



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 : de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: sciences de la nature et de la vie

Filière: science biologiques

Option: Biologie moléculaire

Thème:

Étude de l'activité larvicide des huiles essentielles de *Ruta graveolens* à l'égard d'une espèce de moustique *Culex pipiens*

Présenté par:

**GAIDI** Ishak

**GOUCEM** Chouaib

Devant le jury:

**Dr. BOUABIDA H**

MCA

Université De Tébessa

Président

**Me. DJEMAA D**

MAA

Université De Tébessa

Rapporteur

**Me. SGUIER H**

MAA

Université De Tébessa

Examineur

Date de soutenance: 25/05/2017

Note :..... Mention :.....



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 : de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: sciences de la nature et de la vie

Filière: science biologiques

Option: Biologie moléculaire

Thème:

Étude de l'activité larvicide des huiles  
essentielles de *Ruta graveolens* à l'égard  
d'une espèce de moustique *Culex pipiens*

Présenté par:

**GAIDI** Ishak

**GOUCEM** Chouaib

Devant le jury:

**Dr. BOUABIDA H**

MCA

Université De Tébessa

Président

**Me. DJEMAA D**

MAA

Université De Tébessa

Rapporteur

**Me. SGUIER H**

MAA

Université De Tébessa

Examineur

Date de soutenance: 25/05/2017

Note :..... Mention :.....



تهدف هذه الدراسة إلى اختبار تأثير الزيوت الطيارة المستخرجة من *Ruta graveolens* فيما يتعلق بنوع من (*Culex pipiens*)، والأكثر وفرة في المناطق القاحلة وشبه القاحلة، جانبيين تم تحديدها.

جوانب السمية: أنشأت من خلال تحليل الاحتمالية الفتاكة تركيزات (CL 50 7 ppm) و (CL90 10PPM) في بعوض *Culex*، والزيوت الأساسية من *Ruta graveolens* سمية معرض لليرقات (المرحلة 4) في بعوض *Culex pipiens*، مع وجود علاقة بين الجرعة والاستجابة.

جوانب المورفولوجية: اعتبرت المعلمات المظهرية، وزن اليرقات رابع مرحلة من *Culex pipiens* شهود L4 ومعالجتها، وتحليل البيانات تظهر أن *Ruta graveolens* يسبب انخفاضا في هذا الوزن مقارنة بالمجموعة الضابطة.

كلمات البحث: الزيوت العطرية ، *Ruta graveolens* ، *Culex pipiens* ، قياس الأشكال، السمية.



**Abstract**

This study aims to test the effect of the essential oils extracted from *Ruta graveolens* on a mosquito *Culex pipiens*, the most abundant in the arid and semi-arid region, two aspects have been determined.

Toxicological aspects : from the analysis of probit concentrations CL 50 (7ppm) and CL90 (10ppm) in *Culex pipiens* were determined by probit analysis and *Ruta graveolens* essential oils showed toxicity to larvae (4th Stage) in *Culex pipiens*, with a dose-response relationship.

Morphometric aspects: morphometric parameters were considered, weight of fourth instar larvae of *Culex pipiens* controled and treated. The analysis of data shows that *Ruta graveolens* causes a decrease in this growth parameter compared to controls.

Key words: essential oils, *Ruta graveolens*, *Culex pipiens*, morphometry, toxicology.

# Résumé

---

## Résumé

Cette étude vise à tester l'effet des huiles essentielles extraites de *Ruta graveolens* à l'égard d'une espèce de moustique (*Culex pipiens*), le plus abondant dans la région aride et semi-aride, deux aspects ont été déterminés.

**Aspects toxicologique:** a permis d'établir grâce à l'analyse des probits, les concentrations létales CL 50 (7ppm) et CL90 (10ppm) chez *Culex pipiens*, les huiles essentielles de *Ruta graveolens* manifestent une toxicité à l'égard des larves (4ème stade) chez *Culex pipiens*, avec une relation dose-réponse.

**Aspects morphométrique:** paramètres morphométrique ont été considérés, le poids des larves du quatrième stade L4 de *Culex pipiens* témoins et traitées, l'analyse des données montre que *Ruta graveolens* provoque une diminution de ce paramètre de croissance par rapport aux témoins.

**Mots clés:** huiles essentielles, *Ruta graveolens*, *Culex pipiens*, morphométrie, toxicologique.

# *Remerciements*

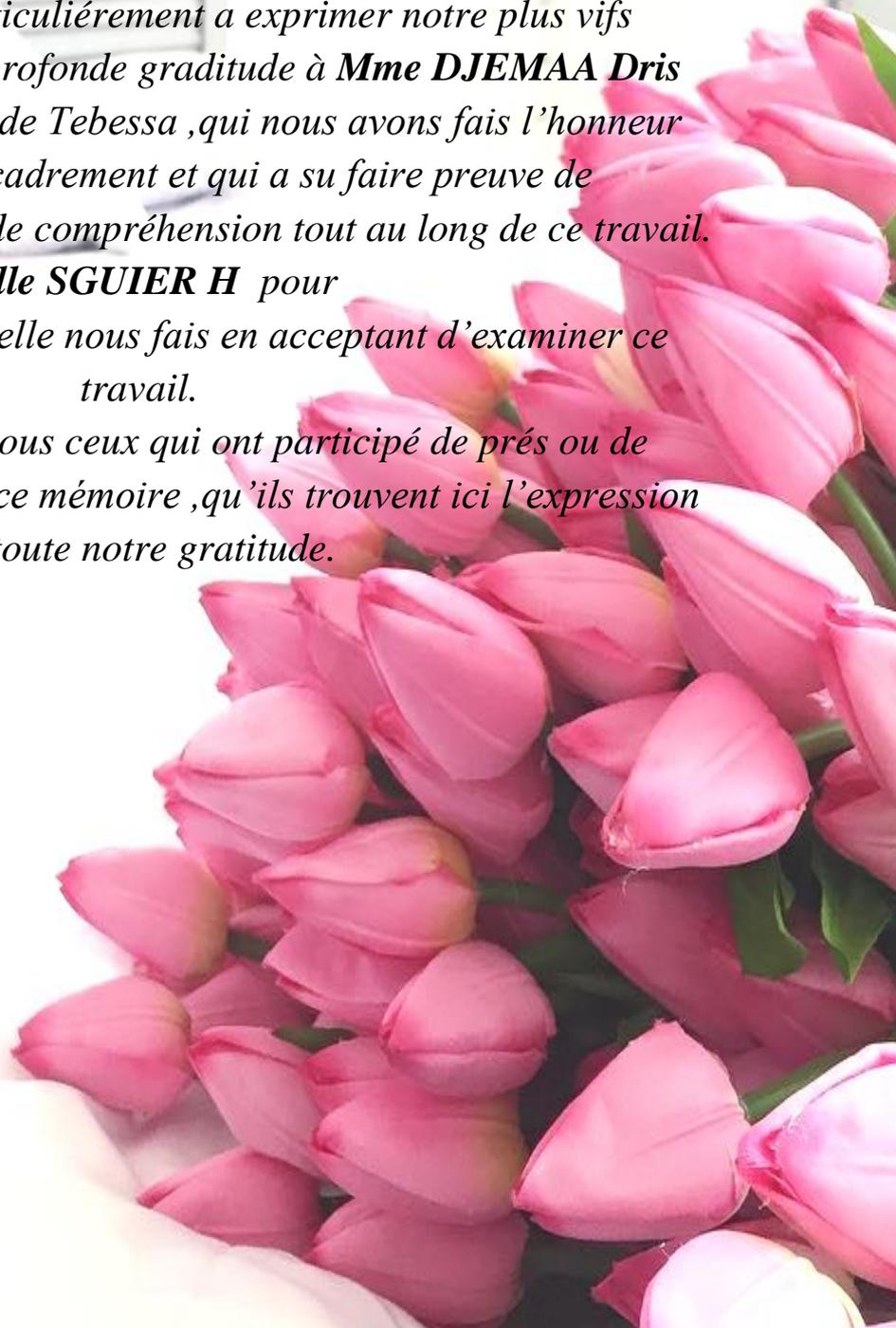
*Un grand merci à **Dieu** pour nous avoir donné tant de patience pour pouvoir continuer malgré les obstacles et les embûches.*

*Ce travail a été effectué au laboratoire de molécules bioactives et applications de l'université de Tebessa, nous remercions vivement **Mme BOUABIDA Hayette** pour d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Nous tenons tout particulièrement à exprimer notre plus vif remerciement et notre profonde gratitude à **Mme DJEMAA Dris**, enseignante à l'université de Tebessa, qui nous avons fait l'honneur d'assurer notre encadrement et qui a su faire preuve de patience, d'indulgence et de compréhension tout au long de ce travail.*

***Melle SGUIER H** pour l'immense privilège qu'elle nous fait en acceptant d'examiner ce travail.*

*Un grand merci pour tous ceux qui ont participé de près ou de loin de la réalisation de ce mémoire, qu'ils trouvent ici l'expression de toute notre gratitude.*



# *Dédicace*

*Je dédie ce modeste travail*

*À mes parents, mes estimes pour eux sont immenses, je vous remercie  
pour tout ce que vous avez fait pour moi.*

*Que dieu vous préserve une longue vie heureuse.*

*À ma très chère sœur . À qui je souhaite une vie pleine de bonheur,  
de prospérité et de réussite.*

*À mon binôme ishak.*

*À tous mes amis : Bilal , Chaouki, Elourdi, Sayef Hamza heba  
khwala .*

*Je vous dédie ce travail et vous souhaite un avenir à la hauteur de  
vos ambitions.*

*Que notre amitié dure À Toute ma famille,*

*Tous ceux que j'aime, qui m'aiment et me comblez de conseils*

*À tous ceux qui, un jour, ont pensé à moi, les plus beaux mots ne  
sauraient exprimer ma redevance.*

*À moi*

*Chouaib*

# Dédicace

Je dédie cet humble travail :

À mes chères et respectueux parents vraiment aucune dédicace ne saurait exprimer mon attachement, mon amour et mon affection.

