



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 : Biologie Appliquée

Option : Biologie Moléculaire

Etude de l'activité larvicide d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* à l'égard d'une espèce de moustique *Culesita longiareoleta*

Présenté par :

Maifi Radhia

Salmi Meriem

Devant le jury :

Dr. Bouabida Hayette	MCA	Université de Tébessa	Président
M^{me}. Driss Djemaa	MAA	Université de Tébessa	Rapporteuse
Mr. Belakhal Amar	MAA	Université de Tébessa	Examineur

Date de soutenance : 24/05/2017

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

❦ إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ مَثَلًا مَا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا
فَأَمَّا الَّذِينَ ءَامَنُوا فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا
الَّذِينَ كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا يُضِلُّ
بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ بِهِ إِلَّا
الْفَاسِقِينَ ﴿٦﴾

صَدَقَ اللهُ الْعَظِيمُ

دعاء

قال الله تعالى

"رب أوزعني أن أشكر نعمتك التي أنعمت علي و على والدي و أن أعمل صالحا ترضاه و أدخلني
برحمتك في عبادك الصالحين"

سورة النمل - 15 -

يقول صلى الله عليه و سلم

"من أراد الدنيا فعليه بالعلم، و من أراد الآخرة فعليه بالعلم، و من أرادهما معا فعليه بالعلم"

"اللهم لا تجعلنا نصاب بالغرور إذا نجحنا و لا باليأس إذا أخفقنا و ذكرنا أن الإخفاق هو التجربة
التي تسبق النجاح"

"اللهم إذا أعطيتنا نجاحا فلا تأخذ تواضعنا و إذا أعطيتنا تواضعا فلا تأخذ اعتزازنا بكرامتنا و تقبل
دعائنا"

REMERCIEMENTS

Tout d'abord louange à dieu tout puissant de nous avoir guide sur le droit chemin tout au long de nos études.

Nous remercions de tout cœur **Mme Dris Djemaade** nous avoir donné la chance de participer à un tel travail aussi pour gentillesse, pour ton écoute et tendresse, merci pour toute ton expertise scientifique et toutes tes qualités humaines, Mme on vous exprime ici le témoignage de notre sincère reconnaissance, de notre profond respect et aussi le remerciement d'avoir accepté de consacrer votre temps et votre effort pour parvenus à réaliser ce travail, merci infiniment.

Nous remercions également Mmela présidente **Bouabida Hayete** pour leur soutien, pour avoir exprimé leur entière disponibilité, et pour leurs qualités humaines et professionnelles, Nous saisissons cette occasion pour vous exprimer notre profonde gratitude tout en vous témoignant notre respect.

*Nous tenons à remercier **Mme.Hanane Sghir** d'avoir accepté de faire partie des membres du jury de notre travail.*

Enfin mes remerciements s'adressent également à l'ensemble des enseignants qui ont contribué à nos formations au cours de nos années universitaires.

Nous remercions s'adressent également à ceux qui ont contribué de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Enfin, nous ne saurons remercier assez nos parents pour leur soutien constant au cours de ce travail, et plus généralement, dans nos études. Nous leur devons tant et nous sommes immensément reconnaissant de tout ce qu'ils ont fait pour nous.

Merci infiniment...

Table des matières

Table des matières	
ملخص	
Abstract	
Résumé	
Remerciement	
Dédicace	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Liste des symboles	
1. Introduction	1
2. Matériel et méthodes	4
2.1. Présentation du matériel biologique	4
2.1.1 Présentation de l'insecte	4
2.1.2. Position systématique	6
2.1.3. Cycle de développement	6
2.2. Technique d'élevage	8
2.3. Présentation de <i>Ruta graveolens</i>	9
2.3.1. Description botanique	9
2.3.2. Classification de <i>Ruta graveolens</i>	11
2.3.3. Origine	11
2.3.4. Exigences et culture	11
2.3.5. Domaines d'usage	11
2.3.6. Composition chimique	12
2.4. Préparation de l'extrait végétal	12
2.5. Réalisation des tests de toxicité ¹³	13
2.6. Analyse statistique	15
3. RESULTATS	16
3.1. Toxicologie d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> sur les larves du premier stade	16
3.2. Toxicologie d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> sur les larves du deuxième stade	18
3.3. Toxicologie d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> sur les larves du troisième stade	21
3.4. Toxicologie d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> sur les larves du quatrième stade	24
4. Discussion	29
5. Conclusion et perspective	34
6. Références bibliographiques	36

ملخص

البعوضيات، هي دون شك الحشرات المعروفة والأكثر رعبا بالنسبة للإزعاج الي يشكل وجودهم والامراض المنقولة يمكنهم التطعيم اثناء تناول وجبة الدم مثل حمى الضنك و داء الخيطيات، الحمى الصفراء و فيروس حمى غرب النيل. لمواجهة انتشار الحشرات و الأوبئة الناشئة هناك العديد من الطرق التي تطابق استعمال المبيدات الحشرية الكيميائية التي تم اختبارها.

مقاومة هذه الحشرات للمبيدات الكيميائية و التراكم الحيوي لهذه المركبات السامة في البيئة يوجه البحث نحو مبيدات حيوية انتقائية و قابلة للتحلل الحيوي بالخصوص مستخلصات النباتات العطرية .

في هذا السياق يهدف هذا العمل الى تقييم استجابات سكان او مجتمع لنوع من البعوض ؛ من بين الأنواع الأكثر شيوعا في منطقة تبسة .

بتأثير مبيدات حشرية نباتية جديدة على أساس المستخلص المائي *Ruta graveolens* واطهرت النتائج في شروط المخبر ان المستخلص المستخدم هو مبيد لليرقات بفاعلية كبيرة ويتم التعبير عن هذه الفعالية بعوامل سمية محسوبة التي هي على التوالي CL50 ;CL90

حساسية اليرقات متغيرة ؛ هذه الحساسية أيضا تكون اكثر ازديادا مع تركيز المستخلص .

في اطار مكافحة ضد البعوض فان مستخلص هذا النبات يمكن ان يستخدم كمبيد حشري طبيعي.

كلمات مفتاحية: مستخلص مائي؛ نشاط مبيدي يرقي؛ *Ruta graveolens* ; *Culiseta longiareolata*

Abstract :

The Culicidae are probably the most known and most feared insects, both for the inconvenience and nuisance of their presence, as well as for vector-borne diseases which they can inoculate during their blood meals such as dengue, filariasis, fever Yellow, the fever of the Nile Occidental virus.

In order to counter the spread of insects and epidemics, several methods involving the use of chemical insecticides have been tested.

The resistance of these insects to chemical pesticides and the bioaccumulation of toxic compounds in the environment have led research into selective and biodegradable bio-pesticides and in particular aromatic plant extracts.

In this context, this work aims to evaluate the responses of the populations of a mosquito species, *Culiseta longiareolata*, among the most widespread species in the Tebessa region to the impact of the new botanical insecticide based on aqueous extract of *Ruta graveolens*.

The results under laboratory conditions showed that the extract used was a larvicide at a high efficiency. This efficiency is expressed by the calculated toxicological parameters which are successively the LC50 and the LC90. The susceptibility of larvae is variable; This sensitivity is even higher with the increase in the concentration of the extract.

In the context of mosquito control, the extract of this plant can be used as a natural biocide.

Key words: water extract, *Ruta graveolens*, *Culiseta longiareolata*, larvicidal activity.

Résumé :

Les *Culicidae*, sont sans doute les insectes les plus connus et les plus redoutés tant pour le désagrément et nuisance que constitue leur présence, que par les maladies vectorielles qu'ils peuvent inoculer pendant leur repas sanguin tel que la dengue, la filariose, la fièvre jaune, la fièvre du virus du Nile Occidental.

Afin de contrer la propagation des insectes et des épidémies y découlant, plusieurs méthodes impliquant l'utilisation d'insecticides chimiques ont été testées. La résistance de ces insectes aux pesticides chimiques et la bioaccumulation de composés toxiques dans l'environnement ont dirigé la recherche vers des bio-pesticides sélectifs et biodégradables et en particulier les extraits de plantes aromatiques.

Dans ce contexte, ce travail a pour but d'évaluer les réponses des populations d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata* parmi les espèces les plus répandues dans la région de Tebessa à l'impact des nouvelles insecticides botaniques à base d'extrait aqueux de *Ruta graveolens*.

Les résultats dans les conditions du laboratoire ont montré que l'extrait utilisé est un larvicide à une grande efficacité. Cette efficacité s'exprime par les paramètres toxicologiques calculés qui sont successivement la CL50 et la CL90. La sensibilité des larves est variable ; cette sensibilité est encore plus élevée avec l'augmentation de la concentration de l'extrait.

Dans le cadre de lutte anti-moustique, l'extrait de cette plante peut être utilisé comme un biocide naturel.

Mots clés: extrait aqueux, *Ruta graveolens*, *Culiseta longiareolata*, activité larvicide.

Liste de tableaux

Tableau N°	Titre	Page
Tableau 1	Position systématique de <i>Culiseta longiareolata</i> .	6
Tableau 2	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du premier stade (L1) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	16
Tableau 3	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) appliquées sur des larves du premier stade (L1) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> . Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	17
Tableau 4	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) chez les larves du premier stade (L1) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> . Analyse de la variance des données.	17
Tableau 5	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du premier stade (L1) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> transformation en probits des mortalités ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	18
Tableau 6	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml), appliquées sur les larves du premier stade nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (mg/ml) en logarithmes décimaux.	18
Tableau 7	Efficacité d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> sur des larves du premier stade nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> , analyse des probits.	18
Tableau 8	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du deuxième stade (L2) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	20
Tableau 9	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du deuxième stade (L2) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> . Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	20
Tableau 10	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) chez les larves du deuxième stade (L2) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> . Analyse de la variance des données.	21
Tableau 11	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du deuxième stade (L2) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> : transformation en probits des mortalités ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	21

Liste de tableaux

Tableau 12	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml), appliquées sur les larves du deuxième stade nouvellement exuviées de <i>Cs longiareolata</i> , sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (mg/ml) en logarithmes décimaux.	21
Tableau 13	Efficacité d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> sur des larves du deuxième stade nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> , analyse des probits.	22
Tableau 14	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	23
Tableau 15	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> . Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	23
Tableau 16	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> . Analyse de la variance des données.	23
Tableau 17	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> : transformation en probits des mortalités ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	24
Tableau 18	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml), appliquées sur les larves du troisième stade nouvellement exuviées de <i>Cs longiareolata</i> , sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (mg/ml) en logarithmes décimaux.	24
Tableau 19	Efficacité d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> sur des larves du troisième stade nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> , analyse des probits.	24
Tableau 20	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	25
Tableau 21	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> . Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).	26

Liste de tableaux

Tableau 22	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> . Analyse de la variance des données répétitions comportant chacune 25 individus).	26
Tableau 23	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> : transformation en probits des mortalités ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$).	27
Tableau 24	Effet d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> (ppm), appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Cs longiareolata</i> , sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux.	27
Tableau 25	Efficacité d'extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i> sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de <i>Culiseta longiareolata</i> , analyse des probits.	27

