



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: Biologie Appliquée

## *MEMOIRE*

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine:** Sciences de la nature et de la vie

**Filière:** Sciences biologiques

**Option:** Biochimie appliquée

*Thème:*

**Activité larvicide et ovicide de l'huile essentielle de  
*Ruta graveolens* chez deux espèces de diptère  
*Drosophila melanogaster* et *Culiseta longiareolata*.**

**Présenté par:**

M<sup>elle</sup>. MESSAI Samah

M<sup>elle</sup>. TOUAHRIA Chourouk

**Devant le jury:**

Dr. DRIS Djemaa

MCB Université de Tébessa

Présidente

Dr. BOUABIDA Hayette

MCA Université de Tébessa

Rapporteuse

M. HAMIRI Manel

MAA Université de Tébessa

Examinatrice

**Date de soutenance:** Le 06 juin 2021



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: Biologie Appliquée

## *MEMOIRE*

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

**Domaine:** Sciences de la nature et de la vie

**Filière:** Sciences biologiques

**Option:** Biochimie appliquée

*Thème:*

**Activité larvicide et ovicide de l'huile essentielle de  
*Ruta graveolens* chez deux espèces de diptère  
*Drosophila melanogaster* et *Culiseta longiareolata*.**

**Présenté par:**

M<sup>elle</sup>. MESSAI Samah

M<sup>elle</sup>. TOUAHRIA Chourouk

**Devant le jury:**

Dr. DRIS Djemaa

MCB Université de Tébessa Présidente

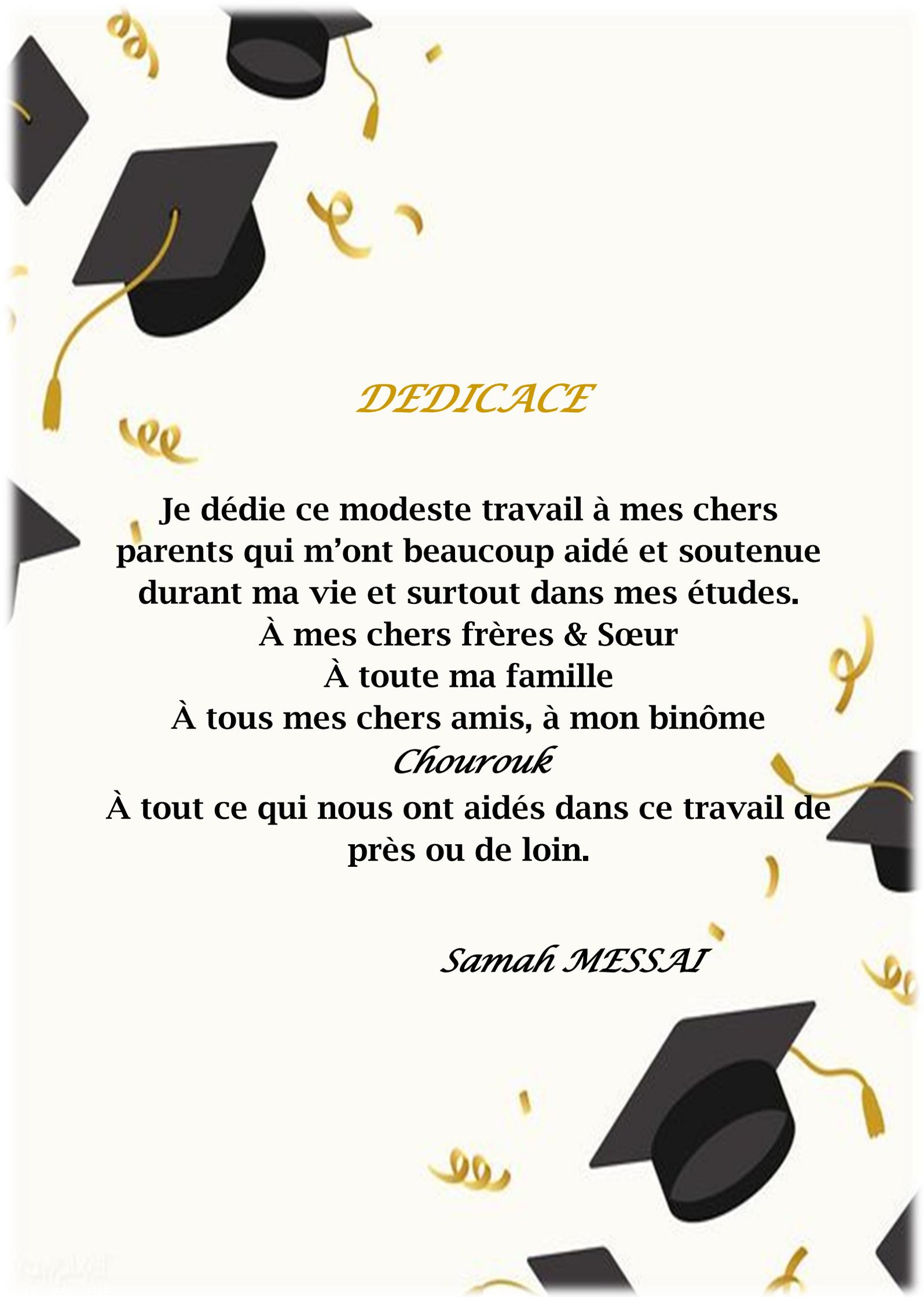
Dr. BOUABIDA Hayette

MCA Université de Tébessa Rapporteuse

M. HAMIRI Manel

MAA Université de Tébessa Examinatrice

**Date de soutenance:** Le 06 juin 2021



## *DEDICACE*

**Je dédie ce modeste travail à mes chers  
parents qui m'ont beaucoup aidé et soutenue  
durant ma vie et surtout dans mes études.**