à ma chère mère Allah yarhemha, qui m'a toujours poussé et motivé dans mes études. J'espère que, du monde qui est sein maintenant, elle apprécie cet humble geste comme preuve de reconnaissance de la part d'un fils qui a toujours prié pour le salut de son âme. Puisse dieu, le tout puissant, l'avoir miséricorde.

À mon cher père pour son encouragement et son soutien et son amour. Sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.

À ma chère cousine Hanen. Pour les efforts qu'elle a consentis pour m'aider en passant des nuits blanches en ma compagnie pour m'aider et m'encourager.

À mon binôme Chouaib, et un grand merci pour leur aide.

À mes grandes mères :

Aljiaï et Chahla les plus grands cœurs au monde qui sont la toujours avec nous.

À mes chers frères et sœurs : Idriss, Yaakoub, Yasaa, Dounia, Douaa. Tous mes souhaits de bonheur, et de succès, que dieu puisse vous protéger.

À mes chères cousines : Khouloud, Abir, Khaoula.

À mes tantes : Khadija, Fateha, Sameh, Kayet, Moulida.

À mes chers oncle : Mouhidinne, Faisal, Khalil, Saleh.

À tous mes amis, mes proches, et mes camarades, en souvenir de tout ce qu'on a pu partager.

SSKAK



## Liste des tableaux

### Liste des tableaux

Tableau	N°
<b>Tableau 1</b> : Position systématique de <i>Cx. pipiens</i> .	5
<b>Tableau 02</b> : Effet des huiles essentielles extraites de <i>Ruta graveolens</i> (ppm) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> ( $m \pm \text{sem}$ , $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	16
<b>Tableau 03</b> : Effet des HE extraites de <i>Ruta graveolens</i> (ppm) appliquées sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Cx. pipiens</i> . Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ( $m \pm \text{sem}$ , $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	17
<b>Tableau 04</b> : Effet des huiles essentielles extraites de <i>Ruta graveolens</i> (ppm) chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> Analyse de la variance des données.	17
<b>Tableau 05</b> : Effet des HE extraites de <i>Ruta graveolens</i> (ppm) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> : transformation en probits des mortalités ( $m \pm \text{sem}$ , $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus)	18
<b>Tableau 06</b> : Effet des HE extraites de <i>Ruta graveolens</i> (ppm) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> : transformation en probits des mortalités ( $m \pm \text{sem}$ , $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	18
<b>Tableau 07</b> : Efficacité des HE extraites de <i>Ruta graveolens</i> sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Culex pipiens</i> , analyse des probits.	18
<b>Tableau 08</b> : Effet de <i>Ruta graveolens</i> (CL50) sur le poids corporel (mg) des individus de quelques stades chez <i>Cx. pipiens</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).	19

## Listes des figures

---

### Listes des figures

Figure	N°
<b>Figure 01</b> : Tergites abdominaux DE <i>Culex pipiens</i>	4
<b>Figure 02</b> : Mentum de <i>Culex pipiens</i>	4
<b>Figure 03</b> : Ecailles du 8ème segment abdominal de <i>Culex pipiens</i>	5
<b>Figure 04</b> : <i>Siphon de Culex pipiens</i>	5
<b>Figure 05</b> : Cycle de développement biologique du moustique <i>Culex pipiens</i>	8
<b>Figure 06</b> : Sites d'élevage des moustiques	9
<b>Figure 07</b> : feuilles de <i>Ruta graveolens</i>	10
<b>Figure 08</b> : Montage de l'hydrodistillateur de type.Clevenger	11
<b>Figure 09</b> : Courbe de référence expriment les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations	19
<b>Figure 10</b> : Effet de <i>Ruta graveolens</i> (CL50) sur le poids corporel (mg) des individus de quelques stades chez <i>Cx pipiens</i> ( $m \pm SD$ , n=3): comparaison des moyennes*Différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les séries témoins et traitées.	20

## Liste des abréviations

---

### Liste des abréviations

---

<b>mm</b>	Millimètre
<b>L<sub>4</sub></b>	Larvaire quatrième stade
<b>ml</b>	Millilitre
<b>C°</b>	Degré Celsius
<b>cm</b>	Centimètre
<b>C<sub>x</sub></b>	<i>Culex pipiens</i>
<b>H</b>	heure
<b>CL</b>	concentrations létales
<b>DL</b>	Dose létale
<b>Log</b>	Logarithme
<b>USA</b>	United States of America
<b>Ppm</b>	partie par million
<b>HE</b>	huiles essentielles
<b>Ddl</b>	Degré de liberté
<b>Mg</b>	Milligramme
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la Santé
<b>G</b>	Gramme

---

# Table de matière

---

TABLE DE MATIERE

ملخص

ABSTRACT

RESUME

REMERCIEMENTS

DEDICACE

LISTE DES TABLEAUX

LISTES DE FIGURE

LISTE DES ABREVIATIONS

INTRODUCTION

2. Materiel et methodes	3
2.1. Présentation de l'insecte	3
2.2. Techniques d'élevage	8
2.2.1. A l'état larvaire	8
2.3 Présentation de plante	9
2.4 Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	10
2.5 Rendement des huiles essentielles	12
2.6. Tests de toxicité	13
2.7. Etude morphométrique	14
2.8. Analyse statistique	14
3. Resultats	16

## Table de matière

---

3.1. Rendement en huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i>	16
3.3. Effet de <i>Ruta graveolens</i> sur la Croissance pondérale des larves du quatrième stade	19
4. Discussion	21
4.1. Rendement en huiles essentielles	21
4.2 Toxicité des huiles essentielles extraites de <i>Ruta graveolens</i>	21
4.3 Effet des huiles essentielles extraites de <i>Ruta graveolens</i> la croissance et le développement	23
Conclusion	26
References bibliographiques	28

# Introduction

---

## Introduction

Les insectes sont les premiers Arthropodes à avoir peuplé la terre (**Iecointre, 2001**). Parmi ces insectes on peut trouver les Culicidae qui sont des Mécoptéroïdes Nématocères remarquables par l'évolution progressive qui affecte parallèlement l'imago et la larve. Ils occupent la première place, soit par le rôle de vecteur d'organismes pathogènes de certains de ses représentants, soit par la nuisance d'autres. Au cours des dernières années, le moustique est devenu très répandu dans la région présaharienne et peut menacer de propager des maladies graves (**Merabeti, 2011**).

Les moustiques font partie de la classe des hexapodes, de l'ordre des Diptères, et de la famille des Culicidés (**Lacey & Orr, 1994**). Ils sont des vecteurs de plusieurs agents pathogènes puisque leurs caractères hématophages leur confèrent l'état d'ectoparasites temporaires, transmettant à l'homme et aux animaux diverses maladies. La malaria avec 300-500 millions de cas infectés et 1,5-2,7 million de morts par année, la filariose lymphatique avec 120 cas, la dengue avec 50 millions de cas et la fièvre jaune (**Nuttall, 1997 ; Govindarajan, 2010**).

Pour lutter activement contre les Culicidae plusieurs méthodes ont été entreprises dans le monde, comprenant la lutte chimique et la lutte biologique (**Berliner, 1915**). Les insecticides chimiques sont la principale stratégie de contrôle. Cependant, leur utilisation massive et continue a provoqué divers inconvénients, comme les risques de contamination ou accumulation dans le sol, l'eau et les denrées récoltées, le développement de résistances ou encore les risques pour la santé des travailleurs agricoles (**Carlos, 2010**). Ces dangers ont conduit l'OMS (Organisation mondiale de la Santé) à interdire l'usage de certains insecticides chimiques et 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 (**Crosby et al., 1966**). Cette recherche s'est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles actives, non polluantes et s'utilisant dans une lutte moins nocive et plus raisonnée. La lutte biologique prend diverses formes, par l'utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels (**Lacey & Orr, 1994**) des bactéries : *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* et *Bacillus sphaericus*, du poisson larvicide *Gambusia affinis* (**Coykondall, 1980 ; Bendali et al., 2001**), mais celle qui retient l'attention des chercheurs à l'heure actuelle est la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles

## Introduction

---

d'origines végétales qui sont les métabolites secondaires (huile essentielles, flavonoïdes ,tanins...).

Dans ce contexte, notre travail s'intéresse à évaluer les réponses des populations d'une espèce de moustique, *Culex pipiens* à l'impact d'un nouvel insecticide à base d'huiles essentielles d'une espèce de *Ruta graveolens* sur :

1. L'aspect toxicologique pour déterminer les concentrations létales CL50 (concentrations létale de 50% de la population) et CL90 (concentrations létale de 90% de la population) des huiles essentielles de *Ruta graveolens* à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culex pipiens*.
2. Impact de la concentration létal CL50 sur la croissance pondérale

### 2. MATERIEL ET METHODES

#### 2.1. Présentation de l'insecte

L'Ordre des Diptères regroupe tous les insectes communément appelés Mouches, Moucheron et Moustiques (**Dalik, 1996**). Les culicidés ou moustiques se divisent en trois sous-familles, les *Toxorhynchitinae*, les *Anophelinae* et les *Culicinae* (**Boulknaft, 2006**). Environ 3000 espèces des *Culicidae* sont connues dans le monde, la faune de l'Afrique de nord est composée de 66 espèces appartenant à deux sous-familles, en sept genres et en dix-sept sous genres dont sa richesse spécifique varie considérablement d'un pays à l'autre (**Boulknaft, 2006**).

En Algérie, seules les deux sous-familles *Culicinae* et *Anophelinae* sont représentées avec six genres (**Boulknaft, 2006**).

De plus, au niveau des différentes stations d'étude de la région de Tébessa, toutes les espèces récoltées sont de la même catégorie : *C. Annulata*, *Cx. hortensis*, *C. longiareolata* et *Cx. pipiens*. *C. longiareolata* est l'espèce la plus abondante dans presque tous les gîtes prospectés, suivie de l'espèce *Cx. pipiens* la mieux représentée parmi l'ensemble des espèces, elle se rencontre dans la majorité des gîtes (**Bouabida et al., 2012**).

Dans cette perspective, le matériel biologique est représenté par une espèce de moustique *Culex pipiens*.