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	<i>Culiseta longiareolata</i> .	5
Figure 2	Nacelle d'œufs de <i>Culiseta longiareolata</i> .	5
Figure 3	Dents du peigne siphonal de <i>Culiseta longiareolata</i> .	5
Figure 4	Taches d'écailles sombres sur l'aile de <i>Culiseta longiareolata</i> .	5
Figure 5	Trois Bandes blanches longitudinales de <i>Culiseta longiareolata</i> .	5
Figure 6	Lobe basal du gonocoxité de <i>Culiseta longiareolata</i> .	5
Figure 7	Cycle de développement de <i>Culiseta longiareolata</i> .	8
Figure 8	Les sites d'élevages des moustiques.	9
Figure 9	(a) Arbrisseau de <i>Ruta graveolens</i> à l'état sauvage. (b) Planche botanique de rue.	10
Figure 10	Photo de feuille et de fleurs de <i>Ruta graveolens</i> .	10
Figure 11	Photographie représentant un appareil évaporateur rotatif.	13
Figure 12	Photographie représentant la technique des bios essais.	14
Figure 13	Courbe de référence expriment les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,851$).	19
Figure 14	Courbe de référence expriment les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,927$).	22
Figure 15	Courbe de référence expriment les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,874$).	25
Figure 16	Courbe de référence expriment les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,874$).	28

Liste des symboles :

µg /ml	Microgramme /millilitre
ANOVA	Analyse de variance
C0	Dégré Celsius.
CL50	Concentration Létale de 50% de la population
CL90	Concentration Létale de 90% de la population
CM	Carré moyen
<i>Cs Longiareolata</i>	<i>Culisetalongiareolata</i>
<i>Cx Papiens</i>	<i>Culex pipiens</i>
Ddl	Nombre d'échantillons -1
DL 14	Dose létale 14
DL84	Dose létale 95
DL50	Dose létale 50
Fobs	Fde Fischer observé
g/j	Gramme /jour
g /l	Gramme /litre
Gr	Grossissement
H	Heur
HE	Huile Essentielle/Huiles essentielles
IC	Intervalle de confiance
L1	Premier stade larvaire
L2	Deuxième stade larvaire
L3	Troisième stade larvaire
L4	Quatrième stade larvaire
Log	Logarithme
M	Mètre
Mg	Milligramme
mg/l	Milligramme/litre
mg/ml	Milligramme/millilitre
ml	Millilitre
Mm	Millimètre
MOP	MéthOxyPsoralène ; bergaptène

Liste des symboles

m ± sem	Moyen ± écart moyen
N	Nombre de répétition
N	La normalité
p < 0.001	Probabilité
R²	Coefficient de variation
<i>R. montana</i>	<i>Ruta montana</i>
<i>Ruta graveolens</i>	<i>Ruta graveolens</i>
S	Ecart type estimé de la population
S	Seconde
S²	Variance estimée de la population
SD	Standard déviation
SCE	Somme des carrés des écarts
%	Pourcentage
IC	Intervalle de confiance

1. Introduction

La biodiversité peut être comprise comme une étude de la différence, à savoir ce qui distingue et par la même rend originale deux entités voisines dans l'espace ou dans le temps (**Blondel,1975**). La conservation de la biodiversité passe obligatoirement par une parfaite connaissance de la distribution de la faune et de la flore (**Lobo et al, 1997**). Cette faune qui est représentée par toutes les espèces animales d'un écosystème, compte les insectes qui constituent près de 60% du règne animal (**Pavan, 1986**) et 50% de la diversité de la planète (**Wilson, 1988**).

Appartenant à l'embranchement des Arthropodes ; les insectes hématophages sont responsables de la transmission d'agent infectieux (virus, bactérie, protozoaire ou helminthe) d'un individu infecté à un individu sain, provoquant ainsi bon nombre de maladies vectorielles (**Rodhain & Perez, 1985**), en effet leurs rôles épidémiologiques variés, ont fait d'eux un problème majeur de santé publique (**Berge, 1975 ; Jolivet, 1980**).

Ces insectes vecteurs sont principalement des moustiques, des phlébotomes, des moucheron (Culicoïdes) et des poux ; ils réalisent une transmission biologique ou active car l'agent infectieux accomplit un cycle d'amplification ou de développement au préalable chez l'arthropode vecteur, la plupart de ces maladies à transmission vectorielle sont des zoonoses (touchent les animaux) où l'homme est le plus souvent un hôte accidentel (**Amraoui et al,2012**), mais néanmoins fortement affecté.

Parmi les plus redoutables insectes vecteurs au monde, les moustiques se taillent une place de choix, ils sont affiliés à l'ordre des diptères et à la famille des Culicidés. Ils sont cosmopolites et sont groupés en deux sous-familles ; *Culicinae* et *Anophelinae* répartis à travers le monde en 1400 espèces. (**Edwards, 1932**).

A ce jour, 3530 espèces de moustiques sont décrites au niveau mondial (**Becker et al.,2003**). En Algérie *Culiseta longiareolata* est considéré parmi les espèces les plus abondantes et a une grande importance médicale et vétérinaire (**Gomes et al.,2009**).

En effet ces 30 dernières années ont vu l'apparition dramatique de maladies infectieuses, particulièrement celles à transmission vectorielle (**Gubler, 2004**) ; l'émergence, la réémergence ou la recrudescence inattendue de certaines maladies vectorielles; comme la fièvre de la vallée du Rift, le West Nile, le paludisme, la leishmaniose, l'encéphalite japonaise, la fièvre jaune ou la dengue placent ainsi chaque jour de nouvelles populations humaines dans des zones à risque d'infection ; car les vecteurs qui en sont responsable sont

largement répandues dans le monde ; surtout en zone intertropicale, plus rares cependant en zone tempérée voir septentrionale (**Amraoui et al ,2012**).

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 **Barbouche et al. (2001)**, 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. À tous ces inconvénients s'ajoute aussi un grand problème de développement de résistance aux insecticides chimiques, chez les insectes traités (**Georghiou et al., 1975 ; Sinegre et al., 1977**).

Une deuxième méthode est devenue incontournable ces derniers temps, c'est l'utilisation de plantes dans la lutte anti vectorielle, en effet ces extraits de plantes aqueux ou sous forme d'huiles essentielles contiennent des substances toxiques pouvant agir efficacement sur les moustiques. C'est des sources de molécules naturelles présentant un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal (**Guarrera, 1999**). L'histoire des plantes aromatiques et médicinales est associée à l'évolution des civilisations. Dans toutes les régions du monde, l'histoire des peuples montre que ces plantes ont toujours occupé une place importante en médecine, dans la composition des parfums et dans les préparations culinaires. L'utilisation des extraits de plantes comme le pyrèthre, la nicotine et la roténone était connue depuis longtemps déjà comme agents de lutte contre les insectes (**Crosby et al., 1966**), ainsi que les pyréthrinés considérées comme des insecticides naturels extraits de plantes (**Aligon et al. 2010**).

D'après **Rageau et Delaveau (1980)** les extraits de plantes agissent de deux façons possibles ; une action larvicide pouvant causer une mortalité appréciable des larves en 1 à 12 jours, ou une action juvénile mimétique de l'hormone juvénile, avec allongement de la durée de la vie larvaire pouvant inhiber la nymphose. Possibles ; une action larvicide pouvant causer une mortalité appréciable des larves en 1 à 12 jours, ou une action juvénile mimétique de l'hormone juvénile, avec allongement de la durée de la vie larvaire pouvant inhiber la nymphose.

Dans ce contexte, notre travail 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'extrait aqueux d'une espèce de *Ruta graveolens*, sur :

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) d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* à l'égard des larves du premier, deuxième, troisième et quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*

2. Matériels et méthodes

2.1. Présentation du matériel biologique

2.1.1. Présentation de l'insecte

Culiseta longiareolata est un insecte nuisible à métamorphose complète, c'est-à-dire que la larve ne ressemble pas à l'adulte, plus abondant dans les régions chaudes. Il fait partie des Diptères, famille des Culicidés. Ce moustique a une taille qui varie de 3 à 5 mm (Villeneuve & Désiré, 1965). Il possède un corps mince et des pattes longues et fines avec des ailes membraneuses, longues et étroites (Figure 01).

L'identification de cette espèce, ne présente pas de difficultés ; ses antennes non spéculées et son siphon très court presque conique et a une selle du segment anal interrompuesont des caractères très originaux (Abdel-Malek, 1960).

Culiseta Longiareolata est une espèce multivoltine, et 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 maximum de densité au printemps et un autreen automne (Bruhnes et al., 1999).

Les oeufs de *Culiseta Longiareolata* ont une forme cylindro-conique, groupés en nacelleporte environ 50 à 200 oeufs (Boulkenafet, 2006) (Figure 02). Les larves sont de types carnivores, caractérisées par un peigne siphonal dont ses dents sont implantées irrégulièrement (Figure 03). Chez l'adulte, on remarque la présence au moins d'une tache d'écailles sombres sur l'aile (Figure 04), le thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues et fortes au niveau du lobe basal du gonocoxite (Figure 05, 06).

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 (Bruhnes et al., 1999).

Culiseta Longiareolata est une espèce à large répartition qui est présente dans le sud de la région paléarctique dans les régions orientale et afro-tropicale. Elle est très commune dans toute l'Afrique méditerranéenne (Abdel-Malek, 1960)



Figure 01 : *Culiseta longiareolat*



Figure 02 : Nacelle d'œufs de *Culiseta*

Longiareolata (Gr :X 40) .



Figure 03 : Dents du peigne siphonal
(flèche) de *Culiseta longiareolata* (Gr :X 40) .

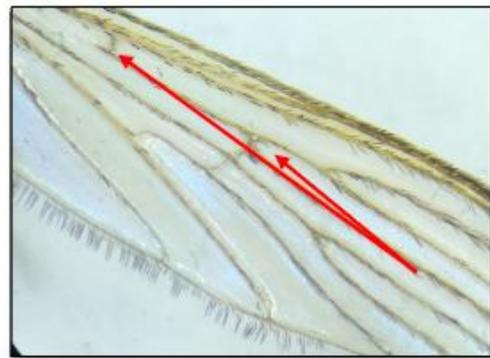


Figure 04 : Taches d'écailles sombres
sur l'aile (flèche) de *Culiseta longiareolata*

(Gr :X 40)



Figure 05 : Trois Bandes blanches
longitudinales de (flèche) *Culiseta*
longiareolata (Gr : X 40) .