**À mes chers frères & Sœur**

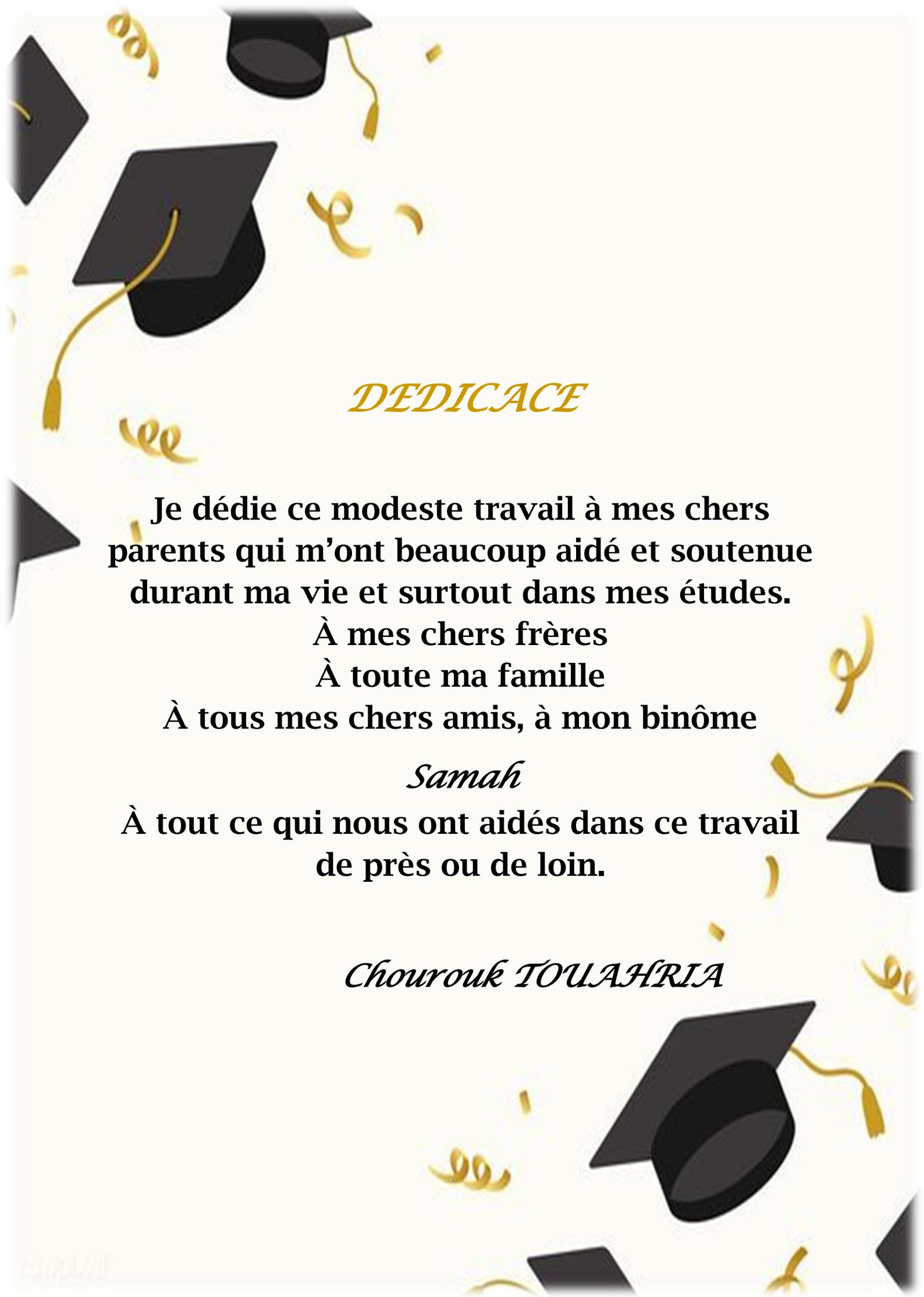
**À toute ma famille**

**À tous mes chers amis, à mon binôme**

*Chourouk*

**À tout ce qui nous ont aidés dans ce travail de  
près ou de loin.**

*Samah MESSAI*



*DEDICACE*

**Je dédie ce modeste travail à mes chers  
parents qui m'ont beaucoup aidé et soutenue  
durant ma vie et surtout dans mes études.**

**À mes chers frères**

**À toute ma famille**

**À tous mes chers amis, à mon binôme**

*Samah*

**À tout ce qui nous ont aidés dans ce travail  
de près ou de loin.**

*Chourouk TOUAHRIA*

# *Remerciements*

*Nous tenons à remercier ALLAH, le tout puissant de nous avoir donné courage et volonté pour accomplir ce modeste travail.*

Tout d'abord, nous tenons à exprimer nos profonds remerciements et notre gratitude à nos parents.