*Culex pipiens* est le moustique le plus fréquent dans le monde (**Faraj et al., 2006**). Il est capable de se développer dans toutes les régions du globe, excepte celles où il règne un froid trop (**Resseguier, 2011**) ; il se développe aussi bien dans le milieu dulçaquicoles, c'est-à-dire que les gîtes préimaginaux sont en eaux douces et saumâtres : ce sont de petits gîtes naturels (fosses, mares, flaques d'eau) ou artificiels (bassins, réservoirs, récipients, vieux pneus remplis d'eau de pluie, situés en général à proximité des habitations) (**Moulinier, 2003 ; Faraj et al., 2006**).

*Cx pipiens* est un insecte à métamorphose complète, c'est-à-dire que les larves sont très différentes des adultes (**Kettle, 1995**). Cet espèce rurale a activité nocturne est domestique, c'est-à-dire qu'elle hiverne dans les habitations (**Bussieras & Chermette, 1991 ; Kettle, 1995**). *Cx pipiens* est actif pendant toute l'année et atteint son maximum de développement pendant les saisons chaudes les mois d'été et d'automne (**Faraj et al., 2006**). Leur développement est lié à la présence d'eau (**Bussieras & Chermette, 1991 ; Kettle, 1995**).

## Matériel et méthodes

*Cx pipiens* (Linné, 1758) existe sous deux formes : la forme *molestus*, anthropophile, autogène, sténogame (peut s'accoupler dans des espaces confinés), urbaine et reste en activité durant la période hivernale (homodynamique). La forme *pipiens*, ornithophile, anautogène,

eurygame (s'accouple en plein air) et entre en diapause pendant l'hiver (hétérodynamique) (Byrne & Nichols, 1999 ; Schaffner *et al.*, 2001).

Cet espèce multivoltine le mâle se nourrit exclusivement de suc et de nectar extrait de plantes, et meurt après la copulation. La femelle peut vivre de 3 semaines à 3 mois selon la température et la quantité de gîtes, elle se nourrit du suc des plantes et est en plus hématophage (Ripert, 1998). La prise d'un repas de sang est nécessaire à la maturation des œufs (Carnevale & Robert, 2009).

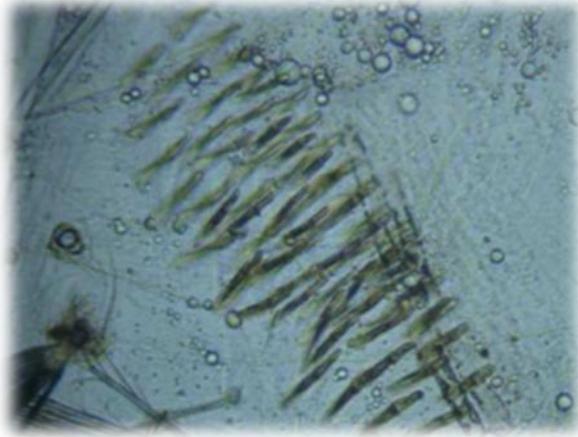
L'adulte de *Culex pipiens* caractérise par le tergite III avec une bande antérieure claire (figure 1). Chez les larves, le mentum contient 8 dents ou plus de part et d'autre de la dent médiane (figure 2); les écailles du 8<sup>ème</sup> segment sont toutes sans épine médiane (figure 3) ; la dent distale du peigne siphonal est formée de 3 à 5 denticules basaux et l'indice (longueur/largeur) du siphon est de 4,6 à 5,9 in Tine –Djebber (2009). Le siphon respiratoire est à bord droit ou convexe (figure 4).



**Figure 01 :** Tergites abdominaux DE *Culex pipiens* (Gr : X 15) (Tine – Djabbar, 2009)



**Figure 02 :** Mentum de *Culex pipiens* (Gr : X 300) (Tine –Djabbar, 2009)



**Figure 03 :** Ecailles du 8ème segment abdominal de *Culex pipiens* (Gr : X 200) (Tine –Djabbar, 2009)



**Figure 04 :** Siphon de *Culex pipiens* (Gr : X10) (Tine –Djabbar, 2009)

### ➤ Position systématique

La position systématique de *Cx. pipiens* est la suivante :

**Tableau 1.** Position systématique de *Cx. pipiens*.

---

<b>Règne</b>	Animalia
<b>Sous-règne</b>	Metazoa
<b>Embranchement</b>	Arthropoda
<b>Sous-embranchement</b>	Hexapoda
<b>Super-classe</b>	Protostomia
<b>Classe</b>	Insecta
<b>Sous-classe</b>	Pterygota
<b>Infra-classe</b>	Neoptera
<b>Super-ordre</b>	Endopterygota
<b>Ordre</b>	Diptera
<b>Sous-ordre</b>	Nematocera
<b>Infra-ordre</b>	Culicomorpha

---

## Matériel et méthodes

---

<b>Famille</b>	Culicidae
<b>Sous-famille</b>	Culicinae
<b>Genre</b>	<i>Culex</i>
<b>Espèce</b>	<i>Culex pipiens</i> (Linné, 1758).

---

### ➤ Cycle de développement

La vie de *Cx pipiens* passe par plusieurs stades : œufs, larves et nymphes qui sont aquatique et l'adulte qui a une vie aérienne (**figure 5**) (**Jolivet, 1980**).

**Les œufs :** Suite à l'accouplement qu'a eu lieu de temps après l'émergence des adultes, chaque femelle étant fécondée une seule fois pour toute sa vie (**Schaffner et al., 2001**). Les femelles fécondées déposent leurs œufs  $0.47 \pm 0.07$  mm de long et  $0.14 \pm 0.05$  mm de large (**Bendali, 1989**), perpendiculairement à la surface de l'eau (**Urquhart et al., 1996 ; Wall & Shearer, 1997**), sous forme cylindrique et de couleur blanchâtre au moment de la ponte, après quelque heures la coloration devient grisâtre ou noirâtre ceci due à l'oxydation de certains composants chimiques de la thèque au contact de l'eau ou l'air. Le nombre des œufs déposés varie entre 200 et 400 qui peuvent éclore en moins de 2 journées après leur ponte lorsque les conditions favorables (**Guistevitch et al., 1974 ; Rhodain & Perez, 1985 ; Himmi, 1995**). L'œuf est pourvu d'un opercule qui s'ouvre vers le bas au moment de l'éclosion et la larve dégage ce dernier grâce à une épine chitineuse qui se situe au niveau de la tête (**Rhodain & Perez, 1985**).

**Les larves :** La vie du moustique au stade larvaire est inférieure à 10 jours : l'évolution de la larve s'accomplit en 4 stades de développement L1, L2, L3 et L4, séparés par une mue, lui permettant de passer d'environ 2 à 12 mm. Les larves sont mobiles et respirent à la surface de l'eau par l'intermédiaire d'un siphon respiratoire situé à l'extrémité de l'abdomen. Elles se déplacent par saccades et se nourrissent de diverse micro-organismes (particules végétales, bactérie et levures) (**Urquhart et al., 1996 ; Andreo, 2003**). Les larves sont apodes, se déplacent rapidement et leur pièces, buccales sont de types broyeur. Le corps de la larve est constitué de 3 parties : la tête incluse dans une capsule sclérotinisée, le thorax comprenant 3 segments fusionnés et l'abdomen pourvu de 9 segments : le dernier segment abdominal est

## Matériel et méthodes

---

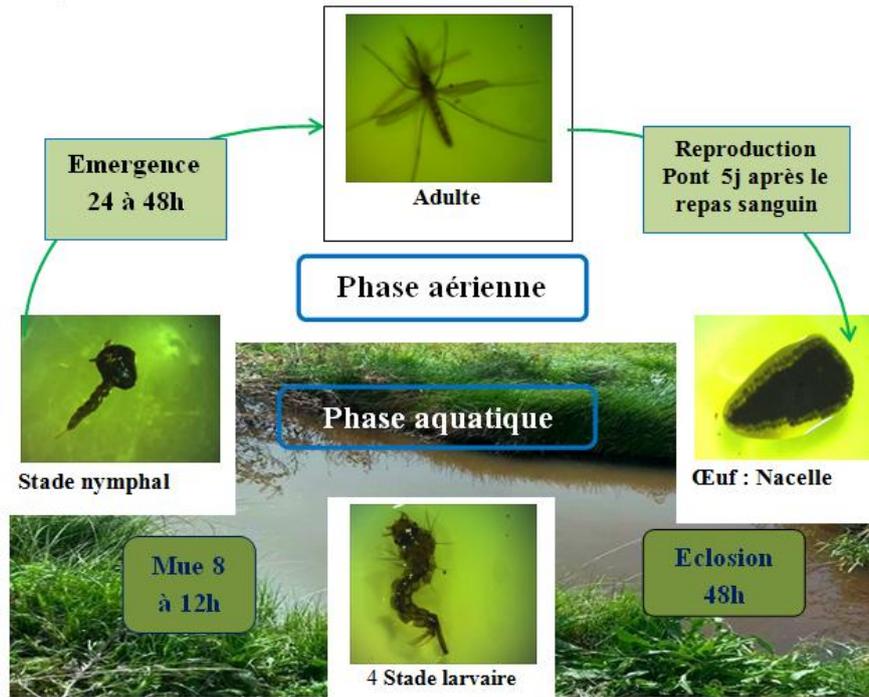
courbé ventralement à son extrémité postérieure ou se situe l'anus. Après chaque mue, la larve se fixe à proximité de l'exuvie abandonnée et au terme de cette période se métamorphose en nymphe (**Rhodain et Perez, 1985**).