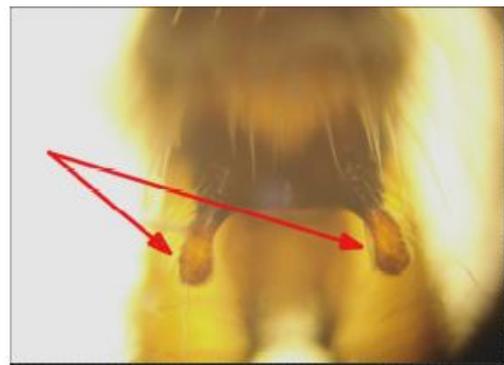


Figure 06 : Lobe basal du gonocoxité
(flèche) de *Culiseta longiareolata* (Gr :X

150)

2.1.2 Position systématique

La position systématique de *Culiseta Longiareolata* est la suivante :

Tableau 01 : Position systématique de *Culiseta Longiareolata*.

Règne	Animalia
Sous-règne	Metazoa
Embranchement	Arthropoda
Sous-embranchement	Hexapoda
Super-classe	Protostomia
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 l</i>
Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954).

2.1.3 Cycle de développement

La biologie de l'adulte est particulière dans le sens où, la femelle, pour amener ses œufs à maturité, a un besoin vital de sang. En effet, ce repas de sang apporte la chaleur et les protéines nécessaires au développement des oeufs (Rageau et al., 1970). La vie de cet espèce est composée de 3 stades distincts : les stades larvaires, nymphal (tous deux aquatiques) et le stade adulte (aérien) (Figure 07) :

Les oeufs : les femelles pondent les oeufs sur la surface des gîtes différents (bassins, puits abandonnés, trous des rocher, mers, 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 oeufs sont fusiformes, ils ont une taille de 0,5 à 1 mm. Au moment de la ponte ils sont blanchâtres et prennent rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la chitine ; une couleur noire (**Peterson, 1980**).

Les larves : 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 2 mm à 12 mm (**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**).

Les nymphes : 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**).

Les adultes (ou l'imago) : 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 différenciés (**Boulkenafet, 2006**).

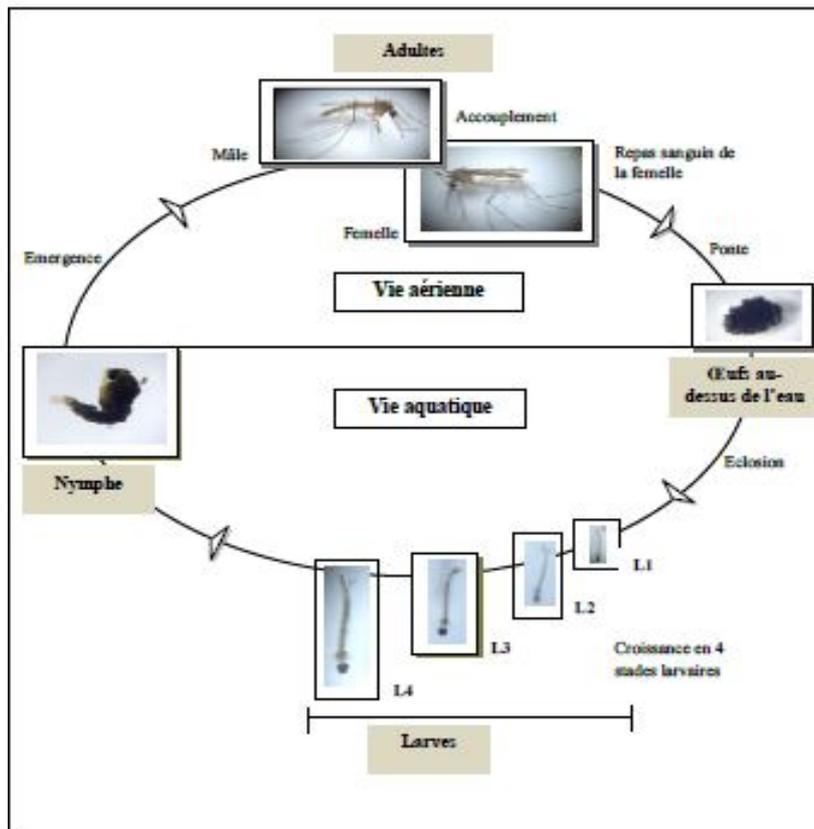


Figure 07 : Cycle de développement de *Culiseta longiareolata* .

2.2. Technique d'élevage

Les oeufs et les larves de moustiques sont récoltés dans des citernes situées au niveau de différentes régions de la ville de Tébessa (Wilaya de Tébessa) (Figure08). Les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients en plastique contenant d'eau déchlorurée et nourries avec 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'oeufs par rapport aux femelles nourries de sucre seulement (Wigglesworth, 1972). Lorsque les larves atteignent le stade nymphal, elles sont placées dans des récipients et déposées dans des cages où elles se transformeront en adulte qui se nourrit de raisin sec et de datte.



Figure 08 : les sites d'élevage des moustiques .

2.3. Présentation de *Ruta graveolens*

2.3.1. Description botanique

Ruta graveolens L appelée communément rue fétide, rue des jardins, herbe de grâce, rue officinale, ou rue commune est un arbrisseau de la famille des *Rutaceae*, du genre *Ruta* (Figure 9 a,b). C'est une plante méditerranéenne semi arbustive, d'un mètre de haut environ, très ramifiée et ligneuse à la base. Ses feuilles (figure 10) d'un vert terne, semi persistantes, sont alternes, pennatiséquées (souvent trilobées) et de consistance un peu charnue. La floraison s'étend de mai à août. Ses fleurs (figure 10), regroupées en corymbe, sont composées de 4 à 5 pétales jaunes verdâtres soudés à la base, du même nombre de sépales et de 8-10 étamines. La plante est hermaphrodite et entomogame. Les fruits sont des capsules déhiscentes libérant à maturité de petites graines noirâtres. Le mode de dissémination des graines est barochore.

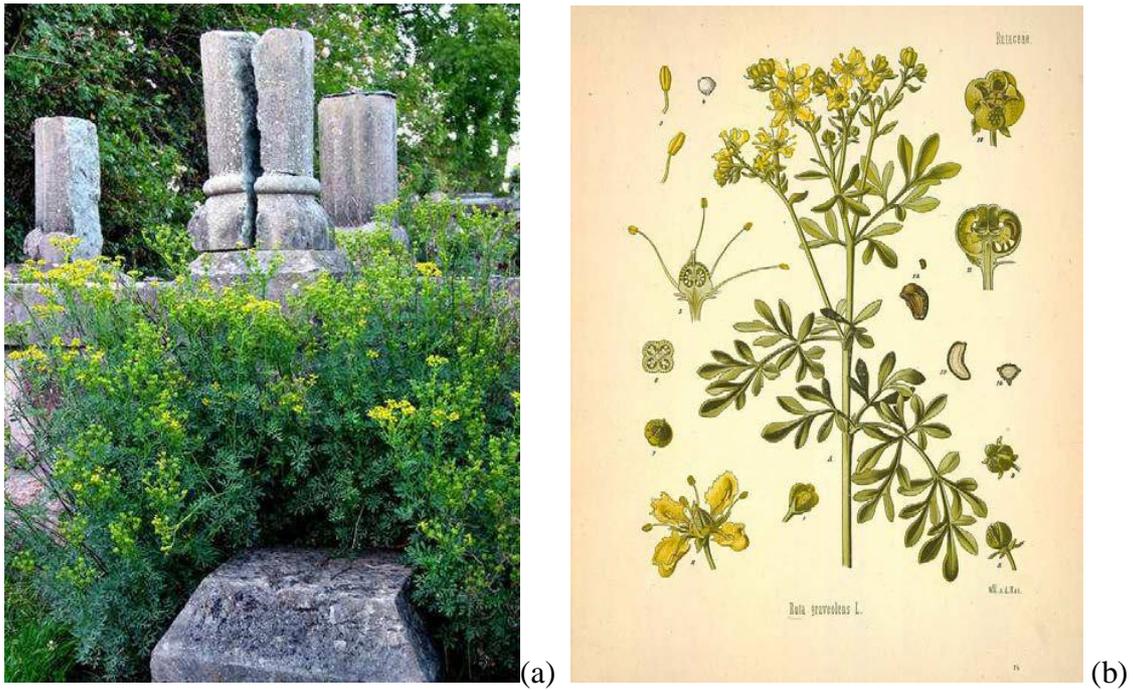


Figure 9 (a, b) : (a) Arbrisseau de *Ruta graveolens* L à l'état sauvage
(b) planche botanique de rue (<http://botanical.com/>).



Figure 10 : Photo de feuille et de fleurs de *Ruta graveolens* L

2.3.2 Classification de *Ruta graveolens* : (Wiart, 2006 ; Bonnier, 1999 ; Takhtajan, 2009)

Règne : Plantae

Sous règne : Tracheobionta

Super division : Spermatophyta

Division : Magnoliophyta

Sous division : Angiospermae

Classe : Magnoliopsida

Sous classe : Rosidae

Super ordre : Rutanae

Ordre : Sapindales

Famille : Rutaceae

Genre : *Ruta*

Espèce : *Ruta graveolens* L

2.3.3. Origine

La rue des montagnes appartient à la famille des Rutaceae, elle comporte environ 700 espèces spontanées et est présentes dans les lieux arides de la région méditerranéenne sous un climat tempéré et chaud. Donc présente en Espagne, Portugal, Italie septentrionale, Grèce, Turquie; Afrique septentrionale et Asie Mineure et Caucase (**Hammiche et al, 2013**). Elle a été la première plante introduite sur le continent américain (**Heinrich et al, 2006**).

2.3.4. Exigences et culture

Culture : en plein soleil ou à l'ombre partielle, de même au sec, dans un sol assez riche, de préférence très bien drainé, mais la rue accepte bien les terres argileuses, fortes. La multiplication se fait par semi ou bouturage (**Doerper, 2008**).

2.3.5. Domaines d'usage

La plante serait un répulsif pour les moustiques et les serpents ;c'est un antidote des empoisonnements par les venins de serpents et de scorpions, *per os* et en cataplasmes, au niveau de la morsure ou de la piqure. Elle est aussi utilisée en fumigations pour la toux persistante et figure, seule ou associée à d'autres espèces, dans des préparations rituelles destinées a chasser les maléfices et a conjurer le mauvais sort. Ceux qui tolèrent son gout,

utilisent, comme épice, les feuilles fraîches ou sèches et moulues. Leur amertume stimule l'appétit et leur arôme donnerait un goût agréable au poisson et relèverait le gibier; en Italie, elles aromatisent le vinaigre et l'alcool nommé « grappa». (Kybal, 1987).

En Algérie, l'essence de *R. Montana* était très appréciée dans l'industrie des parfums synthétiques. Au Maroc, la poudre de *R. Montana*, avec une posologie de 2 cachets de 0,50 g/j, pendant 3 semaines, a été utilisée avec succès dans une dizaine de cas de paralysie faciale, après échec des traitements conventionnels sans qu'il soit possible de rattacher cette activité à l'un des constituants de la plante. (Abrous A, 1982).

