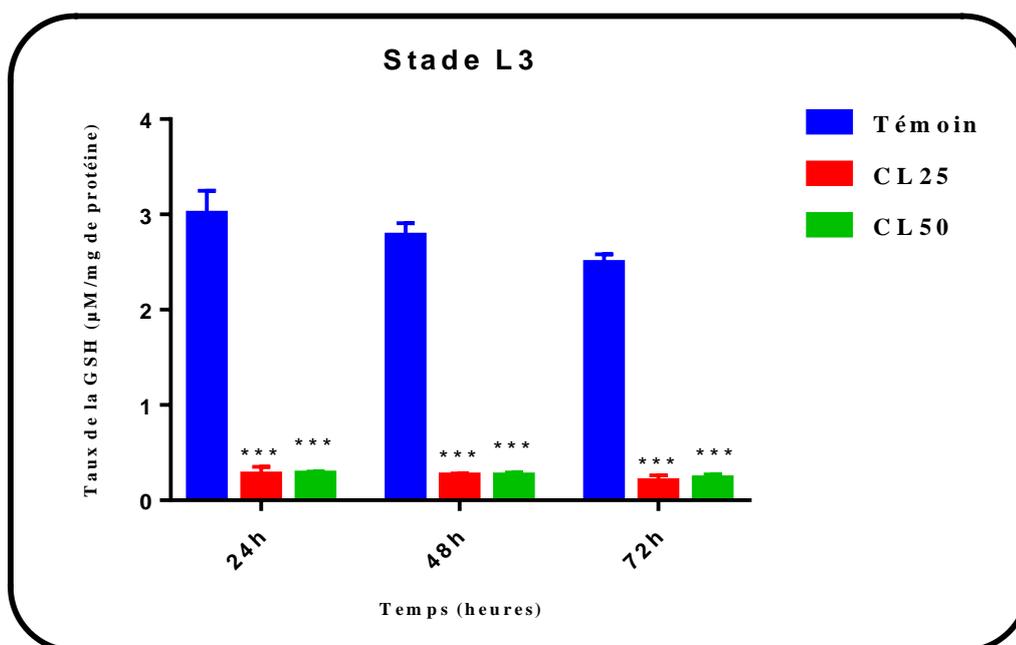


Figure12. Effet de l’HE de *R. graveolens* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le taux de GSH (µM/mg de protéines) chez les larves 3 de *C. longiareolata* (m ± SD ; n= 3). (***) Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

Tableau 5 : Effet de l’HE de *R. graveolens* sur le taux de GSH (µM/mg de protéines) chez les larves du quatrième stade de *Cs longiareolata* (m±SD, n=3). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoin	CL ₂₅	CL ₅₀
24	2,06±0,12 a A	1,29±0,10 b A	1,75±0,16 b A
48	2,27±0,19 a B	0,77±0,03 b A	1,07±0,03 b A
72	1,93±0,05 a A	0,72±0,03 b A	0,92±0,08 b B

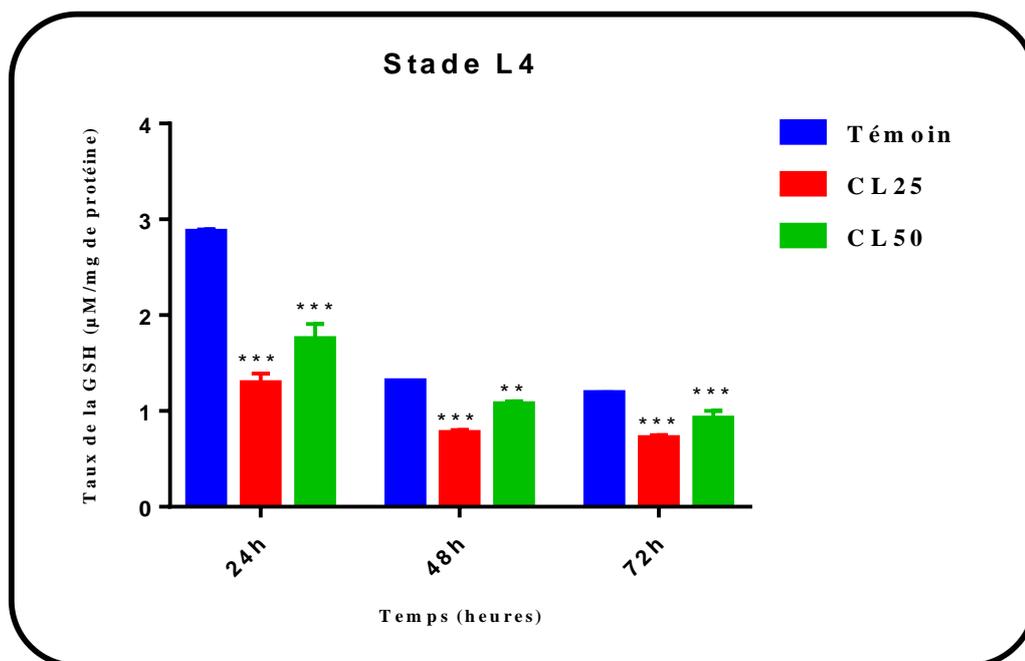


Figure13. Effet de l'HE de *R. graveolens* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le taux de GSH (µM/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* (m ± SD ; n= 3). (***) Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