**Les nymphes :** La nymphe ou pupa également aquatique, a une forme de point d'interrogation (**Euzeby, 2008**) et mobile mais ne s'alimente pas durant toute la durée de ce stade, qui varie entre 2 à 5 jours. Elle prélève l'air atmosphérique grâce à deux trompettes respiratoires situées sur le céphalothorax (**Urquhart et al., 1996 ; Cachareul, 1997 ; Wall & Shearer, 1997**). Son corps est constitué de 2 parties : un large céphalothorax (antennes, trompe, pattes et ailes) et l'abdomen est sous forme d'une queue permettant de distinguer les sexes. Chez les femelles la queue est plus courts (**Guitsevitch et al., 1974 ; Rhodain & Perz, 1985**). Le stade nymphal est un stade de transition au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de très profondes transformations morphologiques

et physiologiques qui l'amènent du stade larvaire, aquatiques et saprophyte, à la forme adulte, aérienne et habituellement hématophage chez les femelles (**Alayat, 2012**). A la fin de ce stade, le tégument se dessèche alors au contact de l'air et il se forme une déchirure en T sur sa face dorsale sous l'effet de l'augmentation de la pression interne (**Bussieras & Chermette,**

**1991 ; Georgi & Georgi M.E ; Kettle, 1995**). Par cette ouverture, le moustique adulte dégagera successivement son thorax, sa tête, ses pattes, son abdomen, abandonnant dans l'eau l'exuvie nymphal. Ce phénomène de l'émergence dure environ 15 minutes durant lequel l'insecte se trouve exposé sans défenses à de nombreuses prédateurs de surface (**Vinogradova 2003; Smith & Fonseca, 2004 ; Amraoui, 2012**).

**Les adultes :** Les adultes du *Cx pipiens*, comme tous les diptères, possèdent une seule paire d'ailes membraneuses longues et étroites pourvues d'écailles le long de ses nervures, repliées horizontalement au repos. La deuxième paire est réduite à une paire de balanciers (**Harbach, 2007**). Ils possèdent un corps mince se divise en trois parties : la tête, le thorax, l'abdomen, de taille moyenne environ 9 mm, globalement brun clair et des pattes longues et fines (**Wolfgang & Werner, 1988 ; Balenghien, 2007**). Ils se reconnaissent facilement par la présence d'écailles sur la majeure partie de leur corps. Au niveau de la tête, l'imago se différencie des autres familles de diptères par des antennes longues, fines et articulées. Les femelles se distinguent facilement des mâles par la présence des antennes plumeuses. Elles possèdent de longues pièces buccales caractéristique de type piqueur-suceur (**Harbach, 2007**).



**Figure 05.** Cycle de développement biologique du moustique *Culex pipiens* (x40).

## 2.2. Techniques d'élevage

### 2.2.1. A l'état larvaire

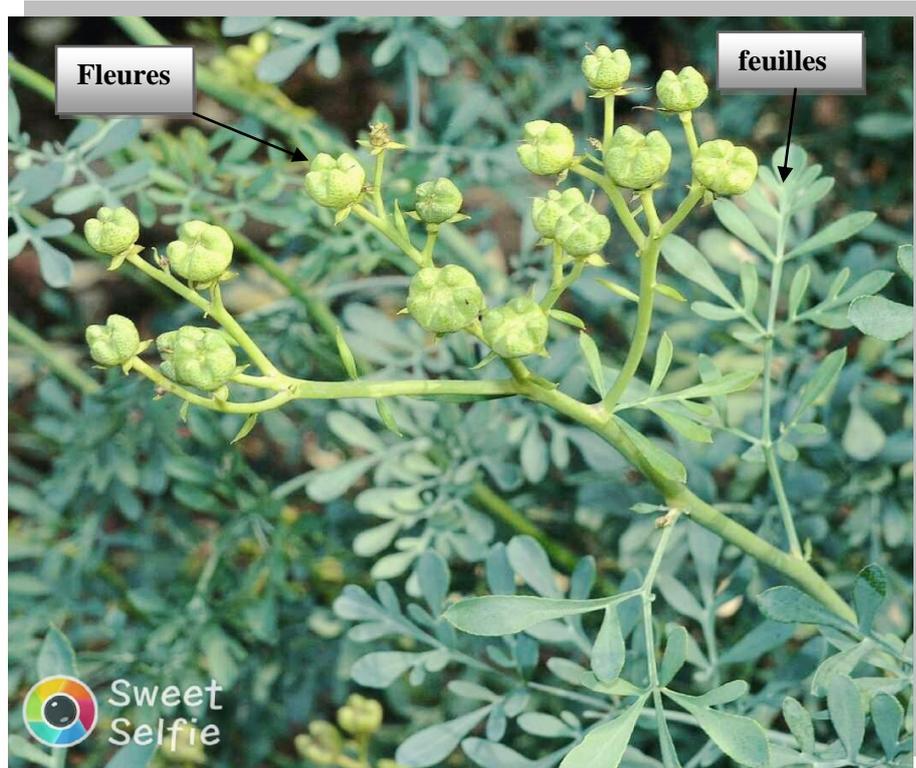
Les œufs et les larves de moustiques sont récoltés dans des sites situés au niveau de différentes régions de la ville de Tébessa (**figure 6**). Les larves sont élevées dans des récipients contenant 150 ml d'eau déchlorurée et nourries avec 0,04 g du mélange biscuit 75% - levure 25% (**Rehimi & Soltani, 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**).



**Figure 06 :** Sites d'élevage des moustiques (photo original)

### 2.3 Présentation de plante

Le nom Ruta viendrait du mot grec reuo = libérer; graveolens veut dire «à odeur forte». La rue officinale est une plante vivace initialement originaire des Balkans, qui a été introduite par les Romains en Italie, et plus tard également au nord des Alpes. On ne la rencontre toutefois à l'état sauvage que dans les endroits chauds et plutôt secs, sur les versants rocheux de la région méditerranéenne, en Italie. La rue, à feuilles persistantes, a une tige ligneuse à la base, résiste au froid hivernal et n'est pas exigeante d'une manière générale, les feuilles peuvent être récoltées en permanence à partir de mai. Il faut faire sécher sans attendre les feuilles dans un endroit ombragé et bien aéré.



**Figure 07 : feuilles de *Ruta graveolens* (photo original)**

**Systématique:** (WIART, 2006; BONNIER, 1999; TAKHTAJAN, 2009)

**Règne :** Plantae

**Sous règne :** Tracheobionta (plantes vasculaires)

**Super division :** Spermatophyta (plantes à graine)

**Division :** Magnoliophyta (plantes à fleurs)

**Sous division :** Angiospermae

**Classe :** Magnoliopsida (dicotylédons)

**Sous classe :** Rosidae

**Super ordre :** Rutanae

**Ordre :** Sapindales

**Famille :** Rutaceae

**Genre :** *Ruta*

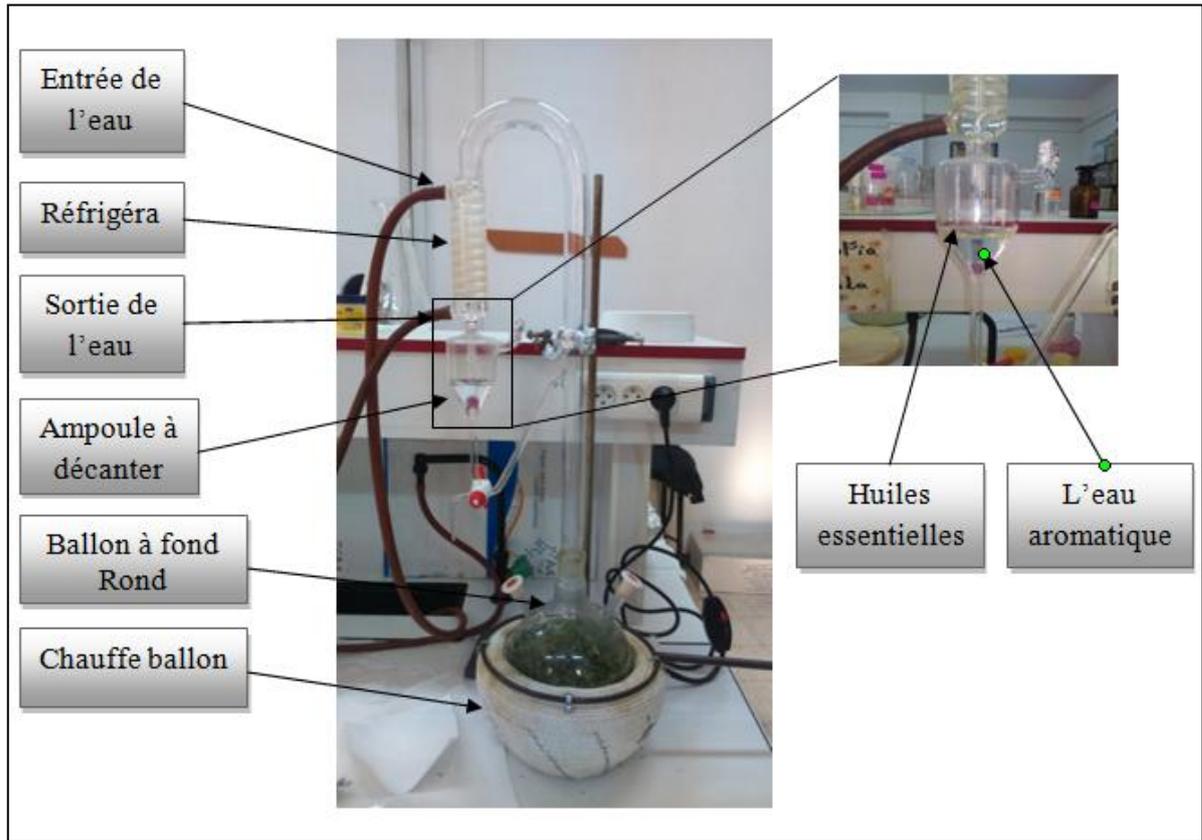
**Espèce :** *Ruta graveolens*

### 2.4 Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation

L'hydrodistillation reste la technique d'extraction la plus utilisée et la plus rapide pour l'obtention des meilleurs rendements, sans altération des huiles essentielles fragiles. Leur principe correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (El haib, 2011 ; El kalamouni, 2010). L'extraction se fait au niveau de laboratoire de Tébessa par l'utilisation de système de type Clevenger.