2.3.6. Composition chimique

Les plantes appartenant au genre *Ruta* produisent de nombreux métabolites secondaires dont les furanocoumarines. On y trouve également des alcaloïdes acridones et des furoquinolines distribués exclusivement dans la famille des *Rutaceae*. Elles contiennent entre 4 et 17 mg de furanocoumarines par gramme de matière sèche. Ces concentrations sont plus importantes que celles trouvées dans d'autres familles connues qui produisent les mêmes composés (*Moraceae*, *Apiacea*, et *Fabaceae*). Les dérivés du psoralène sont surtout stockés au niveau des fruits, et dans une moindre mesure au niveau des feuilles. Les furanocoumarines rencontrées principalement au niveau des feuilles sont le psoralène, le bergaptène (5-MOP) et la xanthotoxine (8-MOP). Des investigations menées sur quatre plantes du genre *Ruta* (*Rutagraveolens*, *Ruta chalepensis*, *Ruta angustifolia*, et *Ruta montana*) ont montré que *R. graveolens* est le meilleur candidat pour la production de furanocoumarines, en considérant le niveau de production et la résistance au froid (Milesi et al. 2001).

2.4. Préparation de l'extrait végétal

L'extrait aqueux est obtenu par solubilisation des fractions actives dans de l'eau distillée et du méthanol. 80 grammes de la poudre végétale est mis dans un ballon de 1000 ml capacité avec suffisamment de la solution aqueuse de méthanol (8:2) (800 de méthanol et 200 d'eau distillée). Le mélange est porté à ébullition à 50°C pendant 6 heures. L'homogénat est refroidi et filtré à l'aide d'un papier filtre standard de type FIORONI R0122A00010. Pour éliminer le méthanol, le filtrat est soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotavapor de type IKA-WERKE GMBH & CO KG référence D-79921 RV06-ML pendant 2 à 3 heures. Le produit obtenu, est un extrait aqueux conservé dans un bocal hermétiquement fermé et couvert par du papier aluminium. L'extrait est utilisé par la suite aux tests biologiques.



Figure 11 : Photographie représentant un appareil Rotavapor.

2.5. Réalisation des tests de toxicité

La méthodologie de nos tests est inspirée de la technique des tests de sensibilité normalisés par l'Organisation Mondiale de la Santé, adoptée pour tester la sensibilité des larves, vis-à-vis des insecticides utilisés en campagnes de lutte (OMS, 1963).

Les concentrations ainsi préparées pour la plante *Ruta graveolens*, seront utilisées dans les essais toxicologiques à l'égard des différents stades larvaires de *Culiseta longiareolata* et ceci en plaçant 150 ml d'eau déchlorurée dans un gobelet en plastique (figure 12), auquel sont rajoutés 25 larves.

Les expériences ont été menées avec trois répétitions pour chaque concentration utilisée ainsi qu'un groupe témoin et le nombre de larves mortes ont été comptées après 24 heures d'exposition. Pour prévenir la mortalité causée par la faim, les larves sont nourries après 24 heures d'exposition.

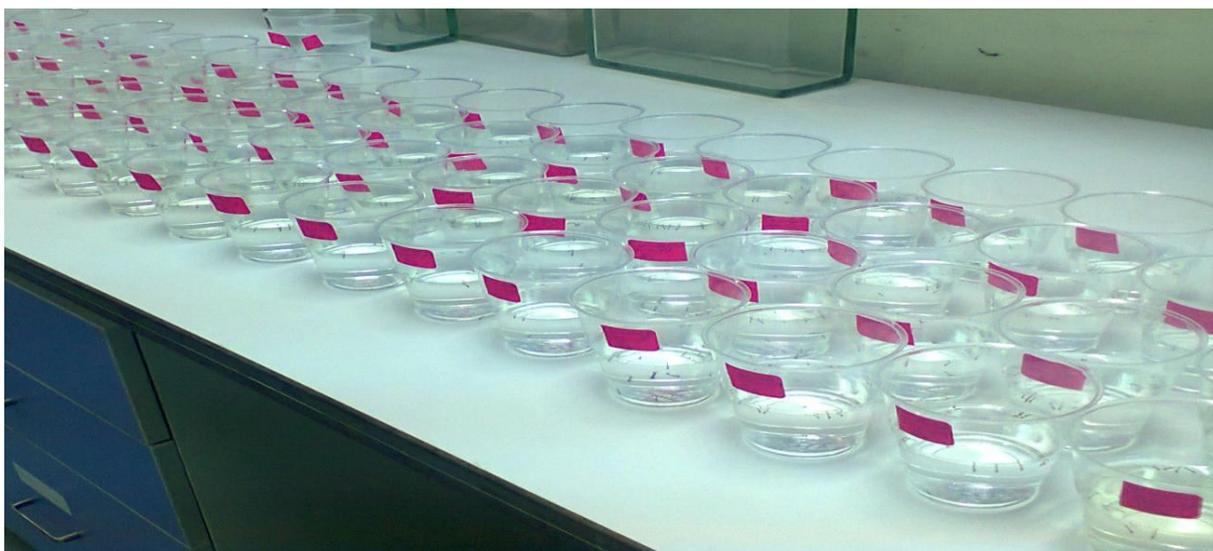


Figure 12 : Photographie représentant la technique des bios essais.

Afin de caractériser l'effet toxicologique des huiles essentielles, il est nécessaire d'estimer les concentrations létales (CL_{50} et CL_{90}). 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% :

Pourcentage de
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^{er} paramètre est le Slope, noté par (S) est donné par la formule suivante :

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

- Le 2^{ème} paramètre est Fdl50 est donnée par la formule suivante :

$$\begin{aligned}\text{Log Fdl50} &= \text{Log } S^{2,77/\sqrt{N}} \\ &= (2,77/\sqrt{N}) \times S\end{aligned}$$

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

Fdl50 = anti log A

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

Limite supérieure est égale DL50 \times Fdl50.

Limite inférieure est égale DL50 / Fdl50.

2.6. 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 \pm l'écart-type (SD). Les quantités des métabolites (protéines, glucides et lipides) sont déterminées à partir des courbes d'étalonnage dont l'équation de la droite de régression exprime l'absorbance en fonction de la quantité du standard utilisé (albumine, glucose et l'huile de tournesol). Le test t de Student et l'analyse de la variance à un et deux critères de classification, ont été utilisés.

3. Résultats

3.1. Toxicologie d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* sur les larves du premier stade

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

Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du premier stade (L1) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* avec des différentes concentrations d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* : 4, 6, 7, 8 et 10 mg/ml pendant 24 h. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le tableau 2 avec des taux variant de 8 % (4 mg/ml) à 100 % (10mg/ml) avec une relation concentrations – réponse. Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités (**Tableau 3**), Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (**Tableau 4**) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif ($p < 0.001$).

Tableau 02 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du premier stade (L1) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins	4 mg/ml	6 mg/ml	7 mg/ml	8 mg/ml	10 mg/ml
1	0	8	36	52	84	100
2	0	8	28	48	76	100
3	0	8	32	64	88	100
m ± SEM	0,00 ±0,0	8±0,0	32±2,67	54.67±6,22	82,67±4,44	100±0,0

Tableau03. Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) appliquées sur des larves du premier stade (L1) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	4 mg/ml	6 mg/ml	7 mg/ml	8 mg/ml	10 mg/ml
1	16,43	36,87	46,15	66,42	84,26
2	16,43	31,95	43,85	60,67	84,26
3	16,43	34,45	53,13	69,73	84,26

Tableau 04 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) chez les larves du premier stade (L1) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Analyse de la variance des données.

Source de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	4	16582,4	4145,6	168,98	0,000***
Résiduelle	10	245,3	24,5		
Totale	14	16827,7			

Les concentrations létales, la CL_{50} (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 14) qui exprime le probit du pourcentage de mortalité en fonction du logarithme décimal des concentrations des HE (Tableau 6 et 7). Les concentrations CL_{50} et CL_{90} , déterminées sont respectivement de 5,90 mg/ml (intervalle de confiance : 5,75 – 6,04) et 7,54 mg/ml (intervalle de confiance : 6,87 – 8,28), avec un Slope de 1, 21 (Tableau 5).

Tableau 05 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du premier stade (L1) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* transformation en probits des mortalités ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (mg/ml)	4	6	7	8	10
Probits	3,59±0,0	4,53±0,37	5,43±0,37	5,96±0,17	8,72±0,00

Tableau 06. Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml), appliquées sur les larves du premier stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (mg/ml) en logarithmes décimaux.

Concentrations (mg/l)	4	6	7	8	10
Log concentrations (x)	0,60	0,77	0,84	0,90	1

Tableau 07 : Efficacité d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* sur des larves du premier stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, analyse des probits.

	Equation	R ²	Slope	CL50 (mg/ml)IC (95%)	CL 90 (mg/ml)IC (95%)
Extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i>	$y = 11,99x - 4,25$	0,851	1,21	5,90 (5,75– 6,04)	7,54 (6,87 – 8,28)

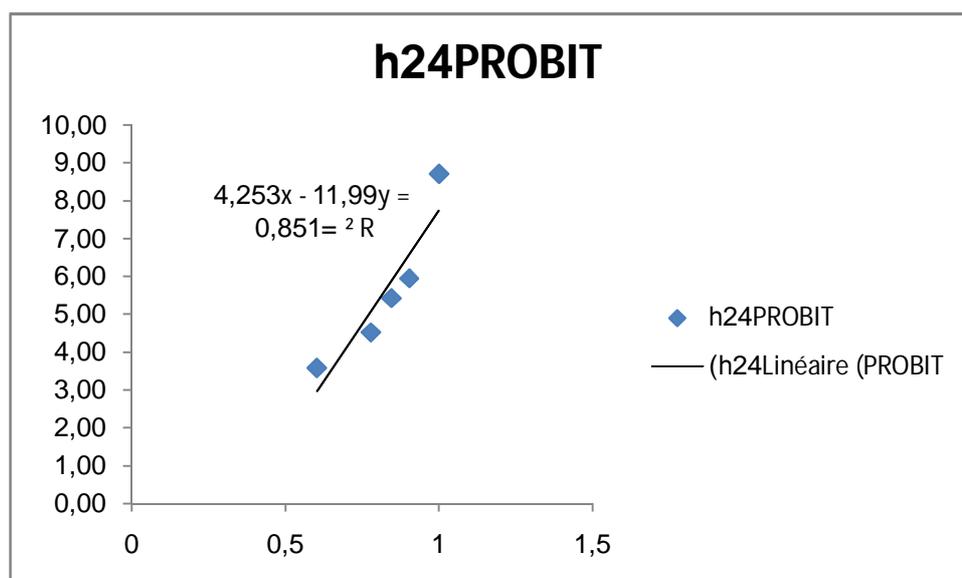


Figure 13 : Courbe de référence expriment les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,851$).

3.2. Toxicologie d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* sur les larves du deuxième stade

Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du deuxième stade (L2) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* avec des différentes concentrations d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* : 8, 10, 12 et 16 mg/ml pendant 24 h. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le tableau 8 avec des taux variant de 50,67 % (8 mg/ml) à 100 % (16 mg/ml) avec une relation concentrations – réponse. Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités (Tableau 9), Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 10) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif ($p < 0.001$).