3. 3. Effet sur l'activité spécifique des glutathion S-transférases

L'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéines) chez les larves 1, 2, 3 et 4 de *C. longiareolata* témoins et traitées (CL₂₅ et CL₅₀) est enregistrée à 24, 48 et 72 heures après traitement.

La multiple comparaison des moyennes par le test Dunnet montre que l'HE de *R. graveolens* provoque une augmentation très hautement significative de l'activité spécifique des GSTs à 24 (p<0,001), 48 (p<0,001) et 72 heures après traitement (p<0,001) et cela pour les deux concentrations létales CL₂₅ et CL₅₀ et pour les quatre stades larvaires.

Tableau 6 : Effet de l'HE de *R. graveolens* sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du premier stade de *Cs longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoin	CL ₂₅	CL ₅₀
24	4,70 \pm 0,04 a A	4,74 \pm 0,017 b A	5,50 \pm 0,002 b A
48	4,47 \pm 0,02 a B	5,07 \pm 0,004 b B	5,25 \pm 0,007 b B
72	3,16 \pm 0,01 a C	3,50 \pm 0,014 b C	3,62 \pm 0,003 b C

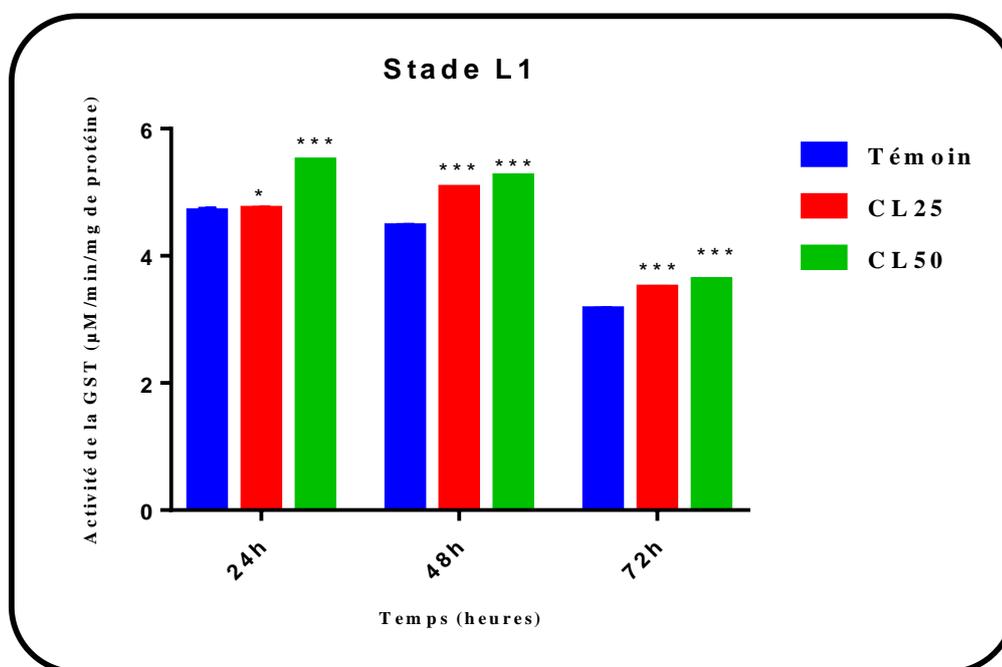


Figure 14. Effet de l'HE de *R. graveolens* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 1 de *C. longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). (***) Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).

Tableau 7 : Effet de l'HE de *R. graveolens* sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du deuxième stade de *Cs longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoin	CL ₂₅	CL ₅₀
24	4,94 \pm 0,03 a A	4,98 \pm 0,01 b A	5,52 \pm 0,02 b A
48	4,91 \pm 0,013 a A	4,97 \pm 0,04 a A	5,23 \pm 0,01 b B
72	2,56 \pm 0,004 a B	2,69 \pm 0,03 b B	2,71 \pm 0,01 b C