Après séchage de matériel végétal à l'air libre (on a utilisé les parties aériennes *Ruta graveolens* qui ont été récoltées au mois de Février, 2017 dans les régions de Tébessa), 50g de matière sèche est introduit dans le ballon à fond rond et à 3 cols ou fiole d'un litre surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur avec 500 ml d'eau distillée. Le ballon et son contenu sera mis sur une chauffe ballon à une température voisine de 100 C° et raccordé avec le reste de l'appareil d'extraction (**Figure 8**). Adopter ensuite le ballon à l'appareil de condensation. Laisser le mélange en ébullition pendant 3 heures. Pendant ce temps, le vapeur se dirige vers le col du cygne puis dans le réfrigèrent ou elle se condense rapidement et tombe, dans l'ampoule de décantation, sous forme d'huile.

Les huiles essentielles recueillent par décantation à la fin de la distillation a été filtrée en présence de sulfate de sodium  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  pour éliminer les traces d'eau résiduelles et l'huiles essentielles de *Ruta graveolens* sera par suite récupérer et stockée à 4°C à l'obscurité dans un flacon en verre approprié, hermétique fermé et couvert d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière. La quantité d'essence obtenue est pesée pour le calcul du rendement (Bouguerra, 2012 ; Mawussi ; 2008 ; Tchoumboungang *et al.*, 2009).



**Figure 08.** Montage de l'hydrodistillateur de type.Clevenger (**photo original**)

### 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 (AFNOR, 1987), évalué à partir de 3 échantillons (nombre d'extraction). Il est 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<sub>B</sub>** : Poids de l'huile en g

**P<sub>A</sub>** : Poids de la matière sèche de la plante en g

## Matériel et méthodes

### 2.6. Tests de toxicité

Après des essais préliminaires, on a déterminé des gammes des concentrations d'huile essentielle de *Ruta graveolens*. Les différentes gammes ont été appliquées dans des gobelets contenant chacune 150 ml d'eau et 25 larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx pipiens* selon les recommandations de l'organisation mondiale de la sante (**Anonyme, 1983**). Trois répétitions ont été réalisées pour chaque dilution. Trois gobelets témoins négatif et positif ont été également constitués dans les conditions identiques aux gobelets tests. Le témoin négatif ne contenait que de l'eau tandis que le témoin positif renfermait un millilitre de l'éthanol sans aucune trace d'huile essentielle. Le comptage des larves a été réalisé après 24 h d'exposition aux extraits volatils. Les larves ne sont pas alimentées pendant les bioessais (**Boyer, 2006 ; Tchoumboungang et al., 2009**).

Afin de caractériser l'effet toxicologique des huiles essentielles, il est nécessaire d'estimer les concentrations létales (CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub>). Les pourcentages de mortalités observées sont corrigés par la formule **d'Abbott, (1925)** lorsque le taux de mortalité des témoins est compris entre 5 et 20% :

$$\text{Mortalité corrigé (\%)} = \frac{\text{\% mortalité des larves traitées} - \text{\%mortalités des larves témoins}}{100 - \text{\%mortalités des larves témoins}} \times 100$$

Lorsque ce même taux dépasse 20 %, le test doit être renouvelé. La formule permet d'éliminer la mortalité naturelle et de connaître la toxicité réelle du pesticide par l'analyse des probits (**Finney, 1971**).

La méthode de **Swaroop et al., (1966)** précise l'intervalle de confiance avec une probabilité de 95%. Deux paramètres sont nécessaires :

- Le 1<sup>er</sup> paramètre est le Slope, noté par (S) est donné par la formule suivante :

$$S = \frac{DL84/DL50 + DL50/DL16}{2}$$

## Matériel et méthodes

---

- Le 2<sup>ème</sup> paramètre est Fdl50 est donnée par la formule suivante :

$$\text{Log Fdl50} = \text{Log } S^{2,77/\sqrt{N}}$$

$$= (2,77/\sqrt{N}) \times S$$

$$\text{Fdl50} = S^{2,77/\sqrt{N}}$$

Fdl50 = anti log A

N : effectif total pour les mortalités entre 16 et 84%.

Limite supérieure est égale DL50 × Fdl50.

Limite inférieure est égale DL50 / Fdl50.

### 2.7. Etude morphométrique

une paramètres morphométriques ont été pris en considération pour les larves du quatrième stade le poids corporel pendant 24, 48 h et 72 h. (Nombre de répétition 3 et nombre des individus 25)

### 2.8. Analyse statistique

L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (version 16, Penn State College, PA, USA), Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne ± l'écart-type (SD).



### 3. Résultats :

#### 3.1. Rendement en huile essentielle de *Ruta graveolens*

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* obtenue par un hydrodistillateur de type Clevenger est de couleur jaune, claire avec une odeur agréable et avec un rendement de  $1.18 \pm 0.055$  % de la matière sèche de la partie aérienne de la plante.

#### 3.2. Toxicologie des huiles essentielles de *Ruta graveolens*

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité des huiles essentielles de *Ruta graveolens* qui est évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles après 24 h.

Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens* avec des différentes concentrations des huiles essentielles de *Ruta graveolens* : 2,5, 5, 7, 10 et 15 ppm pendant 24 h. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le tableau 3 avec des taux variant de 8 % (2,5ppm) à 100 % (15 ppm) avec une relation concentrations – réponse. Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités (Tableau 4), Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 5) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif ( $p < 0,001$ ).

**Tableau 02** : Effet des huiles essentielles extraites de *Ruta graveolens* (ppm) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens* ( $m \pm sem$ ,  $n = 3$  répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins		2,5 ppm	5 ppm	7 ppm	10 ppm	15 ppm
	-	+					
1	0	0	4	28	52	84	100
2	0	0	8	28	56	92	100
3	0	0	12	32	48	88	100
<b>m ± sem</b>	0,00 ±0,0	0,00 ±0,0	8±2,67	29,33±1,78	52±2,67	88±2,67	100±0,0

## Résultat et discussion

**Tableau 03 :** Effet des HE extraites de *Ruta graveolens* (ppm) appliquées sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Cx. pipiens*. Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n = 3$  répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	Concentrations				
	2,5 ppm	5 ppm	7 ppm	10 ppm	15 ppm
1	11,54	31,95	46,15	66,42	84,26
2	16,43	31,95	48,15	73,57	84,26
3	20,27	34,45	43,85	69,91	84,26

**Tableau 04 :** Effet des huiles essentielles extraites de *Ruta graveolens* (ppm) chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens* Analyse de la variance des données.

Source de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	4	1123,067	280,767	421,15	0,000***
Résiduelle	10	6,667	0,667		
Totale	14	1129,733			

Les concentrations létales, la CL50 (où l'insecticide induit la mortalité de 50 % de la population ciblée), et la CL 90 (qui provoque la mortalité de 90 % de la population) sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression (figure 16) qui exprime le probit du pourcentage de mortalité en fonction du logarithme décimal des concentrations des HE (Tableau 6 et 7). Les concentrations CL50 et CL90, déterminées sont respectivement de 6,14 mg/l (intervalle de confiance : 5,69 – 6,62) et 13,14 mg/l (intervalle de confiance : 10,93 – 15,77), avec un Slope de 1,80 (Tableau 8).

## Résultat et discussion

**Tableau 05:** Effet des HE extraites de *Ruta graveolens* (ppm) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens*: transformation en probits des mortalités ( $m \pm \text{sem}$ ,  $n = 3$  répétitions comportant chacune 25 individus).

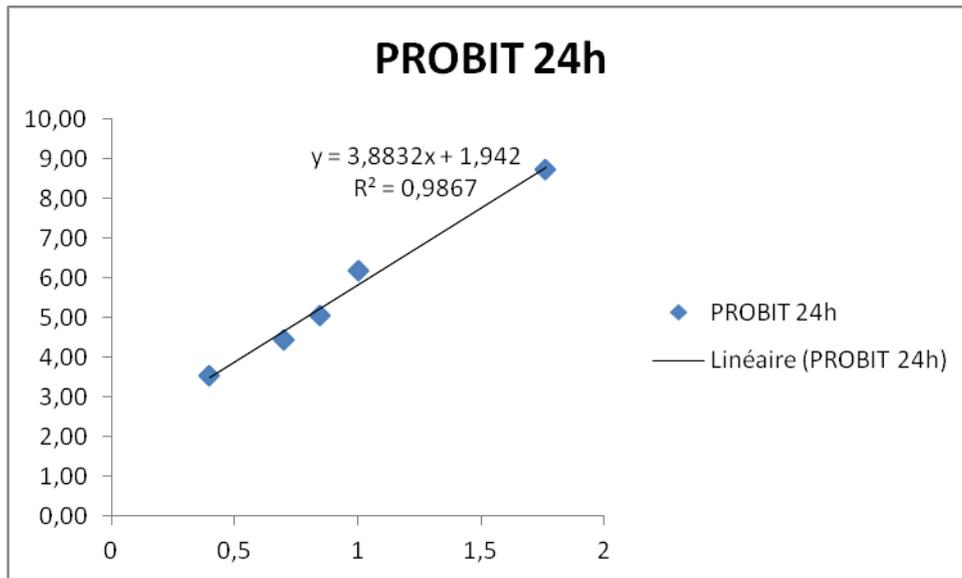
Concentrations (mg/l)	2,5 ppm	5 ppm	7 ppm	10 ppm	15 ppm
Probits	3,56±0,2	4,46±0,05	5,05±0,07	6,19±0,14	8,72±0,00

**Tableau 06.** Effet des huiles essentielles extraites de *Ruta graveolens* (ppm), appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx pipiens*, sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux.

Concentrations (mg/l)	2,5 ppm	5 ppm	7 ppm	10 ppm	15 ppm
Log concentrations (x)	0,4	0,7	0,84	1	1,76

**Tableau 07 :** Efficacité des HE extraites de *Ruta graveolens* sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culex pipiens*, analyse des probits.