*Nous remercions infiniment Mme DRIS Djemaa pour avoir accepté d'être présidente de jury. Nous tenons à lui exprimer l'étendue de notre gratitude et de notre profond respect pour elle dans ces lignes.*

Nous exprimons notre profonde gratitude à notre *encadreur* Mme BOUABIDA Hayette pour tous les efforts qu'elle a *consentie tout au long de l'élaboration de ce travail.*

Nous remercions infiniment **Mme HAMIRI Manel** d'avoir accepté *d'examiner* ce travail et de lui exprimer notre gratitude et notre profond respect.

Nous remercions également à l'ensemble de nos enseignants qui nous ont apporté soutiens et conseils.

Au terme de ce modeste travail nous tenons à remercier vivement tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à sa réalisation.

- تهدف هذه الدراسة إلى تحديد مفعول الزيوت الأساسية المستخلصة من نبات الفيجل *Ruta graveolens* على ذبابة الفاكهة السوداء *Drosophila melanogaster* وبعوض *Culiseta longiareolata*.
- أولاً قمنا بدراسة التأثير السمي للزيوت الأساسية من الأجزاء الهوائية للفيجل *Ruta graveolens* على ذبابة الفاكهة السوداء *Drosophila melanogaster* وبعوض *Culiseta longiareolata* وذلك باستعمال عدة تراكيز على يرقات الطور الثالث لذبابة الفواكه السوداء *Drosophila melanogaster* وبيض البعوض *Culiseta longiareolata*. تأثير هذه الزيوت على ذبابة الفاكهة السوداء *Drosophila melanogaster* تم فحصها بمعدل موت اليرقات و تشوهات على مستوى الأجنحة لدى البالغين. أما بيض البعوض *Culiseta longiareolata* فأظهرت النتائج تثبيط تحولها إلى يرقات.
- تم إجراء إختبارات لتحديد الجرعات المثبطة ، وقد تم إختيار CL50 لتقييم تأثير الزيوت الأساسية لنبات الفيجل *Ruta graveolens* على الأيض الرئيسية (الكربوهيدرات والبروتينات والدهون) والتي توضح نقص محتويات الكربوهيدرات والبروتينات والدهون عند يرقات ذبابة الفاكهة السوداء *Drosophila melanogaster* ومن هذا نستخلص أن الزيوت الأساسية لنبات الفيجل مفيدة في تطوير أو تخليق المبيدات الحشرية.
- الكلمات المفتاحية:** نبات الفيجل *Ruta graveolens*, السمية, المبيدات الحشرية, الأيض, ذبابة الفاكهة السوداء *Drosophila melanogaster*, بعوض *Culiseta longiareolata*, الزيوت الأساسية.

## *Abstract*

---

### **Abstract**

This study aims to determine the effect of essential oil extract of *Ruta graveolens* on the fly *Drosophila melanogaster* and the mosquito *Culiseta longiareolata*.

First, we studied the toxic effect of essential oils extracted from the aerial parts of the *Ruta graveolens* plant on *Drosophila melanogaster* and *Culiseta longiareolata*, using different concentrations on the third instar larvae of *Drosophila melanogaster* and the eggs of *Culiseta longiareolata*.

The effect of these oils on *Drosophila melanogaster* was examined on the larval mortality rate. In addition, malformations in the wings in adults have been recorded.

As for the eggs of *Culiseta longiareolata*, the results showed an inhibition of their transformation into larvae.

Toxicity tests were carried out in order to specify the doses of inhibition, including the LC50 which was selected to assess the effects of essential oils of *Ruta graveolens* on the main metabolites (carbohydrates, proteins and lipids) which shows a lack of protein, carbohydrate and fat content in larvae.

From this we conclude that the essential oils of *Ruta graveolens* are useful in the development or synthesis of insecticides.

**Key words:** *Ruta graveolens*, Toxicity, Insecticides, Metabolism, *Drosophila melanogaster*, *Culiseta longiareolata*, Essential oils.

## Résumé

---

### Résumé

Cette présente étude a pour but de déterminer l'effet des huiles essentielles extrait de *Ruta graveolens* sur la mouche *Drosophila melanogaster* et la moustique *Culiseta longiareolata*.

Dans un premier temps, nous avons étudié l'effet toxique des huiles essentielles extraites des parties aériennes de la plante *Ruta graveolens* sur *Drosophila melanogaster* et *Culiseta longiareolata*, en utilisant différentes concentrations sur les larves de troisième stade de *Drosophila melanogaster* et l'oeufs de *Culiseta longiareolata*.

L'effet de ces huiles sur *Drosophila melanogaster* a été examiné sur le taux de mortalité larvaire. En plus, malformations au niveau des ailes chez les adultes, ont été enregistrées.

Quant aux oeufs de *Culiseta longiareolata*, les résultats ont montré une inhibition de leur transformation en larves.

A été fait des tests de toxicité ont été effectués afin de préciser les doses d'inhibition, dont la CL50 qui a été sélectionné pour évaluer les effets des huiles essentielles de *Ruta graveolens* sur les principaux métabolites (glucides, protéines et lipides) ce qui montre un manque de contenu en protéines, glucides et lipides chez les larves.