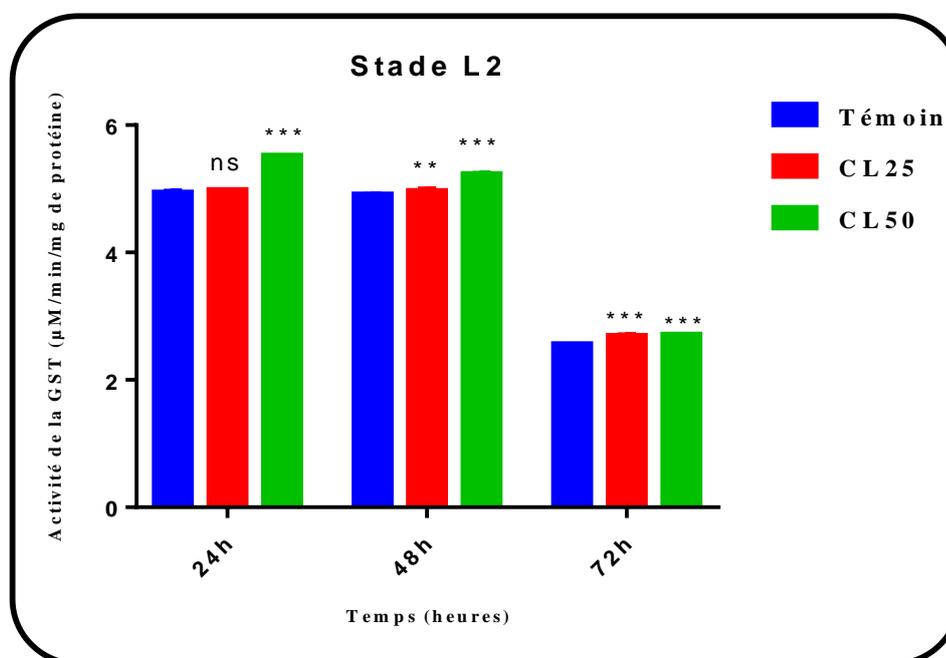


Figure 15. Effet de l'HE de *R. graveolens* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 2 de *C. longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). (ns Différence non significative ($p \geq 0,05$), *** Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).

Tableau 8 : Effet de l'HE de *R. graveolens* sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du troisième stade de *Cs longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoin	CL ₂₅	CL ₅₀
24	2,87 \pm 0,024 a A	3,02 \pm 0,004 b A	4,01 \pm 0,001 b A
48	1,31 \pm 0,004 a B	1,51 \pm 0,004 b B	2,19 \pm 0,001 b B
72	1,19 \pm 0,004 a C	1,33 \pm 0,004 b C	1,77 \pm 0,001 b C

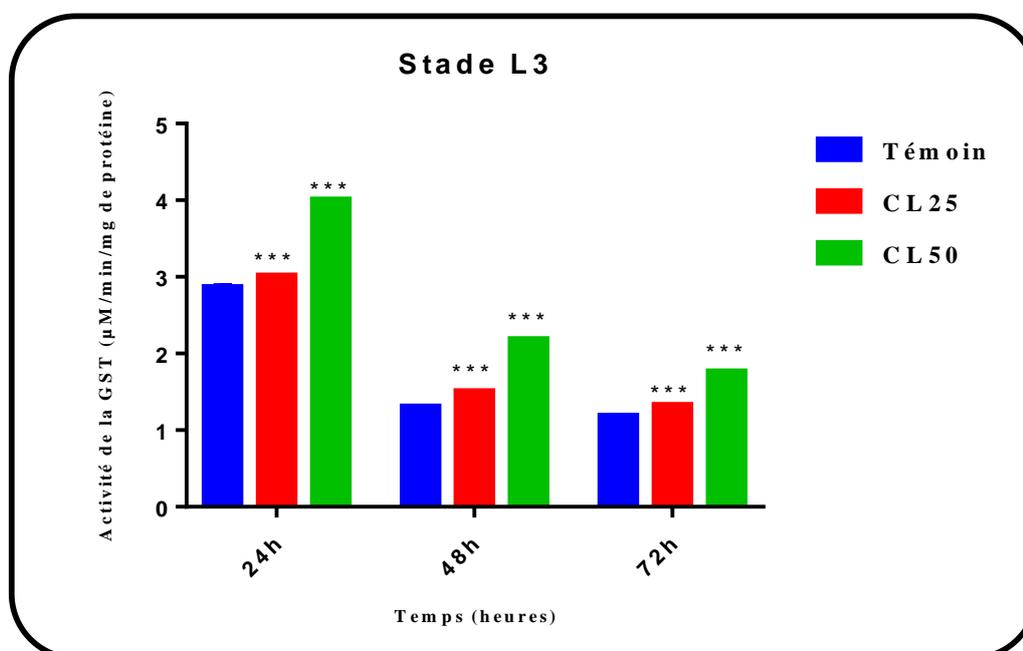


Figure 16. Effet de l'HE de *R. graveolens* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 3 de *C. longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). (** Différence hautement significative ($p < 0,01$), *** Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).