	Equation	R <sup>2</sup>	Slope	CL50 (mg/l) IC (95%)	CL 90 (mg/l) IC (95%)
HE de <i>Ruta graveolens</i>	$y = 3,88x + 1,942$	0,986	1,80	6,14 (5,69 – 6,62)	13,14 (10,93 – 15,77)



**Figure 9 :** Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ( $R^2=0,986$ ).

### 3.3. Effet de *Ruta graveolens* sur la Croissance pondérale des larves du quatrième stade

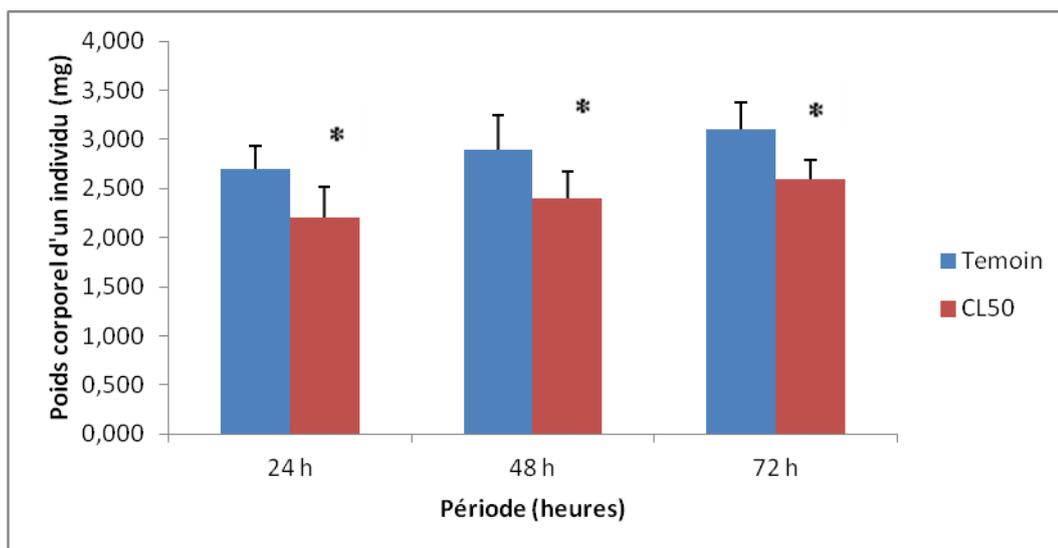
Les résultats de l'évolution du poids corporel des larves au cours des différentes périodes sont mentionnés dans le tableau 07 et la figure 10. Pour les séries témoins et traitées, on remarque une augmentation significative ( $p < 0,05$ ).

La comparaison des moyennes entre les séries témoins et traitées montre que la concentration (CL50) provoque une diminution significative à 24 heures, 48 heures et à 72 heures ( $p = 0,019$ ), ( $p = 0,042$ ) et ( $p = 0,035$ ) respectivement.

**Tableau 08:** Effet de *Ruta graveolens* (CL50) sur le poids corporel (mg) des individus de quelques stades chez *Cx. pipiens* ( $m \pm SD$ ,  $n=3$ ) : 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)	Témoins	CL50
24	2,70 ± 0,24 <b>a</b> A	2,20 ± 0,32 <b>b</b> A
48	2,90 ± 0,35 <b>a</b> B	2,40 ± 0,27 <b>b</b> B
72	3,10 ± 0,28 <b>a</b> C	2,60 ± 0,19 <b>b</b> C

## Résultat et discussion



**Figure 10.** Effet de *Ruta graveolens* (CL50) sur le poids corporel (mg) des individus de quelques stades chez *Cx pipiens* ( $m \pm SD$ ,  $n=3$ ): comparaison des moyennes\*Différence significative ( $p<0,05$ ) entre les séries témoins et traitées.

### 4. Discussion

#### 4.1. Rendement en huiles essentielles

Les huiles essentielles extraites de *Ruta graveolens* obtenues sont de couleur jaune très pâle, d'odeur aromatique épicée, et avec un rendement de 0,055% à partir de la partie aérienne de la plante. Ce rendement varie d'une plante à une autre, il est de 0,5% chez *Artemisia mestlantica*, de (0,1- 0,35%) chez la rose, de (0,5-1%) chez la menthe poivrée et le néroli, de (1-3%) chez l'anis, de (0,8- 2,8%) chez la lavande, de (1-2,5%) chez le romarin, de (2-2,75%) chez le thym (**Edward et al.,1987**) et de (1,3-1,6)% chez le basilic (**Badani, 2014**). Une autre espèce, *Lavandula stoechas* a enregistré un rendement de 0,77 à 1,2% (**Mohammedi et Atik, 2011**). Cette variation en huile essentielle, tant au niveau de leur composition, que rendement, peut s'expliquer par différents facteurs : d'origine intrinsèque, lié au bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de la croissance et du développement de la plante (**in Bouguerra, 2012**). D'autres facteurs peuvent également influencer ce rendement : l'espèce, la période de récolte, les pratiques culturales, la technique d'extraction, la température et la durée de séchage et l'état physiopathologique de la plante (**Svoboda & Hampson, 1999; Smallfield, 2001; Tchoumboungang et al., 2005 ; 2006**). De plus, ces variations ont été notées entre les espèces du même genre tel que *Ocimum*, avec un rendement de 1,71% chez *Ocimum minimum* (**Özcan et Chalchat, 2002**), et de 1,46% chez *Ocimum gratissimum* (**Camara, 2009**) et *Ocimum canim* (**Akantetou et al., 2001**)

#### 4.2. Toxicité des huiles essentielles extraites de *Ruta graveolens*

À cause de leur effet négatif sur l'environnement, l'utilisation des insecticides chimiques est devenue de plus en plus restrictive. L'utilisation des insecticides chimiques conduit aussi à un désordre écotoxicologique accompagné d'une augmentation spectaculaire du nombre d'espèces résistantes.

L'application des produits naturels reste la méthode qui présente beaucoup d'avantages pour la santé de l'être vivant et pour son environnement par rapport aux produits de synthèse chimique qui contaminent globalement la biosphère (**Benayad, 2008**). en Algérie, l'utilisation des produits naturels, spécifiquement les extraits des plantes, comme type de lutte contre les insectes a commencé de se développer, à travers une multitude des travaux récentes (**Kemassi, 2008 ; Labouzi, 2010 ; Habbachi et al., 2013 ; Aouati & Berchi, 2015**).

## Résultat et discussion

---

L'activité insecticide du basilic (famille des Labiées) est connue depuis longtemps et son odeur est réputée pour son effet répulsif (**Bekele & Hassanali, 2001**). Les résultats obtenus dans ce sens ont initié de nombreuses recherches sur l'utilisation potentielle de produits dérivés du basilic dans la lutte contre les insectes ravageurs de cultures dans divers pays en développement (**Senthil, 2007**).

Dans certaines régions d'Afrique, les feuilles de tabac malaxées avec l'eau ont été utilisées pour lutter contre les moustiques et les odeurs du Basilic (*Ocimum basilicum*), et de *Sarghina Corrigiola telephiifolia* (Caryophyllacée) sont des répulsifs très efficaces (**Aouinty et al., 2006**). Au Maroc, la litière de l'aulne, plante riche en polyphénols a prouvé des propriétés toxiques très importantes à l'égard des larves de moustiques (**David et al., 2000**). De plus, les travaux de **Jang et al. (2002 a)** ont démontré l'activité larvicide de certaines légumineuses vis à vis deux espèces, *Ae. Aegypti* et *Cx. pipiens*. A son tour, **Alaoui-Slimani. (2002)** a confirmé la toxicité de *Mentha pulegium* (Labiée) sur des larves de culicidés.

L'activité larvicide des extraits de plantes médicinales aromatiques a aussi été confirmée dans les travaux de **Jang et al. (2002b)**. Par ailleurs, la protection des cultures contre les ravageurs par des extraits végétaux a été étudiée aussi bien sur des larves de lépidoptères (**Lee et al., 2002**) que sur des larves d'acridiens (**Barbouche et al., 2001**).

Les résultats de notre étude montre que l'extrait aqueux de plante choisie (*Ruta graveolens*) possède une activité larvicide à l'égard des larves de *Culex pipiens* vu les taux de mortalités observés pour cet extrait à chaque stade de développement de moustique de notre travail (L1, L2, L3, L4) présente à chaque fois un effet toxique.

Les résultats obtenus révèlent une sensibilité variable des larves de *Culex pipiens* on traduit par des taux de mortalité faibles à très élevés en passant d'une concentration à l'autre, d'extrait aqueux de *Ruta graveolens*. Les résultats révèlent également que l'activité larvicide est progressive sur la durée puisque il a été enregistré une augmentation de la mortalité au fur et à mesure qu'on avance dans le temps d'exposition, pour atteindre parfois un taux de mortalité maximal de 100% pour les doses les plus élevés de la plante concerné d'étude. Ainsi, la mortalité qui est corrélée aux doses utilisées est d'autant plus accrue que l'exposition des larves aux insecticides est prolongée dans le temps. Les résultats obtenus montre que l'extrait du *Ruta graveolens* agissait très fortement sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviée de *Culex pipiens* avec une mortalité de 100 % pour une dose de 30ppm après 24h d'exposition.

Ce résultat concorde parfaitement avec les explications apportées dans l'étude de **Seye et al., (2006)**, où les auteurs stipulent dans leur étude toxicologique portant sur l'effet de la poudre de neem testée à l'égard des stades pré-imaginaux de *Culex quinquefasciatus*, que les substances actives contenues dans l'extrait sont libérées lentement induisant une mortalité progressive. En ce qui concerne les résultats obtenus pour les concentrations létales d'extrait de plante, il a été observé qu'elles diminuent en fonction du prolongement du temps d'exposition, ce qui concorde parfaitement avec les observations rapportées par les travaux de **Koua, (1994)** qui stipulent dans son étude portant sur l'effet de l'extrait aqueux de *Persea americana* sur différents stades larvaires d'*Anopheles gambiae* que les concentrations létales diminuent avec l'augmentation de la durée d'exposition des larves .