De cela, nous concluons que les huiles essentielles de *Ruta graveolens* sont utiles dans le développement ou la synthèse d'insecticides.

**Mots clés:** *Ruta graveolens*, Toxicité, Insecticides, Métabolisme, *Drosophila melanogaster*, *Culiseta longiareolata*, Huiles essentielles.

## LISTE DES FIGURES

N°	Titre	Page
1	<i>Drosophila melanogaster</i> (Photo originale).	3
2	<i>Drosophila melanogaster</i> adultes [A: Mâle ♂ ; B: Femelle ♀ (x3)] (Photo originale).	4
3	Le cycle de vie de <i>Drosophila melanogaster</i> (Photo originale).	6
4	Flacons d'élevage (Photo originale).	7
5	<i>Culiseta longiareolata</i> [A: Mâle ♂ ; B: Femelle ♀] (Photos originales).	8
6	Le cycle de vie de <i>Culiseta longiareolata</i> (Photo originale).	11
7	Site d'élevage de <i>Culiseta longiareolata</i> (photo originale).	12
8	<i>Ruta graveolens</i> (Rue) (Photo originale).	13
9	Feuilles et fleur de <i>Ruta graveolens</i> (Asgarpanah, 2012).	14
10	Montage de l'hydrodistillation de type Clevenger (photo originale).	18
11	Huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> (Photo originale).	18
12	Extraction des glucides, protéines et lipides totaux selon Shibko <i>et al.</i>	20
13	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> (µl) appliquées sur les larves de <i>Drosophila melanogaster</i> (24h, 48h et 72h): Mortalité corrigée % (m ± SD, n = 4 répétitions comportant chacune 10 individus).	27
14	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> (µl) appliquées sur les œufs de <i>Culiseta longiareolata</i> : Mortalité corrigée % (m ± SD, n = 4 répétitions comportant chacune 25 individus).	29
15	Anomalies morphologiques chez les larves, les pupes et les adultes de <i>Drosophila melanogaster</i> et les œufs de <i>Culiseta longiareolata</i> .	30
16	Effet des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> (CL50), sur le contenu en protéines (µg/individu) chez les larves L3 de <i>Drosophila melanogaster</i> (m ± SD ; n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative (p<0.05).	31
17	Effet des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> (CL50), sur le contenu en glucides (µg/individu) chez les larves L3 de <i>Drosophila melanogaster</i> (m ± SD ; n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative (p<0.05).	32
18	Effet des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> (CL50), sur le contenu en lipide (µg/individu) chez les larves L3 de <i>Drosophila melanogaster</i> (m ± SD ; n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative (p<0.05).	33

## LISTE DES TABLEAUX

N°	Titre	Page
<b>1</b>	Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>21</b>
<b>2</b>	Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage	<b>21</b>
<b>3</b>	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	<b>22</b>
<b>4</b>	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> ( $\mu\text{l}$ ) appliquées sur les larves de <i>Drosophila melanogaster</i> (24 h): Mortalité corrigée % ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).	<b>23</b>
<b>5</b>	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> ( $\mu\text{l}$ ) chez les larves de <i>Drosophila melanogaster</i> . Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).	<b>24</b>
<b>6</b>	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> ( $\mu\text{l}$ ) appliquées sur les larves de <i>Drosophila melanogaster</i> (48 h): Mortalité corrigée % ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).	<b>24</b>
<b>7</b>	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> ( $\mu\text{l}$ ) chez les larves de <i>Drosophila melanogaster</i> . Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).	<b>25</b>
<b>8</b>	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> ( $\mu\text{l}$ ) appliquées sur les larves de <i>Drosophila melanogaster</i> (72h): Mortalité corrigée % ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus).	<b>25</b>
<b>9</b>	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> ( $\mu\text{l}$ ) chez les larves de <i>Drosophila melanogaster</i> . Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).	<b>26</b>
<b>10</b>	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> ( $\mu\text{l}$ ) appliquées sur les oeufs de <i>Culiseta longiareolata</i> : Mortalité corrigée % ( $m \pm \text{SD}$ , $n = 4$ répétitions comportant chacune 25 individus).	<b>28</b>
<b>11</b>	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> ( $\mu\text{l}$ ) chez les œufs de <i>Culiseta longiareolata</i> . Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).	<b>28</b>

## LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES

SYMBOLES	DEFINITION
<b>AFNOR</b>	<b>Association Française de Normalisation</b>
<b>CM</b>	<b>Carré moyen</b>
<b>cm</b>	<b>Centimètre</b>
<b>c.-à-d.</b>	<b>Cette à dire</b>
<b>CL25</b>	<b>Concentration létale 25</b>
<b>CL50</b>	<b>Concentration létale 50</b>
<b>CL90</b>	<b>Concentration létale 90</b>
<i>Cs .longiareolata</i>	<i>Culiseta longiareolata</i>
°C	<b>Degré Celsius</b>
<b>Ddl</b>	<b>Degré de liberté</b>
<i>D. melanogaster</i>	<i>Drosophila melanogaster</i>
<b>SD</b>	<b>Ecart type</b>
♀	<b>Femelle</b>
<b>F obs</b>	<b>F observée</b>
<b>g</b>	<b>Gramme</b>
<b>h</b>	<b>Heure</b>
<b>HE</b>	<b>Huile Essentielle/Huiles essentielles</b>
<	<b>Inférieur</b>
<b>j</b>	<b>Jour</b>
<b>L1</b>	<b>Larve de stade 1</b>
<b>L3</b>	<b>Larve de stade 3</b>
♂	<b>Mâle</b>
<b>m</b>	<b>Mètre</b>