Tableau 9 : Effet de l'HE de *R. graveolens* sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de *Cs longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoin	CL ₂₅	CL ₅₀
24	0,98 \pm 0,002 a A	1,17 \pm 0,001 b A	1,62 \pm 0,002 b A
48	0,83 \pm 0,002 a B	1,52 \pm 0,001 b B	1,72 \pm 0,005 b B
72	0,48 \pm 0,002 a C	0,54 \pm 0,003 b C	0,95 \pm 0,001 b C

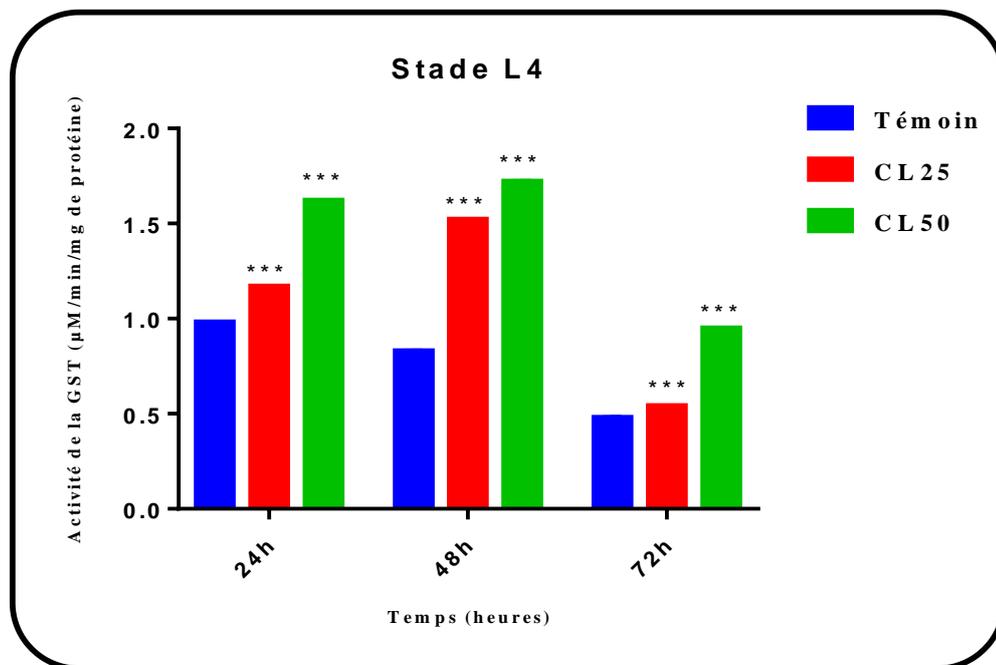


Figure 17. Effet de l'HE de *R. graveolens* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* ($m \pm \text{SD}$, $n=3$). (***) Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).

4. Discussion

4.1. Rendement en huiles essentielles

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* obtenue par un hydro distillateur de type Cl venger est de couleur jaune, claire avec une odeur agréable et avec un rendement de **1,06 %** de la matière sèche de la partie aérienne de la plante.

Merghache Salima *et al.* (2009), ont montré que *Ruta chaplenses* de la région de Tlemcen (Algérie) renferme 0,76% d'huile essentielle, ce qui est largement supérieur au rendement obtenu avec notre plante, en revanche (Daoudi *et al.*, 2016) ont montré un pourcentage de 1,04% pour *Ruta montana* dans la région de Meknes pays de maroc, ce qui est comparable au rendement obtenu dans notre étude avec *Ruta graveolens* qui est supérieur aux deux résultats précédents.

On peut constater, d'après les résultats obtenus et ceux cités par la littérature, qu'il existe une variation de la teneur en huile essentielle entre les espèces du même genre, qu'elles soient issue de la même région ou pas.

Cette différence est due du matériel employé pour l'extraction et l'origine de la plante. Ainsi que la région et la période de récolte, aussi le climat (rythme des pluies, écart de températures, nature des vents) c'est le facteur qui détermine tout ce qui concerne la végétation (Béniston *et al.*, 1984).

3.2. Effet sur les biomarqueurs

Les biomarqueurs ont été largement utilisés en écotoxicologie comme indicateurs précoces d'exposition à des substances toxiques.

Les marqueurs biologiques ou biomarqueurs concernent l'étude des changements physiologiques, biochimiques, moléculaires ou comportementaux révélant l'exposition présente ou passé d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant qui peuvent être mesurés dans les tissus ou les fluides d'un organisme ou sur l'organisme entier pour mettre en évidence l'exposition à un ou plusieurs contaminants (Lagadic *et al.*, 1997 ; Badiou, 2007 ; jean claud *et al.*, 2008)

Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathion peroxydase, la glutathion-S-transférase. Les enzymes du système de détoxification sont aussi beaucoup étudiées puisque leurs activités sont susceptibles d'être fortement modifiées après une exposition (Heylen *et al.*, 2011 ; Badiou *et al.*, 2007).