Les résultats obtenus dans notre présente étude corroborent les expérimentations menées par **Hifnawy et al, (2001)** sur l'utilisation de l'extrait d'*Artemisia herba halba* à l'égard des larves de culicidae ; un effet larvicide positif est observé, ce qui suggère qu'un ou plusieurs composants de cette plante lui confèrent une propriété toxicologique létale à l'égard des larves de culicidae. Cette toxicité est également rapportée par **Azaizeh et al, (2007)** ; **Soliman, (2006)** ; **Soliman, (2007)** et **Tani et al, (2008)**. Par ailleurs, *Artemisia herba halba* est aussi citée comme l'une des plantes les mieux appréciées et des plus utilisées pour son activité antioxydante (**Djeridane et al, 2006** ; **Al-Mustafa, 2008** ; **Abid et al, 2007**; **Suboh et al, 2004**), son activité nématocide (**Al-Banna et al, 2004**), son activité antibactérienne (**Yashphe et al, 1979**; **Sherif et al, 1987**; **Marrif et al ,1995**; **Hifnawy et al, 2001**), son activité antiparasitaire (**Idris et al ,1982**; **Al-Waili, 1988**) et son activité anti leishmaniose (**Hatimi et al, 2001**).

### **4.3. Effet des huiles essentielles extraites de *Ruta graveolens* la croissance et le développement**

L'application abusive et répétée de ces insecticides conventionnels a fait apparaître un phénomène de résistance (**Valles et al., 2000** ; **Fulton & Key, 2001**); cette résistance se traduit par des modifications physiologiques, biochimiques, comportementales (**Sharf et al., 1997**). Ces insecticides ont provoqué également des perturbations dans l'environnement et au niveau de plusieurs systèmes physiologiques tels que la croissance, la reproduction et le métabolisme de quelques organismes non visés (**Gagné et al., 1999**), mais aussi chez l'homme par des effets toxiques indésirables qui se traduisent par des phénomènes cancérogènes (**Ishaaya & Horowitz, 1998**). Suite à ces conséquences néfastes et à l'accroissement

## Résultat et discussion

---

d'espèces résistantes, la recherche a développé des insecticides biologiques moins toxiques et plus spécifiques, basés sur des données physiologiques de l'insecte.

Les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (**Cseke et Kaufman 1999**). Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes, leur mécanisme d'action est méconnu et relativement peu d'études ont été réalisées à ce sujet (**Isman 2000**). On considère que ces mécanismes sont uniques et que les biopesticides à base d'huiles essentielles peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des ravageurs aux pesticides. Avec ces mécanismes d'action particuliers, ces biopesticides peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter le développement de la résistance chez les ravageurs.

Nos résultats montrent que le traitement par *ruta graveolens* (CL50) chez le stade larvaire, de *Cx.pipiens*, cause une réduction de divers paramètres biométriques le poids et le volume corporel comme des larves. Chez la même espèce **Hamaidia, (2006)**, montre que le traitement par le méthoxyfenozide (DL50 et DL90) provoque une diminution des paramètres morphométriques. De plus, **Tine-Djebbar, (2009)** révèle que l'halofénoside appliqué sur les larves du quatrième stade de *Cs.longiareolata* et *Cx.pipiens* perturbe les paramètres biométriques des individus. Les deux agonistes RH-2485 et RH-0345 utilisés contre le dernier stade larvaire de *Harmonia axyridis* (*Coleoptera : Coccinellidae*), provoquent, une chute de poids des larves, des mues larvaires prématurées et des nymphoses incomplètes des larves affectées (**Carton et al.,2003**).



# Conclusion

---

## Conclusion

Le but de la présente étude était d'évaluer l'effet des huiles essentielles de la plante *Ruta graveolens* sur l'aspect toxique et morphométrique de larve de moustiques *Culex pipiens*.

Le traitement par les HEs de la plante chez les larves de stades L4 nouvellement exuviées de *Culex pipiens* a permis d'établir les concentrations létales la CL50 et CL90. HE montrent une activité insecticide avec une relation concentration-réponse. *Ruta graveolens* testée à la CL50, chez le stade L4 larve de *Culex pipiens* entraîne une réduction de paramètre le poids stades larvaire.

Les huiles essentielles présentent donc des propriétés intéressantes. Ce résultat ouvre des perspectives intéressantes pour son application dans la production des biopesticides. Nous envisageons de poursuivre cette étude afin de préciser la nature du (ou des composé (s) responsable (s) de cette activité par fractionnement mené en parallèle avec les testes biologique. 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 a d'autre espèce des plantes pour voir l'effet de ces biopesticides sur d'autres insectes nuisibles. A l'avenir il serait intéressant de compléter cette recherche en évaluant des huiles essentielles de *Ruta graveolens* sur d'autres mécanismes de résistance, essentiellement les enzymes de détoxification tels que les estérases



## References bibliographiques

- Abbott W.B.** (1925). A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, **18** : 265 – 267.
- AFNOR.** (1987). Huiles essentielles, recueil dans des normes française. 5 ème editions.1. échantillonnage et méthodes d'analyses, 2. Spécifications, AFNOR, Paris.
- Alaoui- Slimani, N.** (2002). Faune culicidienne d'une zone marécageuse de Rabat- Salé : Biotypologie et contribution à la lutte par des substances naturelles. Thèse de Doctorat Es Sciences Biologiques, Université Mohamed V, Rabat, Maroc, 192 p.
- Alayat, M. S.** (2012). Bio-écologie, position taxonomique et compétence vectorielle du complexe *Culex pipiens* (Diptera ; Culicidae) responsable de la transmission du virus West Nile et du virus de la fièvre de la vallée du Rift en Algérie. Mémoire de Magistère en Biologie environnementale, option de Biologie et écologie animale .Université Annaba .67p. .
- Andreo, S.** (2003). L'effet anti-gorgement sur chien d'un shampoing à 0,07% d'ltamethrine sur un moustique du complexe *Culex pipiens*. Th. : Med. Vet : Toulouse, 128. 63 pp.
- Anonyme.** (1983). Informal consultation on insect growth regulators. WHO/VBC/83.
- Aouinty, B., Oufara, S., Mellouki, F. & Mahari, S.** (2006). Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, 10 (2) : 67 – 71.
- Badani S., 2014.** Etude de l'activité des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* sur une espèce de moustique *Culiseta logiareolata*. Mémoire du diplôme de Master. Fac des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie, Tébessa. 24p.
- Balenghien, T.** (2007). Les moustiques vecteurs de la Fièvre du Nil Occidental en Camargue. *Insectes.*, **146** :13-17.
- Barbouche, N., Hajjem, B., Lognay, G., Ammar, M.** (2001). Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Hérit. (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **5** (2) : 85-90.
- Bekele, J. & Hassanali, A.** (2001). Blend effects in the toxicity of the essential oil constituents of *Ocimum kilimandscharicum* and *Ocimum kenyense* (Labiatae) on two post-harvest insect pests. *Phytochemistry*, **57**: 385 - 391.
- 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.

- Bendali, F.** (1989). Etude de *Culex pipiens pipiens* anautogène, Systématique et lutte bactériologique (*Bacillus thuringiensis israeliensis* serotype H14. *B. sphaericus* 1953) et deux espèces d'hydracariens. Thèse de magister en Arthropodologie. Université d'Annaba. Algérie.
- Bendali, F., Djebbar, F. & Soltani, N.** (2001). Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica.*, **57(4)** : 255 - 265.
- Bendali, F.** (2006). Etude bioécologique, systématique, et biochimique des Culicidae (Diptera-Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte biologique anti-Culicidienne. Thèse de Doctorat d'Etat en science naturelle. Université Annaba.
- Berchi, S.** (2000). Resistance de certaines populations de *Culex pipiens pipiens* (L.) au malathion a Constantine (Algérie) (Diptera : Culicidae). *Bull. Soc. Entomol. Fr.*, **105(2)**: 125-129.
- Berliner, E.** (1915). User die schalffsuchider Mehlmottenraupo and threen Erreger *Bacillus thuringiensis* n.sp. *Zeitschfit fur Angewandte Entomologie* , **2** : 29-56.
- Bouabida, H., Djebbar, F. & Soltani, N.** (2012). Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera : Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique*, **65** : 99-103.
- Bouabida, H.** (2014). Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiromesifène sur la reproduction de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* : aspects écologique et biochimique. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université Badji Mokhtar de Annaba. 134p
- Bouguerra, A.** (2012). Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill, en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine, 120 p.
- Boyer, S.** (2006). Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides : Conséquences Environnementales. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat. Université Joseph Fourier – Grenoble I, 78 p.
- Bussieras, J. & Chermette, R.** (1991). Parasitologie Vétérinaire, Entomologie, Service de Parasitologie, ENVA, 58-61.
- Byrne, K. & Nichols, R.A.** (1999). *Culex pipiens* in London Underground tunnels: differentiation between surface and subterranean populations. *Heredity.*, **82**: 7-15.
- Camara A., 2009.** Lutte contre *Sitophilis oryzae* L. (Coleoptera : Curculionidae) et *Tribolium castaneum*, herbst (Coleoptera : Tenebrionidae) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basse-guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse du Doctorat en sciences de l'environnement. Université du Québec à Montréal

- Cachareul, A.-I.** (1997). Les moustiques : cycle de développement, aspects anatomo-physiologiques et régulation du cycle ovarien. Th. : Med.Vet. : Nantes, 024. 131 pp.
- Carlos, Espinel-Correal.** (2010). Analyse de l'évolution des populations du granulovirus PhopGV en contact avec des hôtes alternatifs *Phthorimaea operculella* et *Tecia solanivora* (Lepidoptera : Gelechiidae). École Nationale Supérieure des Mines de Saint-Étienne.192p.
- Carnevale, P. & Robert, V.** (2009). Les anophèles, Biologie, transmission du plasmodium et lutte anti-vectorielle. Ed.I.R.D. Marseille.389p
- Carton, B., Smaghe, G. & Tirry, L.** (2003). Toxicity of two ecdysone agonists, halofenozide and methoxyfenozide, against the multicoloured Asian lady beetle *Harmonica axyridis* (Col : Coccinellidae). *J. Applied. Entomol.*, **127**: 240 p.
- Crosby, D.G.** (1966). Natural pest control agents. In Gould, R.F. (Ed.). Natural Pest Control Agents. *Adv. Chem. Ser.* **53** : 1-16.
- Cseke, Leland J., Kirakosyan, A., Kaufman, Peter B., Warber, Sara L., Duke, James A., Brielmann, Harry L.** (1999). *Natural products from plants* Second edition. CRC, London, Newyork. P 551.
- Dalik, S.** (1996). Traitement contre les mouches et les moustiques, Chambre Syndicale des Industries de Désinfection, Désinsectisation et Dératisation. 02-04.
- Djebbar, F.** (2000). Composition biochimique et profil hormonal (20-hydroxyecdysone) des stades larvaires et nymphal chez deux sous-espèces de moustiques *Culex pipiens molestus* et *Culex pipiens pipiens*. Thèse de Magister en physiologie animale, option, applications agronomiques et médicales. Université d'Annaba, Algérie.
- El haib, A.** (2011). Valorisation de terpene naturels issus de plantes marocaines par trnsformations catalytiques, Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse, Délivré par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. Discipline ou spécialité : Chimie organique et catalyse.09-10.
- El kalamouni, C.** (2010). Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse. 43- 75.
- Euzeby, J.** (2008). Grand dictionnaire illustre de parasitologie médicale et vétérinaire. Editions Tec&Doc, Paris. 818.
- Faraj, C., Elkohli, M. & Lyagoubi, M.** (2006). Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Bull Soc Pathol Exot*, **99(2)**:119-121
- Fe Andre´s, M., Gonza´lez-Coloma, A., Sanz J., Burillo J. & Sainz P.** (2012). Nematicidal activity of essential oils: a review. *Springer Science+Business Media Dordrecht*.