Tableau 08 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du deuxième stade (L2) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* ($m \pm sem$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins	8 mg/ml	10 mg/ml	12 mg/ml	16 mg/ml
1	0	52	76	84	100
2	0	48	76	92	100
3	0	52	72	92	100
m ± sem	0,00 ±0,0	50,67±2,31	74,67±2,31	89,33±4,62	100±0,0

Tableau09.: Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du deuxième stade (L2) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm sem$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	8 mg/ml	10 mg/ml	12 mg/ml	16 mg/ml
1	46,15	60,67	69,73	84,26
2	48,15	60,67	69,73	84,26
3	48,15	66,42	73,57	84,26

Tableau 10 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) chez les larves du deuxième stade (L2) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Analyse de la variance des données.

Source de variation	Ddl	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	3	4106,67	1368,89	171,11	0,000***
Résiduelle	8	64,00	8,00		
Totale	11	4170,67			

Les concentrations létales, la CL₅₀ (où l'insecticide induit la mortalité de 50 % de la population ciblée), et la CL₉₀ (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 d'extrait aqueux (**tableau 11 et 12**). Les concentrations CL₅₀ et CL₉₀, déterminées sont respectivement de 8,38 mg/ml (intervalle de confiance : 8,18–8,58) et 10,72 mg/ml (intervalle de confiance : 9,76 – 11,77), avec un Slope de 1,21 (**tableau 13**).

Tableau 11 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du deuxième stade (L2) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* : transformation en probits des mortalités (m ± sem, n = 3 répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (mg/l)	8 mg/ml	10 mg/ml	12 mg/ml	16 mg/ml
Probits	5,02±0,04	5,91±0,28	6,27±0,18	8,72±0,00

Tableau 12. Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml), appliquées sur les larves du deuxième stade nouvellement exuviées de *Cs longiareolata*, sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (mg/ml) en logarithmes décimaux.

Concentrations (mg/ml)	8 mg/ml	10 mg/ml	12 mg/ml	16 mg/ml
Log concentrations (x)	0,90	1	1,07	1,20

Tableau 13 : Efficacité d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* sur des larves du deuxième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, analyse des probits.

	Equation	R ²	Slope	CL50 (mg/ml)IC (95%)	CL 90 (mg/ml)IC (95%)
Extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i>	$y = 11,97x - 6,05$	0,926	1,21	8,38 (8,18–8,58)	10,72 (9,76–11,77)

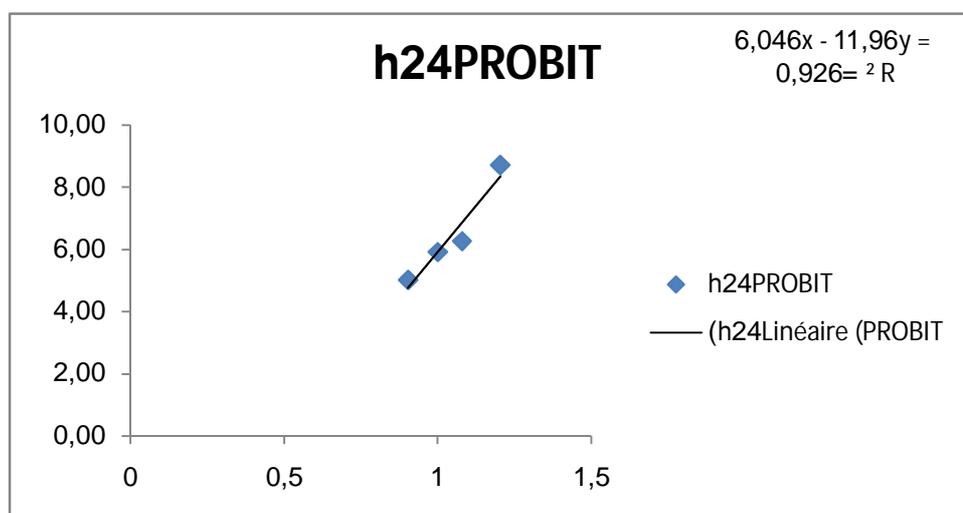


Figure 14 : Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,927$).

3.3. Toxicologie d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* sur les larves du troisième stade

Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* avec des différentes concentrations d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* : 8, 10, 12, 16 et 20 mg/ml pendant 24 h. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le tableau 14 avec des taux variant de 32 % (8 mg/ml) à 100 % (20 mg/ml) avec une relation concentrations – réponse. Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités (**Tableau 15**), Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (**Tableau 16**) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif ($p < 0.001$).

Tableau 14 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins	8 mg/ml	10 mg/ml	12 mg/ml	16 mg/ml	20 mg/ml
1	0	28	52	76	88	100
2	0	32	56	76	88	100
3	0	36	56	84	92	100
m \pm sem	0,00 \pm 0,0	32 \pm 4,0	54,67 \pm 2,31	78,67 \pm 4,62	89,33 \pm 2,31	100 \pm 0,0

Tableau 15.: Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	8 mg/ml	10 mg/ml	12 mg/ml	16 mg/ml	20 mg/ml
1	31,95	46,15	60,67	69,73	84,26
2	34,45	48,15	60,67	69,73	84,26
3	36,87	48,15	66,42	73,57	84,26

Tableau 16 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Analyse de la variance des données.

Source de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	4	9070,93	2267,73	236,22	0,000***
Résiduelle	10	96,00	9,60		
Totale	14	9166,93			

Les concentrations létales, la CL_{50} (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 d'extrait aqueux (Tableau 17 et 18). Les concentrations CL_{50} et CL_{90} , déterminées sont

respectivement de 9,62 mg/ml (intervalle de confiance :9,32–9,92) et 13,12 mg/ml (intervalle de confiance : 11,81 – 14,56), avec un Slope de 1,27 (**Tableau 19**).

Tableau 17 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* : transformation en probits des mortalités ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (mg/l)	8 mg/ml	10 mg/ml	12 mg/ml	16 mg/ml	20 mg/ml
Probits	4,53±0,08	5,12±0,04	5,80±0,13	6,25±0,10	8,72±0,00

Tableau 18. Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens*(mg/ml), appliquées sur les larves du troisième stade nouvellement exuviées de *Cs longiareolata*, sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (mg/ml) en logarithmes décimaux.

Concentrations (mg/ml)	8 mg/ml	10 mg/ml	12 mg/ml	16 mg/ml	20 mg/ml
Log concentrations (x)	0,90	1	1,07	1,20	1,30

Tableau 19 : Efficacité d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* sur des larves du troisième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, analyse des probits.

	Equation	R ²	Slope	CL50 (mg/l)IC (95%)	CL 90 (mg/l)IC (95%)
Extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i>	$y = 9,52x - 4,36$	0,874	1,27	9,62 (9,32–9,92)	13,12 (11,81–14,56)

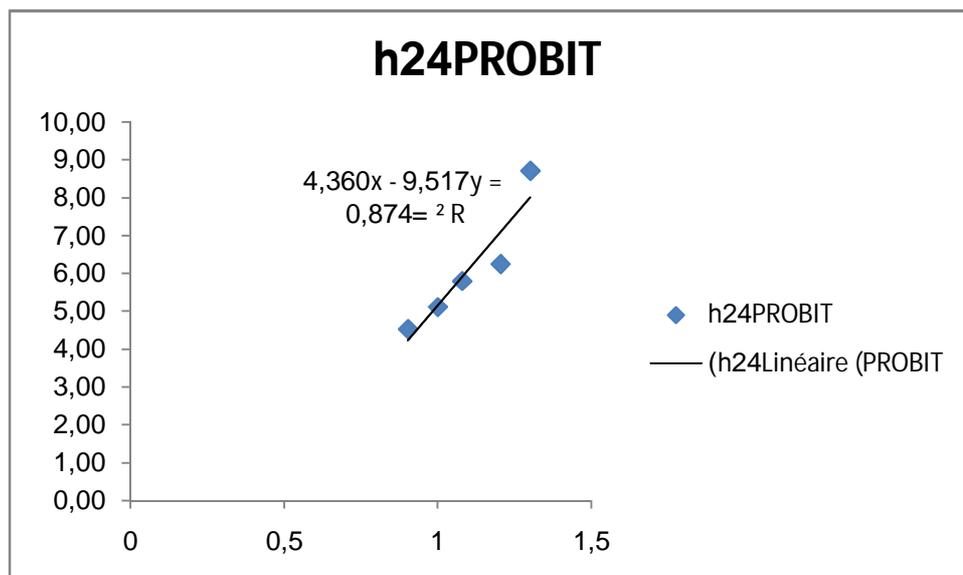


Figure 15 : Courbe de référence expriment les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,874$).

3.4. Toxicologie d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* sur les larves du quatrième stade

Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* avec des différentes concentrations d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* : 20, 40, 60, 80,120 et 160 mg/ml pendant 24 h. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le tableau20 avec des taux variant de 4 % (20 mg/ml) à 100 % (160 mg/ml) avec une relation concentrations – réponse. Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités (**Tableau 21**),Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (**Tableau 22**) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif ($p < 0.001$).

Tableau 20 :Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* ($m \pm sem$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	Témoins	20 mg/ml	40 mg/ml	60 mg/ml	80 mg/ml	120 mg/ml	160 mg/ml
1	0	4	24	44	72	88	100
2	0	4	24	48	76	92	100
3	0	4	16	48	72	88	100
m ± sem	0,00 ±0,0	4±0,0	21,33±4,62	46,67±2,31	73,33±2,31	89,33±2,31	100±0,0

Tableau 21.: Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité observée chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Transformation angulaire du taux de mortalité corrigée ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations Répétitions	20 mg/ml	40 mg/ml	60 mg/ml	80 mg/ml	120 mg/ml	160 mg/ml
1	11,54	29,33	41,52	60,67	69,73	84,26
2	11,54	29,33	43,85	60,67	73,57	84,26
3	11,54	23,58	43,85	58,16	69,73	84,26

Tableau 22 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*. Analyse de la variance des données.

Source de variation	ddl	SCE	CM	Fobs	P
Factorielle	5	22020,44	4404,09	707,80	0,000***
Résiduelle	12	74,67	6,22		
Totale	17	22095,11			

Les concentrations létales, la CL_{50} (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 17) qui exprime le probit du pourcentage de mortalité en fonction du logarithme décimal des concentrations d'extrait aqueux (Tableau 23 et 24). Les concentrations CL_{50} et CL_{90} , déterminées sont respectivement de 52,75 mg/ml (intervalle de confiance : 49,95–55,75) et 91,11 mg/ml (intervalle de confiance : 78,77 – 105,37), avec un Slope de 1,52 (Tableau 25).