L'activité biologique d'une huile essentielle est liée à sa composition chimique qui détermine son niveau de toxicité (Akono *et al.*, 2012). L'efficacité des composés chimiques d'origine végétale contre les larves de moustiques peut varier considérablement en fonction de l'espèce végétale (Singh *et al.*, 2007 ; Yadav *et al.*, 2002), et aussi de la partie de la plante utilisée (Rajkumar *et al.*, 2005, Chowdhury *et al.*, 2008), de l'âge de ses parties (jeune, mature ou sénescence), le solvant utilisé lors de l'extraction ainsi que l'espèce cible (Choochate *et al.*, 2005; Chansang *et al.*, 2005).

Notre étude a pour but de tester l'effet d'huile essentielle extraite de *Ruta graveolens* deux concentrations CL25 et CL50 à l'égard du quatre stades larvaire de *Culiseta longiareolata* aux différents périodes (24, 48 et 72 heures).

4.2.1. Effet sur l'activité spécifique des GSTs

Les GSTs sont des enzymes multifonctionnelles impliquées dans l'étape de conjugaison du « glutathion réduit » à un grand nombre de xénobiotiques (Boyer, 2006 ; Lukowicz *et al.*, 2019). Elles sont surtout localisées dans le cytoplasme des cellules, du corps gras et des muscles alaires (Haubruge et Amichot, 1998). Elles ont un rôle important dans la détoxification de substances xénobiotiques et interviennent en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogène.

Le rôle majeur du glutathion est de convertir des composés lipophiles en molécules hydrophiles facilement excrétables (Meyer, 2018).

Le glutathion est un biomarqueur non-enzymatique qui joue un rôle primordial dans la défense intracellulaire (Gannagé-Yared *et al.*, 1998)

Dans la présente étude, l'activité spécifique des GSTs chez les larves L1, L2, L3, L4 de *C. longiareolata* traitées aux HE de la plante *Ruta graveolens*, a augmenté d'une manière significative à différentes périodes, par rapport aux témoins. Cette augmentation se traduit par une mise en place du processus de détoxification.

Les travaux antérieurs montrent des résultats similaires à ceux obtenus dans notre étude (Zibae et Bandani 2010 ; Bouayad *et al.*, 2013).

Une augmentation de l'activité des GSTs est signalée chez les larves L4 de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* traitée avec l'huile essentielle de *Lavandula dentata* (Dris *et al.*, 2017) les mêmes résultats ont été signalée chez *Xanthogaleruca luteola* traitée à l'huile de neem (Valizadeh *et al.*, 2013)

4.2.2. Effet sur l'activité spécifique des GSH

L'activité du système antioxydant peut subir une augmentation ou une inhibition sous l'effet d'un produit toxique ou un polluant, ces deux types de réponse dépendent de la durée d'exposition d'une part et de la sensibilité de l'espèce exposée d'autre part (Bouraoui *et al.* 2019 ; Sifi, K, 2009).

Le glutathion est un tripeptide soluble dans l'eau constitué de trois acides aminés ; glutamate, cystéine et glycine, produit naturellement dans le corps (Boudali, 2019).

Le glutathion est un biomarqueur non-enzymatique joue un rôle central dans le processus de défense intracellulaire. C'est le principal système impliqué dans la détoxification des ions peroxydes et dans la lutte contre le stress oxydatif (J. Haleng, 2007). Il existe sous deux formes, oxydée GSSG et réduite GSH, et ces enzymes comprennent la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion S-transférase (GST) qui sont impliqués dans la détoxification.

Une déficience en GSH expose les cellules à un risque de dommage oxydatif. Grâce à la fonction thiol (-SH) de la cystéine, le glutathion sous sa forme réduite est un composé important pour le maintien de l'équilibre redox de la cellule. Cette fonction thiol peut aussi fixer des fonctions électrophiles et sert donc à la détoxification de nombreux pesticides qui contiennent une telle fonction. Certains insecticides agissent sur un nombre très limité d'espèces, en augmentant l'activité des différentes enzymes impliquées dans la détoxification (Natacha Le Moan, 2007)

L'analyse des résultats obtenus au cours de nos expérimentations, révèle une diminution significative du taux de la GSH chez les larves L1, L2, L3, L4 de *C. longiareolata* traitées aux HE de la plante *Ruta graveolens*. La diminution du glutathion peut être expliquée par une consommation accrue de ce cofacteur par les GSTs afin de détoxifier ces biopesticides.

Dris, 2017 signalée une réduction de GSH chez les larves L4 de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* traitée avec les extraits de trois plantes : *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*. Les travaux de Kiran *et al.* (2017) observent une réduction du taux de la GSH chez *Callosobruchus chinensis* et *C. maculatus* après traitement (CL₅₀) à l'HE de *Boswellia carterii*.