<b>µl</b>	<b>Microlitre</b>
<b>mg</b>	<b>Milligramme</b>
<b>ml</b>	<b>Millilitre</b>
<b>mm</b>	<b>Millimètre</b>
<b>min</b>	<b>Minute</b>
<b>m±SD</b>	<b>Moyenne ± écart type</b>
<b>M</b>	<b>Moyenne</b>
<b>nm</b>	<b>Nanomètre</b>
<b>p</b>	<b>Niveau de Significative</b>
<b>n</b>	<b>Nombre de répétitions</b>
<b>+</b>	<b>Plus</b>
<b>±</b>	<b>Plus ou moins</b>
<b>%</b>	<b>Pourcentage</b>
<b><i>R. graveolens</i></b>	<b><i>Ruta graveolens</i></b>
<b>SCE</b>	<b>Somme des carrés</b>
<b>trs</b>	<b>Tours</b>
<b>3ème</b>	<b>Troisième</b>

# SOMMAIRE

## SOMMAIRE

Dédicaces	
Remerciement	
ملخص	
Abstract	
Résumé	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations et des symboles	
1. Introduction	<b>01</b>
2. Matériels et méthodes	<b>03</b>
2.1. Présentation de l'insecte ( <i>Drosophila melanogaster</i> )	<b>03</b>
2.1.1. Généralité	<b>03</b>
2.1.2. Caractéristiques de <i>Drosophila melanogaster</i>	<b>04</b>
2.1.3. Cycle de vie de <i>Drosophila melanogaster</i>	<b>05</b>
2.1.4. Technique d'élevage	<b>06</b>
2.1.5. Rôle écologique	<b>07</b>
2.1.6. Moyens de lutte	<b>07</b>
2.2. Présentation de l'insecte ( <i>Culiseta longiareolata</i> )	<b>08</b>
2.2.1. Généralité	<b>08</b>
2.2.2. Caractéristiques de <i>Culiseta longiareolata</i>	<b>09</b>
2.2.3. Cycle de vie de <i>Culiseta longiareolata</i>	<b>09</b>
2.2.4. Technique d'élevage	<b>12</b>
2.2.5. Moyens de lutte	<b>12</b>
2.3. Présentation de plante ( <i>Ruta graveolens</i> )	<b>13</b>
2.3.1. Généralité	<b>13</b>
2.3.2. Description botanique	<b>13</b>
2.3.3. Utilisations de plante	<b>15</b>
2.3.4. Composition chimique du <i>Ruta graveolens</i>	<b>15</b>
2.3.5. Huiles essentielles	<b>16</b>
2.4. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	<b>17</b>
2.5. Rendement des huiles essentielles	<b>19</b>
2.6. Test de toxicité	<b>19</b>
2.7. Extraction et dosage des principaux constituants biochimiques	<b>19</b>
2.7.1. Dosage des protéines totales	<b>20</b>
2.7.2. Dosage des glucides totaux	<b>21</b>
2.7.3. Dosage des lipides totaux	<b>21</b>
3. Résultats	<b>23</b>
3.1. Rendement en huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i>	<b>23</b>
3.2. Essai de <i>Ruta graveolens</i> à l'égard des larves L3 de <i>D. melanogaster</i>	<b>23</b>

3.3. Essai de <i>Ruta graveolens</i> a l'égard des œufs de <i>Culiseta longiareolata</i>	<b>28</b>
3.4. Anomalies morphologiques	<b>29</b>
3.5. Effet sur la biochimie	<b>31</b>
3.5.1. Effet sur le contenu en protéines chez les larves L3 de <i>Drosophila melanogaster</i>	<b>31</b>
3.5.2. Effet sur le contenu en glucides chez les larves L3 de <i>Drosophila melanogaster</i>	<b>31</b>
3.5.3. Effet sur le contenu en lipides chez les larves L3 de <i>Drosophila melanogaster</i>	<b>32</b>
4. Discussion	<b>35</b>
5. Conclusion	<b>36</b>
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE	<b>37</b>

# 〔 INTRODUCTION 〕

## 1. Introduction

Les insectes constituent indiscutablement le taxon animal le plus diversifié avec 5 à 10 millions d'espèces estimées (Elbah, 2017). Les Arthropodes sont l'un des embranchements les plus importants du règne animal, avec plus d'un million d'espèce connue, dont les trois quart sont des Insectes. Ces derniers constituent plus de 50% de la diversité de la planète et près de 60% de celle du règne animal (Wilson, 1988). Cette classe d'insectes a réussi à coloniser presque tous les environnements et s'adapter à de nombreux modes de vie (Hamaidia & Berchi, 2018).