Tableau 23 : Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (mg/ml) sur le taux (%) de mortalité chez les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* : transformation en probits des mortalités ($m \pm \text{sem}$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentrations (mg/l)	20 mg/ml	40 mg/ml	60 mg/ml	80 mg/ml	120 mg/ml	160 mg/ml
Probits	3,25±0,0	4,20±0,13	4,92±0,04	5,63±0,05	6,25±0,10	8,72±0,00

Tableau 24. Effet d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* (ppm), appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs longiareolata*, sur le taux de mortalité corrigée : transformation des concentrations (ppm) en logarithmes décimaux

Concentrations (mg/l)	20 mg/ml	40 mg/ml	60 mg/ml	80 mg/ml	120 mg/ml	160 mg/ml
Log concentrations (x)	1,30	1,6	1,78	1,9	2,07	2,20

Tableau 25 : Efficacité d'extrait aqueux de *Ruta graveolens* sur des larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, analyse des probits.

	Equation	R ²	Slope	CL50 (mg/l)IC (95%)	CL 90 (mg/l)IC (95%)
Extrait aqueux de <i>Ruta graveolens</i>	$y = 5,41x - 4,3$	0,874	1,52	52,75 (49,95–55,75)	91,11 (78,77–105,37)

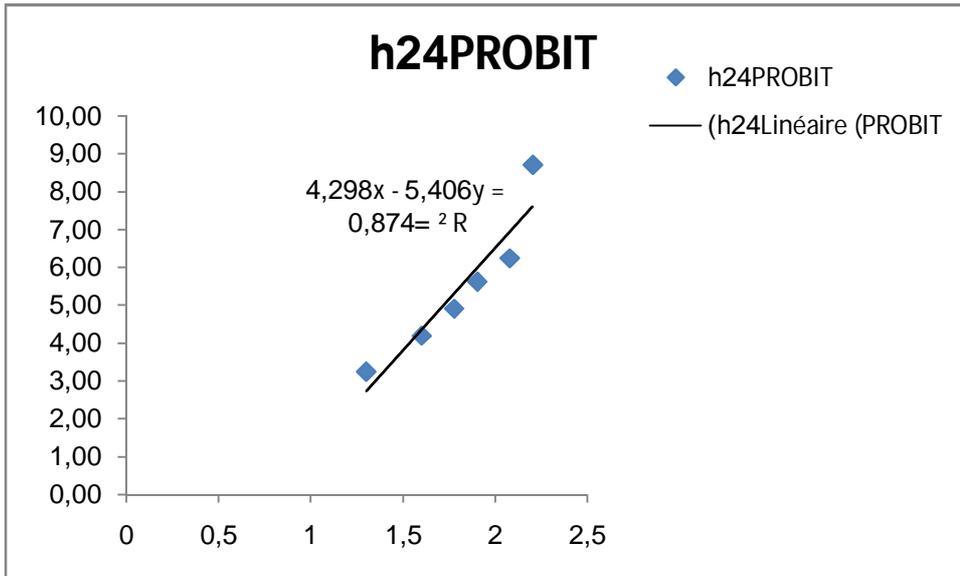


Figure 16 : Courbe de référence exprimant les probits en fonction des logarithmes décimaux des concentrations ($R^2=0,874$).

Discussion :

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 ; Habbachiet al., 2013 ; Aouati&Berchi, 2015**).

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 Corrigiolatelephiifolia* (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 **Janget al. (2002 a)** ont démontré l'activité larvicide de certaines légumineuses vis à vis deux espèces, *Ae. Aegyptiet Cx. pipiens*. A son tour, **Alaoui-Slimani.(2002)** a confirmé la toxicité de *Menthapulegium*(Labiée) sur des larves de culicidés.

L'activité larvicide des extraits de plantes médicinales aromatiques a aussi été confirmée dans les travaux de **Janget 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 (**Barboucheet 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 *Culiseta longiareolata* vu les taux de mortalités observés pour cet extrait à chaque stade de développement de moustique de notre travaille (L1, L2, L3, L4) présente à chaque fois un effet toxique.

Les résultats obtenus révèlent une sensibilité variable des larves de *Culiseta longiareolata* on traduite 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 *Culiseta longiareolata* avec une mortalité de 100% pour une dose de **160 mg/ml** après 24h d'exposition. Cette sensibilité est d'autant plus accrue que larves à l'insecticide est prolongée dans le temps. Ce que **El banna (2006)** a confirmé, où il rapporte l'existence d'une relation directe entre la mortalité et le temps d'exposition.

Ce résultat Concord de parfaitement avec les explications apportées dans l'étude de **Seyeet al., (2006)**, où les auteurs stipulent dans leur étude toxicologique portant sur l'effet de la poudre de nem 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 progressirve. Les mêmes faits sont également rapportés dans l'étude de **Koua, (1994)** portant sur l'effet de l'extrait aqueux de *Persea americana* sur différents stades larvaires d'*Anopheles gambiaes*, car en effet l'auteur précise que tous les stades larvaires d'*Anopheles gambiaes* sont sensibles à l'extrait aqueux de *Persea Americana* et que cette sensibilité augmente avec la concentration, et le temps de contact larve-insecticide en concluant que ces faits s'expliquent par une chronologie d'action de la toxine présente dans l'extrait aqueux de *Persea americana* .

En ce qui concerne les résultats obtenue pour les concentrations létales d'extrait de plante, il à été observé qu'elles diminuent en fonctions 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 gambiaes* 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 **Hifnawyet al, (2001)** sur l'utilisation de l'extrait d'*Artemisia herba halba* à l'égard les 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 **Azaizehet al, (2007); Soliman,(2006) Soliman, (2007) et Taniet 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; Subohet al, 2004**), son activité nématocide (**Al-Banna et al, 2004**), son activité antibactérienne (**Yashpheet al, 1979; Sherif et al,1987; Marrifet al ,1995; Hifnawyet al, 2001**), son activité antiparasitaire (Idris et al ,1982; Al-Waili, 1988) et son activité anti leishmaniose (**Hatimiet al, 2001**).

Des essais préliminaires de l'effet larvicide de l'extrait *Ruta graveolens* ont été effectués sur les stades larvaires de *Culiseta longiareolata* (L1 ,L2,L3,L4) afin d'estimer les concentrations entraînant une mortalité de 50% et 90% des larves selon le modèle des Probits. Au vu des résultats, les concentrations qui causent la mortalité de 50% et 90% des larves sont de l'ordre de 0,0015mg/ml et 0,0094 mg/ml respectivement. **Karch et Charles (1987)**, note dans son étude sur l'effets larvicides d'une souche bactérienne soit la souche 1593-4 de *Baeillusphaericus* (Bacillales,Bacillaceae) sur les larves de troisième stade de *Culex pipiens* (Diptera- Culicidae) des doses létales de l'ordre de : DL50 =0,0051 mg/l et DL90=0,0265 mg/l), chez *Anopheles stephensi*, elle est de :DL50 = 0,064 mg/l et la DL90=0,296 mg/l), Pour *Aedesaegypti* la DL50 est de 4,81mg/l et la DL90 est de l'ordre de 44,65mg/l). En effet, les travaux de **Bourgouin (1981), Pillai (1981), Dagnogo et Coz (1982)** ont noté ces mêmes variations, notamment la forte sensibilité de *Culex pipiens* à un grand nombre de souches pathogènes de *Baeillusphaerieuse*. Les CL50 calculées par **Aounty et al. (2006)** sur les larves du quatrième stade (L4) de *Culex pipiens*, sont de l'ordre 530 mg/l pour l'extrait de *Tetraclinis articulata* Vahl (Cupressaceae) et alors que pour l'extrait aqueux de *Ricinus communis*. (*Euphorbiaceae*) est de 600mg/l. Ces résultats, bien qu'ils soient préliminaires, illustrent bien l'intérêt que présentent les extraits végétaux dans la lutte anti-larvaire.

En 1997, **Satymoorthy et al.** ont montré l'activité larvicide des extraits aqueux de 16 plantes sur larves d'*Aedesaegypti*. Ils ont obtenu une valeur de DL50 1 plus faible de 2,40±0,31mg/l pour l'extrait de *Nicotianarustica* L. (Solanaceae). **Alouani et al. (2009)** ont travaillé sur l'activité larvicide *Azadirachtaindica* A.Juss. (*Meliaceae*) contre les larves de 4e stade de *Culex pipiens*, les valeurs de CL50 et CL90 rapportées étaient de 0,35mg/l et 1,28 mg/l respectivement. Dans l'étude de **Chetan (2010)**, sur l'activité larvicide de

Cestrum diurnum (Solanaceae) sur larves de 3^e stade d'*Aedes aegypti* (Diptera- Culicidae) la CL₅₀ de l'extrait méthanolique de cette plante est de 14 µg/ml. Par ailleurs, la toxicité de l'extrait de *Nerium oleander* a été étudiée sur des larves au stade 4 de *Culex pipiens* dans les travaux de **Aouinty et al. (2006)** les essais ont démontré une activité insecticide avec une CL₅₀ de 3130 mg/l, ceci concorde avec les résultats de nos essais obtenus chez la même espèce exposée au *Nerium oleander* avec une DL 50 de 160.97g/l. Des études similaires réalisées par **Traboulsi et al. (2002)** ont démontré l'activité insecticide de quatre plantes médicinales récoltées au Liban (*Myrtus communis* L., *Lavandula stoechas* L., *Origanum syriacum* L. et *Mentha microphylla* K.) sur les larves de *Culex pipiens molestus* F. Les CL₅₀ obtenues étaient comprises entre 16 et 89 mg/l. Ainsi, notre traitement par l'extrait aqueux de *Myrtus communis* chez *Culex pipiens* affiche les mêmes observations et révèle une DL₅₀ de 86.49 g/ pendant 24h d'exposition. En outre, **Aouinty et al., (2006)**, montre que l'application des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata*) sur les larves du deuxième et quatrième stade de quatre espèces de moustiques : *Culex pipiens*, *Aedes caspius*, *Culiseta longiareolata* et *Anopheles maculipennis*, induit un effet toxique, car on note des résultats comparables entre les espèces testées, sauf que *Cs longiareolata* est l'espèce la plus sensible comparativement aux autres avec des DL₅₀ de 110 mg/L pour l'extrait de ricin et 250 mg/L pour le bois de thuya, contrairement à *A. maculipennis* où ces extraits sont moins toxiques (**Aouinty et al., 2006**). Les mêmes résultats ont été signalés après application des extraits de 5 plantes (*Ammi visnaga*, *Tetraclinis articulata*, *Ricinus communis*, *Nerium oleander* et *Inula viscosa*) sur *Culex pipiens* (**Aouinty et al., 2006**), de l'extrait de *Mentha pulegium* (Labiée) sur les larves du deuxième et quatrième stade de culicidés (**Aouinty et al., 2006**) et des composés allélochimiques des *Allium* avec des doses variant de 0,02 à 1,23 mg/l sur cinq espèces d'insectes : *Callosobruchus maculatus*, *Sitophilus oryzae* S. *Granarius* appartenant à l'ordre des Coléoptères, et *Ephesiakuehniella* et *Plodia interpunctella* appartenant à l'ordre des lépidoptères (**Auger et al. 2002**). Par ailleurs, les huiles d'origan (*Origanum vulgare*), de la menthe (*Mentha microphylla* et *M. viridis*) et d'eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) ont été les plus toxiques (**Papachristos & Stamopoulos, 2002**). Des résultats préliminaires ont montré que l'extrait aqueux de fruits de *Citrullus colocynthis* sur les larves de deux espèces de moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*) a une grande efficacité par rapport aux produits naturels d'origine végétale ou microbienne. Cette efficacité s'exprime par les paramètres toxicologiques calculés qui sont successivement la CL₅₀ et la CL₉₀, avec 3,83 et 5,20 mg/L pour le *Culex pipiens* (**Merabtiet al., 2015**).