5. Conclusion

En raison des problèmes liés à l'utilisation des insecticides chimiques et leur impact nocif sur la santé et l'environnement, le recours à des alternatives naturels remplissant le même rôle que celui des insecticides de synthèse, et présentant des avantages écologiques économiques, s'avère nécessaire.

L'HE de *Ruta graveolens* présentent un rendement de **1,06±0,18%** de la matière sèche de la partie aérienne

Cette HE a été testées sur les larves des premiers, deuxièmes, troisièmes et quatrièmes stades d'une espèce de moustiques la plus abondante dans la région de Tébessa *Culiseta longiareolata* Leur action est évaluée sur le système de détoxification : l'activité spécifique des GSTs et sur le taux de glutathion.

L'HE extraite de *Ruta graveolens* provoquent une réduction du taux de la GSH et une augmentation de l'activité de la GST chez les larves L1, L2, L3, L4 de *C. longiareolata* traités comparativement aux témoins.

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* présentent donc des propriétés intéressantes. Ce résultat ouvre des perspectives intéressantes pour son application dans la production du bio pesticide. L'HE montre une activité insecticide avec une relation concentration – réponse.

Nous envisageons de poursuivre cette étude afin de préciser la nature des composés responsable de cette activité par fractionnement mené en parallèle avec les tests biologiques. La voie donc reste ouverte vers la découverte de nouvelles plantes et par la suite de nouvelles molécules à effet phytosanitaire. Il serait très important d'étendre les investigations à d'autres espèces des plantes pour voir l'effet de ces bios pesticides sur d'autres insectes nuisibles. Et l'évaluation de l'activité antibactérienne, antifongique et antioxydante de cette HE.

6. Références Bibliographiques

A

A. Daoudi1, H., Hrouk1, R., Belaidi1, I., Slimani1, J., Ibijbjen1, L., Nassiri1., 2016. Valorisation de *Rutamontana* et *Rutachalepensis* : Etude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien Valorization of *Ruta montana* and *Ruta chalepensis*: Ethnobotanical study, phytochemical screening and Anti bacterial activity.

Acheuk, F., Abdellaoui, Kh., Lakhdari, W., Dehliz, A., Ramdani, M., Barika, F et Allouane, R., 2017. Potentiel bio-insecticide de l'extrait brut de la plante saharienne *Artemisia judaica* en lutte anti-vectorielle : cas du moustique commun *Culiseta longiareolata*.

Aitken T.H.G., 1954. The culicidae of Sardinia and Corsica (Diptera). Bulletin of entomological research 45(3): 437-494.

Akono Ntonga, P., Belong, P., Tchoumboungang, F., Bakwo Fils, E.M., Fankem, H., 2012. Effets insecticides des huiles essentielles des feuilles *Ocimums pp.* sur les adultes d'*Anophele sfunestuss* vecteur du paludisme au Cameroun. *J. App. Biosc.*, **59** : 4340–4348.

Alaoui Slimani, N., Joud, N., Benhoussa, A., Hajji, K., Typologie., 2017. des habitats d'*Anopheles* dans une zone urbaine (Diptera Culicidae). *Entomologiste* 1999 ; 55 ; 5 ; 181-190.

Azzouz Soumia, HALIB Samia., 2017. Inventaire de la faune culcidiene dans les palmeraies de la région de Bou Saâda, des essais de lutte.

B

Bacot Laëtitia., 2017. Les moustiques dans les ouvrages de gestion - alternative des eaux pluviales en ville.

Badiou, A., 2007. Caractérisation cinétique et moléculaire du biomarqueur acétylcholinestérase chez l'abeille, *Apis mellifera*. Thèse de Doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, FRA.

Benayad, N., 2008. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V – Agdal. Rabat, 63 p.

Beniston, NT. WS. 1984. Fleurs d’Algérie. Entreprise nationale du livre, Alger, 359 p.

Bouayad, N., Rharrabe, K., Ghailani, N.N., Jbilou, R., Castañera, P. &Ortego, F., 2013. Insecticidal effects of Moroccan plant extracts on development, energy reserves and enzymatic activities of *Plodia interpunctella*. Spanish Journal of Agricultural Research **11(1)**: 189-198.

Brunhes, J., Rhaim, A., Geoffroy, B., Angel, G., Hervy, J-P., 1999. Les moustiques de l’Afrique méditerranéen. Logiciel d’identification et d’enseignement. IRD édition.- BRUNHES

Boudali., Chibi, N., 2015. Synthèse d’un dérivé du fragment glutamique du glutathion.

Boulkenafet F., 2006. Contribution à l’étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans larégion de Skikda. Présentation pour l’obtention du Diplôme de Magister en entomologie (option; application agronomique et médicale). 191p.