Depuis 170 millions d'année les diptère (les mouches et les moustiques) forment un groupe d'insectes le plus écologiquement diversifié (Bouderhem, 2015).

Les moustiques sont des insectes suceurs de sang très développés qui comptent parmi les vecteurs importants de maladies humaines. Il existe environ 3000 espèces de moustiques dans le monde (Cetin *et al.*, 2012). Les moustiques ont toujours été considérés comme source de nuisance pour l'homme (Aouinty, 2006). Les moustiques habitent divers types d'habitats dans des environnements urbains, périurbains et sauvages, où ils entreprennent des activités de recherche d'hôtes et recherchent des substrats appropriés pour le développement de leur progéniture (González *et al.*, 2020). Les moustiques sont des Arthropodes appartenant au sous-embranchement des Antennates, à la classe des Insectes l'ordre des Diptères et sous-ordre des Nématocères, regroupés dans la famille des *Culicidae*. Les *Culicidae* (Diptera : Insecta) regroupent beaucoup d'espèces qui ont été identifiées parmi les ectoparasites temporaires hématophages les plus importants (Dahchar, 2017). La famille des *Culicidae* est divisée en trois sous-familles, les Toxorhynchitinae, les Anophelinae et les *Culicinae*. La plupart des espèces de moustiques appartiennent à la sous-famille des *Culicinae*, qui est subdivisée en 11 tribus. Le genre *Culiseta* est un genre relativement petit comprenant environ 40 espèces et sous-espèces valides, qui sont répartis sur sept sous-genres. Dans Afrique méditerranéenne, le genre *Culiseta* est représenté par 3 sous-genres et 6 espèces (Boudemagh *et al.*, 2018). *Cs. longiareolata* est l'une des six espèces de *Culiseta* (Zittra *et al.*, 2014).

Après les moustiques, les mouches sont les insectes qui intéressent le plus l'hygiéniste. On désigne vulgairement sous le nom de "mouches" tous les diptères à antennes courtes qui possèdent souvent une assez forte taille et un corps trapu. À cette catégorie appartiennent diverses Muscides, Calliphoridés, Sarcophagidés, Syrphidés, Stratiomyidés, Drosophilidés, etc... (Elbah, 2017). *Drosophila* sont de petites mouches de l'ordre des Diptères et de la famille des *Drosophilidae* (Hales *et al.*, 2015). La drosophile, ou mouche du vinaigre, est un modèle biologique très apprécié depuis près d'un siècle par les scientifiques du monde entier

grâce à ses nombreux avantages (Grillet, 2009). Près de 3 300 espèces de drosophiles ont été décrites dans le monde entier, réparties en 66 genres dont le genre *Drosophila* (O'Grady, 2003). *D. melanogaster*, insecte cosmopolite, est une mouche responsable de la pourriture grise des fruits via les champignons qu'elle transporte (Habbachi et al., 2013).

Les plantes médicinales jouent un rôle central dans la gestion humaine maladies et de nombreux médicaments ont été développés à partir de sources (Mahmoud et al., 2015). Famille des rutacées dans l'ordre des Sapindales qui contient environ 160 genres et plus de 1600 espèces (Asgarpanah, 2012). *Rutaceae* généralement arbres ou arbustes, parfois à épines ou aiguillons ; à composés amers triterpéniques, à alcaloïdes, et composés phénoliques ; à lacunes sécrétrices disséminées (points translucides) contenant des huiles essentielles aromatiques (Attou, 2011). *Ruta graveolens* L. (Famille: Rutacées), communément appelée rue ou sadab, est un plante médicinale ancienne et actuellement utilisée pour le traitement de troubles multiples (Mahmoud et al., 2015).

Les huiles essentielles étaient largement utilisées comme parfums, mais elles sont aujourd'hui largement utilisées dans l'industrie médicale en raison de la présence d'un grand nombre de composants biologiquement actifs (Ahmad Malik et al., 2013).

Dans ce contexte, notre travail s'intéresse à évaluer les réponses des populations d'une espèce de mouche, *Drosophila melanogaster* et d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata* à l'impact d'un nouvel bioinsecticide à base d'huiles essentielles d'une espèce végétale *Ruta graveolens* sur:

1. L'aspect toxicologique pour déterminer les concentrations létales CL25 (concentrations létale de 25% de la population), CL50 (concentrations létale de 50% de la population) et CL90 (concentrations létale de 90% de la population) à l'égard des larves du troisième stade nouvellement exuvies de *Drosophila melanogaster* et les œufs de *Culiseta longiareolata*.
2. Effet d'huiles essentielles d'une espèce végétale *Ruta graveolens* sur la composition biochimique des larves L3 *Drosophila melanogaster*.

MATERIELS  
ET  
METHODES

## **2. Matériels et méthodes**

### **2.1. Présentation de l'insecte (*Drosophila melanogaster*)**

#### **2.1.1. Généralité**

La drosophile est un genre de petites mouches, appartenant à la famille des Drosophilidae, dont les membres sont souvent appelés «fruits mouches» (Parvathi *et al.*, 2009). *Drosophila* dérivé du mot grec drósos signifie aimer la rosée (Perveen, 2018).