- Finney, D.J.** (1971). Probit Analysis, Cambridge Univ. Press, UK., 333 p.
- Govindarajan, M.** (2010). Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from *Clausena anisata* (Willd.) Hook. f. ex Benth (Rutaceae) against three mosquito species. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 874-877.
- Govindarajan, M., Sivakumar, R., Rajeswary, M. & Yogalakshmi, K.** (2013). Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae). *Experimental parasitology*., **134(1)**: 7-11.
- Guitsevitch, A.V., Monchadski, A. & Sktakel'Berg, A.A.** (1974). Fauna of Diptera. U.S. Departement of Commerce Natiolal Technical Inforamation. Va. pp: 22-51.
- Harbach, R.f.** (2007). The Culicidae (Diptera) : a review of taxonomy, classification and phylogeny. *Zootaxa*., **1668**: 591-638.
- Himmi, O., Dakki, M., Trari, B., El Agbani, M.A.** (1995). Les Culicidae du Maroc: clés d'identification, avec données biologiques et écologiques. *Trav Inst Sci, Série Zool Rabat*., **44**: 51.
- Ishaaya, I.** (2001). Biochemical sites of insecticide action and resistance. *Berlin Heidelberg, New York, Springer-Verlag*. Pages 323-338.
- Isman, Murray B.** (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, **19**: 603-608
- Jolivet, P.** (1980). Les insectes et l'homme. Insecte d'importance médicale. *Masson eds. Pestic.Sc.*, **55** : 909-918.
- Kettle D. S.** (1995). Medical and Veterinary Entomology, 2° edition, Wallingford: CAB international.725 p.
- Lacey, L.A. & Orr, B.K.** (1994). The role of biological control of mosquitoes in integrated vector control. *American journal of tropical Medecine and hygiene*., **50 (6)**: 97 – 115.
- Lecointre, G.** (2001). Hervé le Guyader Classification phylogénétique du vivant, *Belin. Arthropodes*.
- Linné, C.** (1758). *Systema naturae per regna tria naturae*. Edition10. Vol. 1. Holmiae: 824p.
- Mawussi, G.** (2008). Bilan environnemental de l'utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures de coton, café et cacao au Togo et recherche d'alternatives par l'évaluation du pouvoir insecticide d'extraits de plantes locales contre le scolyte du café (*Hypothenemus hampei* Ferrari). Thèse de Doctorat. Université de Toulouse. 187 p.

- Merabeti, B. & Ouakid, M. L.** (2011). Contribution à l'étude des moustiques (diptera :culicidae) dans les oasis de la région de biskra (nordest d'Algerie). *Actes du séminaire International sur la Biodiversité faunistique en Zones Arides et Semi-aride*. P : (85-89).
- Mohammedi, Z. and Atik, F.**2012. HPLC-UV Analysis and Antioxidant Potential of Phenolic Compounds from Endemic Shrub of Arid Environment Tamarix pauciovulata J. Gay.NaturalProducts Laboratory, Department of molecular and cellular biology, faculty of sciences,university of Abou Bakr Belkaid, BP 119 Tlemcen 13000, Department of Biology, facultyof life and natural sciences, university Mustapha Stambouli, BP 305 Mascara 29000, Algeria.
- Moulinier, C.** (2003). Parasitologie et mycologie médicales, éléments de morphologie et de biologie. Cachan : EM inter. 796.
- Nuttall I.** (1997). Web pages, Division of control of tropical Diseases world health organization, Geneva, Switzerland.
- OMSb** ,1988- lutte contre les vecteurs et les nuisible en milieu urbain. *Onzième rapport du comité OMS d'expert de la biologie des vecteurs.et de la lutte anti vectorielle*.
- Organisation Mondiale de la Santé** (1963). Méthode à suivre pour déterminer la sensibilité ou la résistance des larves de moustiques aux insecticides. In Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. Treizième rapport du comité OMS d'experts des insecticides, Genève : OMS, *Sér. Rapp. Techn.* **265**, p. 55–60.
- Özcan M. & Chalchat J.C.,** 2012. Essential oil composition of *Ocimum basilicum* L. and *Ocimum minimum* L. in Turkey. *Czech J. Food Sci.*, 20: 223-228.
- Patton, S. & Kurtz, G. W.** (1951). In : Ohkawa, H., Ohishi, N. & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.*, **95** : 351 -358.
- Rehimi, N.** (1993). Activité biologique de trios molécules dérivées de la benzoyluree (Dart, Andalin, Alsystin) à l' egard de *Culex pipiens pipiens*. Thèse de Magister en Biologie et Physiologie des invertébrés, option Arthropodologie. ISN Universite d'Annaba.
- Rehimi, N., Soltani, N.** (1999). Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis inhibitor agonist *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae). Effects on development and cuticule secretion. *J. Appl. Ent.*, **123**: 437 - 441.
- Ripert C.,** 2007-Epidemiologie des maladies parasitaires, tome 4, affections provoquées ou transmises par les arthropodes. *Cachan: EM inter. p 581*.
- Resseguier, Pierre.** (2011). Contribution à l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université Paul – Sabatier de Toulouse.80.
- Rhodain, F., Perez, C.** (1985). Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Maloine .SA Editeur 27, Rue de l'école médecine 75006, Paris .443.

- Ripert, C.** (1998). Epidémiologie des maladies parasitaires, tome 2, helminthoses. Cachan : EM inter. 580pp.
- Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hevry, J.P., Rhaiem, A. & Brunhes, J.** (2001). Moustiques d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification.
- Smallfield B.,** 2001. Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research.*, 45: 4.
- Smith, J.L. & Fonseca, D.M.** (2004). Rapid assays for identification of members of the *Culex (Culex) pipiens* complex, their hybrids, and other sibling species (Diptera: Culicidae). *Am J Trop Med Hyg.*, **70(4)**: 339-345.
- Soltani-Mazouni, N.** (1994). Effets d'un régulateur de croissance, le Diflubenzuron, sur la reproduction de *Tenebrio molitor (L.)* : Aspects biologique, biométrique, structurale et biochimique. Thèse Doc. Univ. Annaba. Algérie.
- Soltani-Mazouni, N. & Soltani, N.** (1992). Effets du diflubenzuron sur les métabolites hémolymphatiques et ovariens chez *Tenebrio molitor* au cours de la maturation sexuelle. *Mém. Soc. R. Belg. Ent.*, **35**: 743-747.
- Soltani-Mazouni, N. & Soltani, N.** (1995). Effets du Diflubenzuron en traitement *in vivo* et *in vitro* sur la morphométrie de l'ovaire de *Tenebrio molitor*. *Med. Fac. Landbow. Univ. Gent.*, **60 (35)**: 961-967.
- Soltani-Mazouni, N., Taïbi, F., Berghiche, H., Smagghe, G. & Soltani, N.** (2001). RH-0345 restored partly the effects induced by KK-42 on reproductive events in mealworms. *Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent.*, 66/2a: 437-444
- Soltani, N., Soltani-Mazouni, N.** (1992). Diflubenzuron and oogenesis in colding moth, *Cydia pomonella (L.)* *Pest. Sci.*, **34** : 257 - 261.
- Svoboda K.P. & Hampson J.B.,** 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory and other related pharmacological activities. <http://www.csl.gov.uv/ienica/seminars/>.
- Tchoumboungang, F., Dongmo, P.M.J., Sameza, M.L., Mbanjo, E.G.N., Fotso, G.B. T., Zello, P.H.A. & Menut, C.** (2009). Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.*, **13 (1)**: 77-84.
- Tine-Djebbar, F.** (2009). Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide, méthoxyfenozide) à l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* : toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université Badji Mokhtar de Annaba. 168p
- Urquhart, G.M., Armour, J. & Duncan J.L.** (1996). *Veterinary Parasitology*, 2° Edition, Oxford: Blackwell sciences, 307 p.

- Valles, S. M., Koehler, P. G. & Brenner, R. J.** (1999). Comparative insecticide susceptibility and detoxification enzymes activities among pestiferous Blattodea. *Comp. Biochem. Physiol.*, **124**: 227-232.
- Vinogradova, E. B.** (2003). Ecophysiological and morphological variations in mosquitoes of the *Culex pipiens* complex (Diptera: Culicidae). *Acta Soc Zool Bohem.*, **67**: 41-50.
- Wall, R. & Shearer, D.** (1997). Veterinary entomology. London : Chapman & Hall, 439 pp.
- Wiggles, W.** (1972). The principal of Insect physiology. Seventh Edition. Chapman and Hall, 827 p.
- Wolfgang, D. & Werner R.** (1988). Guide des insectes. Traduction et adaptation Michel Cusin. Paris : 180-208.