Bouraoui, Z., Ghedira, J, Jebali,J., Banni,M., Clerendeau, C., Narbonne, J-F. ; et Boussetta, H., 2019. Étude de l’effet du cadmium et du benzo[a]pyrène sur des enzymes dephase I et phase II de biotransformation chez le polychète.

Bonnier, G., 1999. La Grande Flore en Couleur; Ed: BELIN; Tome: 205 - 206.

Boyer, S., 2006. Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides:

Consequences Environnementales. These pour l’obtention du Diplome de Doctorat. Université Joseph Fourier- Grenoble I, 78 p.

C

Chansang, U., Nayer, S., Zahiri, Jaree, B., Thidarat, B., Pratom, T., Jiranuch, M., Nipa, B., and Mir S. Mulla., 2005. Mosquito Larvicidal activity of aqueous extracts of long pepper (*piper reteofractum* Vahl) from Thailand.

Choochate, W., Chaiyasit, D., Kanjanapothi, D., Rattana chanpichai E., Jitpakdi, A., Tuetun, B., 2005. Chemical composition and anti-mosquito potential of rhizome extract and volatile oil derived from *Curcuma aromatic* against *Aede saegypti* (Diptera: Culicidae). *J. Vector. Ecol.*, 30: 302-9.

Chowdhury, S.S., Salahuddin, M., Jamila, M., Mazumder, M.E.H., 2008. Infrared spectroscopic characterization of chitosan extracted from the exoskeleton of *Scylla serrata*. *Primeasia Studies*.

Cseke, L.J., Kaufman P.B., Warber S., Duke J.A., Briemann H.L., 1999. Natural products from plants. *CRC Press LLC, Boca Raton, USA*.

D

Dris, D., Tine-Djebbar, F. & Soltani, N., 2017. *Lavandula dentata* essential oils: chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *African Entomology* **25(2)**: 387–394.

Dris Djemaa., 2018. Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes : *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). THESE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTORAT ES SCIENCE Spécialité: BIOLOGIE ANIMALE. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA. 165p.

F

Faisal, F Brian V., 2019. Arctic marine fish 'biotransformation toxicity' model for ecological risk assessment Valentina Pavić¹, *OrcID, Dora Flačer¹, Martina Jakovljević², Maja Molnar² and Stela Jokić² OrcID 2019 Assessment of Total Phenolic Content, In Vitro Antioxidant and Antibacterial Activity of *Ruta graveolens* L. Extracts Obtained by Choline Chloride Based Natural Deep Eutectic Solvents.

G

Gannagé-Yared, M., Khneisser, I., Salem, N., Gouyette, A., Loiselet, J., Halaby, G., 1998. Glutathion et glutathion S-transférase sanguins et leucocytaires : relation avec la cholestérolémie chez des volontaires sains. *Annales de Biologie Clinique* **56 (3)** : 321-327.

Guy Blaise, N., Coulibaly, O., 2000. Le choix des méthodes de lutte contre les pestes dans les plantations de cacao et de café au Cameroun.

H

Habig W.H., Pabs M. J & Jakoby W. B., 1974. Glutathione S-Transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249: 7130-7139.

Haubruge, E. & Amichot, M., 1998. Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. France. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* **2 (3)**: 161–174.

Heylen, D., Bevacqua, E., Pelachaud, C., Poggi, I., Gratch, J. and Marc Schröder., 2011. Generating listening behaviour. In Paolo Petta, Catherine Pelachaud, and Roddy Cowie, editors, *Emotion-Oriented Systems: The Humaine Handbook*. Springer-Verlag, Berlin, Germany.

HIMMI, O., TRARI, B., EL AGBANI & Dakki, M., 1998. Contribution à la connaissance de la cinétique et des cycles biologiques des Moustiques (Diptera, Culicidae) dans la région de Rabat-Kénitra (Maroc).

Houichiti, R., Bissati, S., 2018. Dynamique de l'agriculture et sécurité alimentaire dans la région de Ghardaïa (Sahara septentrional algérien).

I

Isman, M.B., 2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.*, **19**: 603-60.

J

J. Haleng, J. Pincemail, J.O. Defraigne, c. Charlier, J.P. ChaPelle., 2007. Le stress oxydant.

J.P. JAEG., 2019. Evaluation de la qualité et de la toxicité des médicaments vétérinaires phytothérapeutiques.

Jean claude Amiard _ claudeA miard_ Triquet corde., 2019. Les biomarqueurs dans l'évaluation de l'état écologique des milieux aquatique.

_ K _

Kiran, S., Kujur, A., Patel, L., Ramalakshmi, K. &Prakash, B., 2017. Assessment of toxicity and biochemical mechanisms underlying the insecticidal activity of chemically characterized *Boswellia carterii* essential oil against insect pest of legume seeds. *Pesticide Biochemistry and Physiology* **139**: 17-23.