Dans l'ensemble des tests réalisés, les CL50 paraissent toujours plus faibles pour le deuxième stade larvaire (L2) que pour le quatrième stade (L4) et ce quels que soient l'espèce considérée et l'extrait utilisé. Les larves les plus vulnérables à l'extrait du ricin sont celles du stade (L2) des espèces *C. pipiens* et *C. longiareolata* avec respectivement des CL50 (24 h) de 140 mg.l-1 et de 110 mg.l-1 soit des CL50 bien inférieures à celles obtenues dans la phase aqueuse des galles de *Quercus lusitania*, CL50 (24 h) = 256 mg/l (**Bouallam Tifnouti, 2001**), et de la phase aqueuse de *Mentha pulegium*, CL50 (24 h) = 750 mg.l-1 (**Alaoui Slimani, 2002**). Par ailleurs, pour le stade (L4), ce sont les larves de *C. longiareolata* qui sont les plus touchées avec une CL50(24 h) = 200 mg.l-1. Si l'on s'en réfère aux résultats obtenus, l'interprétation de l'activité larvicide des extraits méthanoliques des plantes serait causée d'une part par la diversification des substances actives qui les composent et d'autre part, par l'interaction moléculaire des groupements fonctionnels de ces mêmes substances actives avec les tissus des organismes visés, notamment les larves de moustiques. Cette interaction serait selon **Essawi et Srour (2000)** le résultat d'une action singulière d'une des substances, ou d'un effet synergique entre plusieurs substances de ces extraits méthanoliques.

Ces substances actives qui participent généralement à la défense des plantes contre les agressions environnementales (**Gee et Johnson, 2001**) et qui sont synthétisées au sein de leurs organes sécréteurs (**Bakkali et al. 2008**), peuvent être qualitativement et quantitativement variables. Cette variabilité est influencée par la composition du sol, la position géographique et le rayonnement solaire dont elles sont totalement tributaires (**Azanlenko, 1995**).

Les composés aromatique phénoliques (acides phénoliques, tannins et flavonoïdes) forment le groupe des composés chimiques le plus important des plantes et leurs effets toxicologique sont due à ces substances ; comme le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde, l'eugénol, le 1,8-cinéole, le camphre et les thujones (**Hadj Salem, 2009**).

5- Conclusion

L'utilisation des extraits de plante comme insecticide, est connue depuis longtemps. Les extraits aqueux de basilic, de jasmin et du myrte agissent sur la dynamique de la population de *Culiseta longiareolata*.

Dans notre présente étude toxicologique, la préoccupation première a été d'élaborer un extrait qui soit le moins couteux possible et en même temps le plus efficace possible. Notre choix s'est donc vite porté sur des extraits aqueux plus facilement réalisable que les huiles essentielles et surtout transposable sur terrain à des fins commerciales. Nous avons eu recours à l'utilisation de larvicide sous forme d'extraits aqueux de *Ruta graveolens* sur les larves de *Culiseta longiareolata* nouvellement exuviées (L1, L2, L3, L4) et ceci afin de déterminer leurs degrés d'action sur ces dernières.

Cet extrait montre une activité larvicide avec une relation dose-réponse, une toxicité élevée au niveau de tous les stades testés. Cette sensibilité est encore plus élevée lorsque l'exposition des larves aux insecticides est prolongée dans le temps. Les résultats obtenus bien que préliminaires, témoignent d'une bonne activité insecticide de *Ruta graveolens*.

Ces résultats révèlent une sensibilité variable des larves traduite par des taux de mortalité faible à très élevé en passant d'une concentration à l'autre, mais surtout d'un stade de développement à l'autre, le traitement par l'application de la CL50 et CL 90.

Les résultats révèlent également que l'activité insecticide est progressive 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 élevées, ce qui montre que la mortalité est corrélée aux doses utilisées et est d'autant plus accrue que l'exposition des larves aux insecticides est prolongée dans le temps. Mentionner les CL50 et CL90 des 4 stades

Les extraits peuvent être envisagés à l'avenir comme une stratégie de lutte intégrée contre les insectes nuisibles, en effet ; l'extrait utilisé pour nos tests qui contient plusieurs molécules qui ne concourent sûrement pas toutes à l'action larvicide recherchée. Nous pensons que des fractionnements de cet extrait total nous préciseront mieux la nature des molécules actives et amélioreront des valeurs des concentrations létales.

Ce qui sera aussi une perspective intéressante à notre recherche.

A l'avenir il serait intéressant de compléter cette recherche en évaluant ce larvicide sur la morphométrie des larves. De même, il serait souhaitable d'évaluer l'effet de ce larvicide sur d'autres paramètres comme la morphométrie, la longévité et le potentiel reproducteur.

6-Reference bibliographique :

-A-

Abbot W.S., (1925) - A method of computing the effectiveness of an insecticide. *JEconEntomol* 18:265-266.

Abdel-Malek, A., (1960). The culicine mosquitoes of the northern region of the United Arab Republic. *Bulletin de la Société Entomologique d'Egypte*, **44** : 11-128 .

Abid Z.B., Feki M., Hédhili A. and Hamdaoui M.H., (2007)- *Artemisia herba-alba* Asso (Asteraceae) has equivalent effects to green and black tea decoctions on antioxidant processes and some metabolic parameters in rats. *Ann. Nutr. Metab.*, 51, 216-222.

Abrous A. , (1982) Traitement de la paralysie faciale par la *Rutamontana*. Le pharmacien du Maghreb, special n° 2: 48.

Aitken, T.H.G., (1954). The culicidae of Sardinia and Corsica Diptera. *Bulletin of Entomological Research*, 45: 437-494.

Alaoui Slimani N. (2002). *Faune culicidienne d'une zone marécageuse de Rabat-Salé : Biotypologie et contribution à la lutte par des substances naturelles*. Thèse Doct. es Sci. Biol., Fac. Sci. Univ. Mohammed V., Rabat, Maroc, 192 p.

Al-Banna L., Darwish R.M. and Aburjai T., (2003) - Effect of plant extracts and essential oils on root-knot nematode. *Phytopathologia Mediterranea*, 42(2), 123-128.

Aligon D., Bonneau J., Garcia J., Gomez D., Le Goff D., (2010) - Projet d'estimation des risques sanitaires. Estimation des expositions de la population générale aux insecticides : les organochlorés, les Organophosphorés et les Pyréthrinoides. IGS PERSAN 2009-2010. Ecole des Hautes Etudes en Santé Publique, 78p.

Al-Mustafa A.H. and Al-Thunibat O.Y., (2008) - Antioxidant activity of some Jordanian medicinal plants used traditionally for treatment of diabetes. *Pak. J. of biol. sci.: PJBS*, 11(3), 351-8.

Alouani A., Rehim N. & Soltani N., (2009). Larvicidal activity of a Neem tree extract (Azadirachtin) against mosquito larvae in the republic of Algeria. *Jordan Journal of Biological Sciences*. 2 (1):15-22.

Reference bibliographique

Amraoui F., Krida G., Bouattour A., Rhim A., Daaboub J., Harrat Z., Boubidi S.C., Tijane M., Sarih M., Failloux A.B., (2012) - *Culex pipiens*, an Experimental Efficient Vector of West Nile and Rift Valley Fever Viruses in the Maghreb Region. *PLoS One*. 2012;7(5):e36757. Epub.

Aouti A. & Berchi S. (2015). Larvicidal Effect of *Marrubium Vulgare* on *Culex pipiens* in Eastern Algeria. *International Conference on Technologies and Materials for Renewable Energy, Environment and Sustainability, TMREES*. **15. (74)**. 1026-1031.

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.* Vol 10 (2) : 67 – 71.

Auger, J., Sébastien, D., Armelle, N., Ahmed, AG., Dominique, P. & Eric, T. (2002). Utilisation des composés allelochimiques des *Allium* en tant qu'insecticides. *Faculty Of Sciences and Technique France.*, **25** : 1-13.

Azalenko K., (1995) - Contribution à la détermination des chemotypes d'une plante à huile essentielle du Togo : *Lippia mutiflora*. Mémoire d'ingénieur de travaux, ESTBA, Univ. Lomé.

Azaizeh H., Kobaisy M., Dakwar S., Saad B., Shaqir I and Said O., (2007) - Botanical pesticides as a source of safe bioacaricides for the control of *Tetranychus cinnabarinus*. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 42(1), 143-152.

-B-

Bakkali F., Averbeck S., Averbeck D. & Idaomar M., (2008) - Biological effects of essential oils : A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 446-475.

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.*, 85-90.

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.

Reference bibliographique

Berge TO., (1975) - International catalogue of Arboviruses, including certain other viruses of Vertebrates. US Depart. Hlth. Educ. And Welfare.Public.N°75-8301, 2 edit

Blondel J., (1975)- L'analyse des peuplements d'oiseaux. Elément d'un diagnostic écologique. La méthode d'échantillonnage fréquentiels progressifs (E.F.P). Rev. Ecol. Terre et vie, 29 (4) :533-589.

BONNIER G. ;(1999); La Grande Flore en Couleur; Ed : BELIN; Tome 3; p:205 - 206.

BouallamTifnouti S. (2001). *Écologie des diptères culicidés de la région de Marrakech : Contribution à l'amélioration des moyens de lutte chimique et biologique.* Thèse.doct. es Sci., Fac. Sci. Semlalia., Univ. Cadi Ayyad.,Marrakech, Maroc, 148 p.

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

Bourgouin, C., (1981) - *Bacillus sphaericus*: Etude de l'activité larvicide vis-à-vis d'*Anophelesstephensi*. Essai d'isolement et de caractérisation d'un facteur toxique. Thèse 3e cycle. Université de Paris sud - Orsay. 181p.

Brunhes, J., Rhaim, A., Geoffroy, B., Angel, G. &Hervy, J. P. (1999). Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche et de développement de Montpellier (France).

Brunneton J., (1993) - Pharmacognosie, phytochimie des plantes médicinales. Edition. Technique et documentaire, 3eme édition. 484,489,548,555,634 p..

Villeneuve, F. & Désiré, C. H. (1965). *Zoologie.* Bordas, 1ère édition, 323 p.