*Drosophila melanogaster* est le plus souvent connue sous le nom de mouche des fruits ou souvent appelée mouche du vinaigre, du vin ou du marc (Perveen, 2018). Si cette espèce devait être nommée d'après son principal attractif, il faudrait vraiment l'appeler la mouche de la levure. Les produits chimiques volatils issus de fruits mûrs qui stimulent manifestement le système olfactif de la mouche correspondent aux produits de fermentation de la levure poussant sur le fruit et non à ceux du fruit lui-même (Laturney & Billeter, 2014).

*Drosophila melanogaster* c'est un insecte diptère (c.-à-d. ordre d'insectes contenant les deux ailes ou soi-disant vraies mouches) (Abolaji *et al.*, 2013), C'est un petit insecte d'environ 3 mm de long (Sujit, 2014), Généralement jaune pâle à brun rougeâtre au noir, avec les yeux rouges (Foughali & Mekerbi, 2015), avec des anneaux transversaux noirs au travers de l'abdomen (Kissoum, 2016). Il est largement utilisé comme organisme modèle en génétique, biochimie, biologie cellulaire et développement la biologie. Au cours des dernières décennies, il a été utilisé comme modèle pour élucider les maladies humaines, et tôt pour études toxicologiques (Abolaji *et al.*, 2013).



**Figure 01.** *Drosophila melanogaster* (Photo originale).

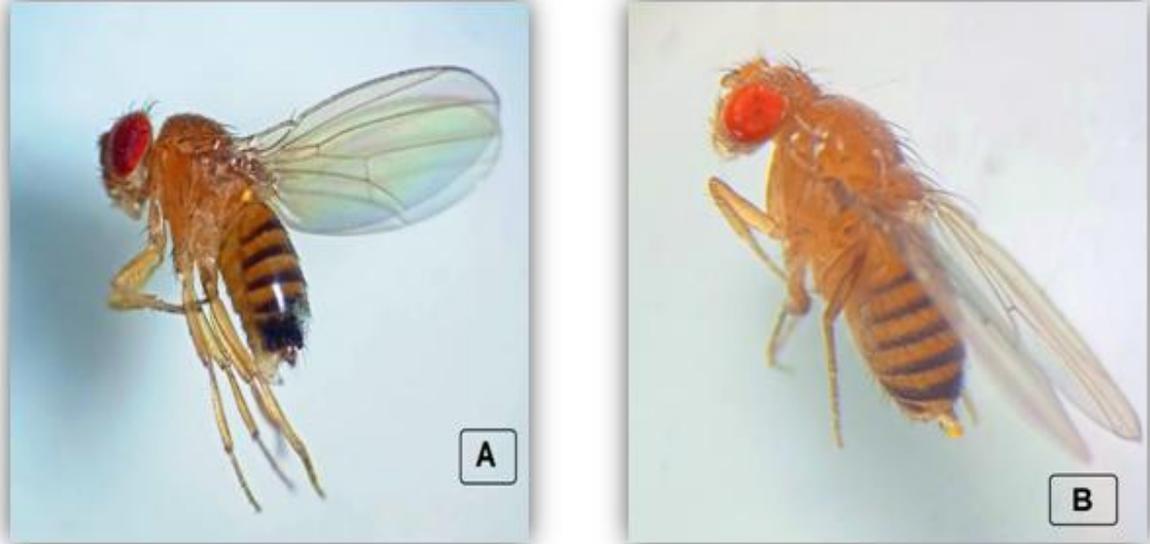


Figure 02. *Drosophila melanogaster* adultes (Photos originales).

[A: Mâle ♂ ; B: Femelle ♀ (x3)]

#### - Position systématique

La position systématique de *D. melanogaster* selon (Meigen, 1830) est la suivante:

**Règne:** Animalia

**Embranchement:** Arthropoda

**Sous Embranchement:** Mandibulata

**Classe:** Insecta

**Sous-classe:** Pterygota

**Infra-classe:** Neopetera

**Ordre:** Diptera

**Sous-ordre:** Brachycera

**Infra-ordre:** Muscomorpha

**Famille:** Drosophilidae

**Sous-famille:** Drosophilanae

**Genre:** *Drosophila*

**Espèce:** *Drosophila melanogaster*

#### 2.1.2. Caractéristiques de *Drosophila melanogaster*

- La mouche des fruits est simple à travailler, avec un cycle de vie / temps de génération relativement court de 12 jours et sa petite taille lui permet d'être produite en grand nombre (Mullan & Marsh, 2019).

- Les mouches des fruits sont robustes avec des besoins alimentaires simples et occupent peu d'espace (Sujit, 2014).

- Les mouches des fruits produisent un grand nombre de descendants pour permettre la collecte de données suffisantes. L'examen et la collecte de données sont faciles car les mouches peuvent être rapidement et facilement immobilisées pour examen (**Parvathi et al., 2009**).
- Le génome des mouches se compose de seulement quatre chromosomes, ce qui est un nombre nettement inférieur aux 23 chromosomes du génome humain. Néanmoins, plus de 75% des gènes à l'origine de maladies humaines ont un orthologue chez les mouches (**Vos & Klein, 2021**).
- La drosophile contient des systèmes d'organes qui fonctionnent de manière équivalente aux organes des mammifères, tels que le système de la trachée (poumon chez les mammifères), les tubules de Malpighi (rein chez les mammifères), le corps adipeux (foie chez les mammifères), l'intestin et les gonades (**Lemaitre & Miguel, 2013**).