_ L _

Lagadic, L.T., Caquet, J-C., et Amirad & Ramade F., 1997. Biomarqueurs en écotoxicologie: aspects fondamentaux. Collection Ecologie, Paris, Masson.

Lucie Meyer., 2018. The annual rag weeds (*Ambrosia artemisia folia* L. - *Ambrosia trifida* L.): adaptive response to chemical weeding and population genetics in agricultural environments.

Lukowicz, Céline., 2018. Rôle dimorphique du récepteur nucléaire CAR dans la régulation de l'homéostasie énergétique et des perturbations métaboliques induites par un mélange de pesticide.

_ M _

MERGHACHE, S., HAMZA, M & TABTI, F., 2009. Etude physicochimique de l'huile essentielle de *Ruta Chalpensis* L. de Telemcen, Algérie.

_ N _

Natacha Le Moan., 2007. Approches globales de l'état redox du résidu cystéine.

– P –

Peterson, E. L., 1980. A limit cycle interpretation of a mosquito circadian oscillator. *J. Theor. Biol.*, **84**: 281–310.

Poupardin, 2011. Interactions gènes-environnement chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides.

Prof Vidya Surwade, 2019. Indian Journal of Public Health Research & Development.

– R –

Rajkumar S. & Jebanesan A., 2005. Larvicidal and adult emergence inhibition effect of *Centellaasiatica Brahmi* (Umbelliferae) against mosquito *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera:Culicidae). *Afr. J. Biomed. Res.* 8: 31-3.

Ralalarinivo, J., 2017. Séroprévalence de la cysticerose et facteurs de risque associés chez un groupe de patients vus au Centre Hospitalier Régional de Référence d'Antsirabe, Madagascar.

– S –

Merghache, S., Hamza, M., et Tabti, T., 2009. Etude physicochimique de l'huile essentielles de *Ruta Chalepensis* L. de Tlemecen, Algérie.

Sifi K., 2009. Biosurveillance de la qualité des eaux du Golf d'Annaba : croissance, composition biochimique et dosage de biomarqueurs du stress environnementale chez *Donax trunculus* (Mollusque : Bivalve). Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Annaba., 229 p.

Singh, S., Kumar, S., Sunil, K. & Ram P., 2007. Toxicological and Biochemical Alterations of Cypermethrin (Synthetic Pyrethroids) Against Fresh water Teleost Fish *Colisa fasciatu sat* different season. *Yadav. W. J. Zool.*, **5 (1)** : 25- 32.

Soltani, N., Rehim, N., Drardja, H. & Bendali, F., 1999. Activité du triflumuron à l'égard de *Culex pipiens* et impacts sur deux espèces larvivoires non visées. *Ann. Soc. Entomol. Fr.* (N.S.), **35** : 59-64.

_ T _

TABTI, Fayza., 2016. Contribution à l'étude de la biodiversité et l'écologie des Culicides (Diptera, Culicidae) dans la région de Mghnia (Tlemcen).

Takhtajan, A., 2009. Flowering Plants. Ed 2: SPRINGER. P: 33 - 41, 375.

_ V _

Valizadeh, B., Sendi, J.J., Zibae, A. & Oftadeh, M., 2013. Effect of Neem based insecticide Achook on mortality, biological and biochemical parameters of elm leaf beetle *Xanthogalerucaluteola* (Col.: Chrysomelidae). *Journal of Crop Protection* **2 (3)** :319-330.

Villeneuve et Desire, Montaner y Simón, 1965. 334 p 1965 Las ciencias naturales.

Vincenzo De Feoa Francesco De Simonea Felice Senatoreb, 2002. Potential allelochemicals from the essential oil of *Ruta graveolens* (Phytochemistry).

_ W _

Weckberker G. & Cory J. G., 1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*. 40. 257–264.

Wiert, C. (2006). Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future. Ed: *WORLD SCIENTIFIC*, p: 401 - 416.

_ Y _

Yadavetal, R., Srivastava V.K., Chandra R. & Singh A., 2002. Larvicidal activity of latex and stem bark of *Euphorbia tirucalli* plant on the mosquito *Culex quinquefasciatus*. *J. Commun. Dis.* 34(4):264–269.

Yu S.J. & Abo-Elghar G.E, 2000. Allelo chemicals as inhibitors of Gluthation-S-transferase in the fall army worm. *Pestic. Biochem. Physiol*, **68**: 173-183.

_ Z _

Zibae, A., Bandani, A.R., 2010. Effects of *Artemisia annua* L. (Asteracea) on digestive enzymes profiles and cellular immune reactions of sun pest, *Eurygaster integriceps* (Heteroptera Scutellaridae), against *Beauvariabassiana*. *Bulletin of Entomological Research* **100 (2)**: 185–196.