-C-

Chetan S.J., (2014)- Larvicidal activity of some saponin containing plants against the dengue vector *Aedesaegypti*.Trends in biotechnology research. Vol. 3 (1): 1-11.

Corte Real, Patricia Salgueiro, Martin J Donnelly, Antonio P G Almeida and Joao Pinto (2009). Asymmetricintrogressionbetweensympatricmolestatus and forms of culexpipiens (Diptera : culicidae) in the comporta region , Portugal. BMC Evolutionary biology.9 : 262.

Reference bibliographique

Crosby D.G., (1966) - Natural pest control Agents. *Adv. Chem. Ser.* (53), p. 1-16.

-D-

Dagnogo M. et Coz J., (1982)- Un insecticide biologique *Bacillus sphaericus* 1 - Activité larvicide de *Bacillus sphaericus* sur quelques espèces et souches de moustiques., Cah. ORSTOM, Sér. Ent. Méd. Et Parasitol., XX, n2 : 133 - 138.

David JP., Rey D., Pautou MP. & Meyran, JC. (2000). Differential toxicity of leaf litter to Dipteran larvae of mosquito developmental sites. *J. Invertebr. Pathol.*, **75**: 9-18.

Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N., (2006) - Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds. *Food Chemistry*, 97, 654-660.

Doerper S.; (2008) ; Modification de la synthèse des furo-Coumarines chez *Rutagraveolens* L.

-E-

Edwards F.W., (1941)- Mosquito of the Ethiopian Region, part III: Culicinae adult and pupae, Brit. Mus. Nat. Hist., London, 499p.

Edwards F.W., (1920) - Notes of the mosquito of Madagascar, Mauritius and Reunion. *Bull. ent. Res.*, 11 : 133-138.

Elbanna S. M. (2006). Larvicidal effects of Eucaliptus extract on the larvae of *Culex pipiens* Mosquito. *International journal of agriculture & biology*. (8): 6. 214-219.

Essawi T. & Srour M., (2000) - Screening of some Palestinian medicinal plants for antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology* 70, 343-349.

-F-

Finney, D. J. (1971) : The application of probit analysis to the results of mental tests. *Psychometrika*, (9) : 31-39.

-G-

Gee J.M, Johnson I.T., (2001) - Polyphenolic compounds: interactions with the gut and implications for human health. *Curr Med Chem.*; 8(11):1245-55.

Georghiou GP., Ariaratnam V., Pasternak ME., Lin CS. (1975). Organophosphorus multiresistance in *Culexquinquefasciatus* in California. *J. Econ. Entomol.* **68**, p. 461–467.

Goldhirsh, A., (1997). Larvicidal Activity in Desert Plants of Negev and Bedouin Market, Plant Products. *International journal of Pharmacogony* 35: 265 – 273.

Gomes B., Carla A Sousa, Maria T Novo, ferdinando B Freitas, Ricardo Alves, Ana R

Gubler D.J., (2004) - Cities spawn epidemic dengue viruses. *Nature Medicine*, 10: 129-130.

Harder, HH., Riley, SL., McCann, SF. & Irving.S.N.1996.*DPX-MP062 : a novel broadspectrum*, environmentally soft, insect control compound. Proc. Brighton Crop. Prot.Conf. 449.

Guarrera P. M., (1999) - *J. Ethnopharmacology*, 68, 183.

-H-

Habbachi, W., Benhissen, S. & Ouakid, M.L., (2013). Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala*(L.)(Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophilamelanogaster*(Diptera-Drosophilidae). *Algerian journal of arid environment*.(3) :1, 82-88.

BONNIER G.; (1999); La Grande Flore en Couleur; Ed : BELIN; Tome 3; p:205 - 206.

Hammiche V., Azzouz M., (2013) - Les rues : ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité. *Phytothérapie*. 11:22-30.

Hatimi S., Boudouma M., Bichichi M., Chaib N. and Idrissi N.G., (2001) - Evaluation in vitro de l'activité antileishmanienne d'*Artemisia herba-alba* Asso. *Thérapeutique, Bulletin de la Société de pathologie exotique*, 94(1), 29-31.

Heinrich M., Kufer J., Leonti M., Pardo-de-Santayna M., (2006) - Ethnobotany and ethnopharmacology-Interdisciplinary links with the historical sciences. *J Ethopharmacol* 107: 157-160.

Reference bibliographique

Hifnawy M.S., Rashwan O.A., Rabeh M.A., (2006) - Comparative chemical and biological investigations of certain essential oils belonging to families Asteraceae, Lamiaceae and Graminae”. Bull. Fac. Pharm. Cairo Univ., 39: 35-53.

-j-

Jang, Y. S., Kim, M. K., Ahn, Y. J., & Lee, H. S. (2002). Larvicidal activity of Brazilian plants against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* (Diptera: Culicidae). *Agri. Chem. Biotechnology.*, **45 (3)**: 131-134.

Jolivet, (1980) - Les insectes et l'homme. PUF, collect. Que sais-je, 128 p

-k-

Karch, S. et Charles J.-F., (1987)- Toxicity, Viability and Ultrastructure of *Bacillus sphaericus* 2362 Spore/Crystal Complex Used in the Field. Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie. 138:485-492.

Kemassi, A. (2008). Toxicité comparée des extraits de quelques plantes acridifuges du Sahara septentrional Est algérien sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Mem. Mag. Uni de Kasdi Merbeh. Ouargla. 165p

Koua K.H., (1994) - Mise en évidence de l'activité larvicide de *Persea Americana* sur *Anopheles Gambiae*, un moustique d'importance médicale. Thèse de Doctorat. Université Nationale de Côte d'Ivoire. 133p.

. **Kybal J** (1987) Plantes aromatiques et culinaires. Grund, Paris .

-L-

Lebouz, I. (2010). Activité biologique des extraits foliaires de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) chez *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae). Mem. Mag. Uni de Mohamed Kheider. Biskra. 165p .

Lee, H. K., Park, C. & Ahn, Y. J. (2002). Insecticidal activities of asarones identified in *Acorus gramineus* rhizome against *Nilaparvatalugens* (Homoptera: Delphacidae) and *Plutellaxystella* (Lepidoptera: Yponomeutidae). *Jap. Soc. Appl. Entomol. Zool.*, **37(3)**: 459-464 .

Reference bibliographique

Lobo J.M., Lumaret J.P. et Jay Robert P., (1997) - Les atlas faunistiques comme outils d'analyse spatiale de la biodiversité. *Ann SocEntomolfr.*(N.S) 1997, 33(2) :129-138.

-M-

Marrif H., Ali B.H. and Hassan K.M., (1995) - Some pharmacological studies on *Artemisia herba-alba* (Asso.) in rabbits and mice. *J. of Ethnopharmacol.* 49, 51-55.

Merabti B., Lebouz I., Adamou A. & Ouakid M. L. (2015). Effet toxique de l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad sur les larves de Culicidae. *Revue des BioRessources* Vol 5 (2) : 120-130.

Milesi, S., Massot B., Gontier E., Bourgaud F. and Guckert A. (2001). "Rutagraveolens L.: a promising species for the production of furanocoumarins." *Plant Science* **161**(1): 189-199.

-O-

O.M.S., (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 : *O.M.S, Sér. Rapp. Techn.* 265 :55-60.

-P-

Papachristos.DP, Stamopoulos. DC. (2002). Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours. *In : Journal of Stored Products Research* 38 (2), 117-128.

Pavan M., (1986)- Una rivoluzione. Cultural. Europea. La "carta sugli invertebrati" del Consiglio d'Europa. Pubblicazioni dell' Istituto entomologico, Università di Pavia, 33 :1-51.

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

-R-

Rageau J. et Delaveau P., (1980) - effets toxiques d'extraits de végétaux sur les larves de moustiques. *Bulletin de la société de pathologie exotique.* (72): 168-171 .

Rageau, J., Mouchet, J. & Abonnec, E. (1970). Répartition géographique des moustiques (*Diptera : Culicidae*) en France. *Ent. méd. Parasitol.*, **8** (3). 29 pages.

Reference bibliographique

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.

Rodhain F., Perez C., (1985) - Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Paris: Maloine 458 p.

-S-

Sas (1990). *SAS User's guide: Statistics*. Cary, North Carolina, USA: SAS Institute.

Satiyamoorthy P., Lugasi – Evgi H., Van Damme P., AburabraGopas, J., & Golan-Traboulsi A.F. Taoubi. K, El Haj, S. Bessiere. J-M, Rammal.S. (2002). Insecticidal

.Teisseire P.J., (1991) - Chimie des substances odorantes. Tec et Doc., Lavoisier, Paris, France. 480p.

Senthil, N. (2007). The use of *Eucalyptus tereticornis* SM. (Myrtaceae) oil (leaf extract) as

Seye F., Ndione R.D. & Ndiaye M., (2006) - Etude comparative de deux produits de neem (huile et poudre) sur les stades préimaginaux du moustique *Culex quinquefasciatus*. (Diptera : Culicidae) Afrique Science 02(2) 12-15.

Sherif A., Hall R.G. and El-Amamy M., (1987) - Drugs, insecticides and other agents from *Artemisia*. *Medical Hypotheses*, 23, 187-193.

Sinegre G., Jilien JL., Gaven B. (1977). Acquisition progressive de la résistance au chlorpyrifos chez les larves de *Culex pipiens* (L.) dans le Midi de la France. *Parasitologia* **19** (1/2), p. 79-94.

Soliman M MM., (2006) - Phytochemical and toxicological studies of *Artemisia* L. (Compositae) essential oil against some insect pests. *Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica*, 41(3-4), 395-406.

Soliman M.M.M., (2007) - Phytochemical and toxicological studies of *Artemisia* L. (Compositae) essential oil against some insect pests. *Arch. Phytopathology Plant Protect.*, 40: 128-138.

Reference bibliographique

Suboh S.M., Bילו Y.Y. &Aburjai T.A., (2004) - Protective effects of selected medicinal plants against protein degradation, lipid peroxidation and deformability loss of oxidatively stressed human erythrocytes. *Phytother. Res.*, 18(4), 280-4.

-T-

Tani Z.B., Hassani F. &Khelil MA., (2008) - Bioefficacy of essential oils extracted from the leaves of *Rosmarinus officinalis* and *Artemisia herba-alba* towards the Bruche bean *Acanthoscelidesobtectus* (Coleoptra: Bruchidae). *J. Pure Appl. Microbiol.*, 2: 165-170.

Sas(1990). *SAS User's guide: Statistics*. Cary, North Carolina, USA: SAS Institute.

-W-

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

Wilson E.O., (1988) - The current state of biological diversity; In: E O. Wilson. *biodiversity*. P 3-18. Washington DC: National Academy Press. *Parasitologia, Ornithologia, Entomologia*. Institute of ecology, Vilnius. ISSN 1392 6.

-Y-

Yashphe J., Segal R., Breuer A. and Erdreich-Naftali G., (1979) - Antibacterial activity of *Artemisia herbaalba*. *J. of Pharma. Sci.*. 68(7), 924-925.