### **2.1.3. Cycle de vie de *Drosophila melanogaster***

*D. melanogaster* se reproduit très rapidement et sans interruption (**Chaabane, 2016**). Il subit différents stades (œuf, larve, puppe, adulte) dans un cycle de vie court d'environ 10 jours (**Vos & Klein, 2021**). Chaque étape fournit une plate-forme unique pour étudier une grande variété de maladies et d'affections (**Allocca et al., 2018**).

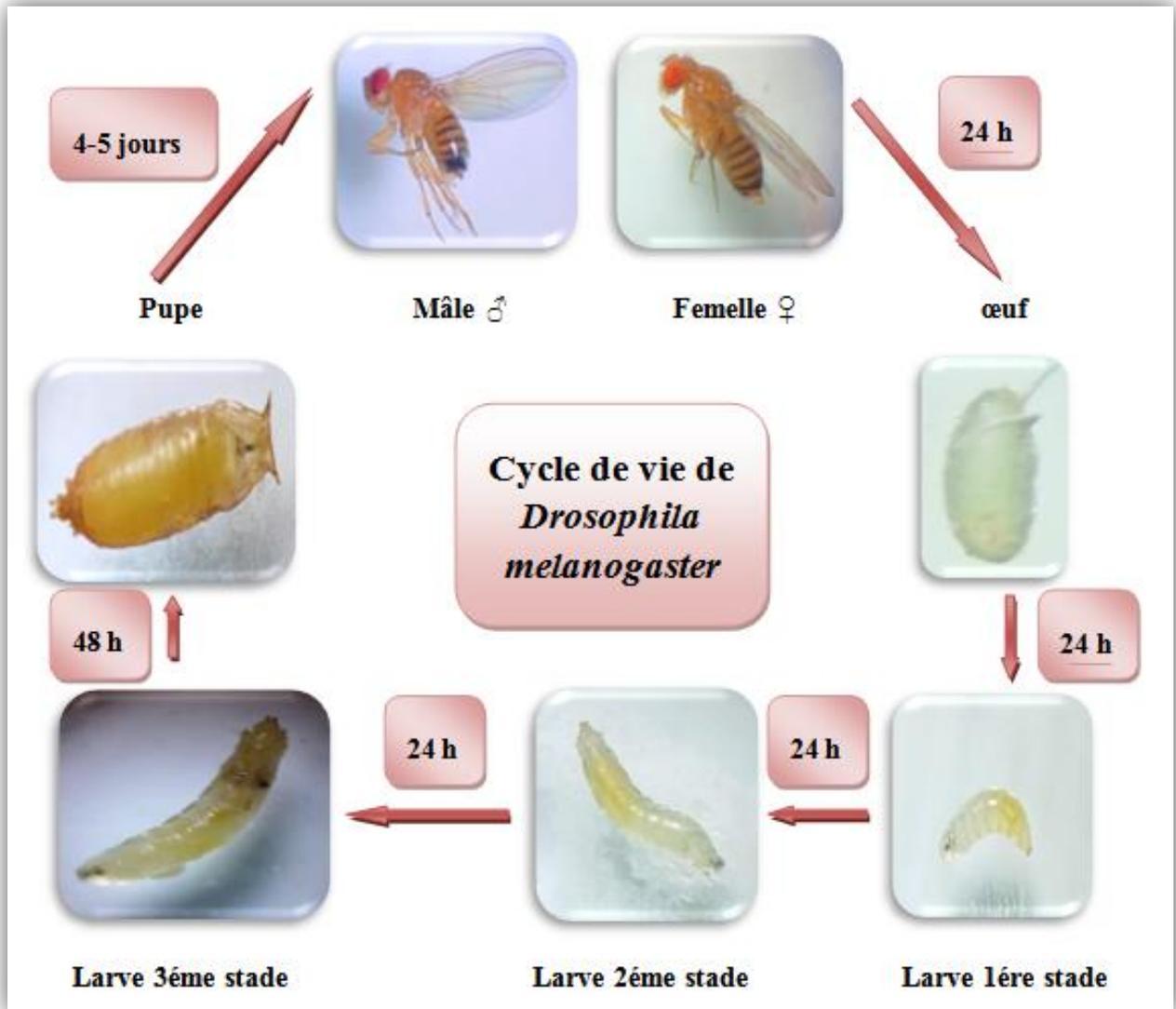
**1. Stade embryonnaire:** Après fécondation, les femelles pondent quelques centaines d'œufs (**Sellami, 2010**). L'œuf de *Drosophila melanogaster* mesure environ 0,5 millimètre de long (**Sujit, 2014**), allongés et blanchâtres (25 à 35 par jour), présentant une forme semblable à un ballon de rugby. Les œufs sont déposés sur des fruits ou autres matières humides en fermentation (**Chaabane, 2016**). Le stade embryonnaire dure 24h. Après émergence de la larve de premier stade (**Sellami, 2010**).

**2. Stade larvaire:** Cette phase dure 5 jours à 25°C pendant lesquels la larve va croître pour multiplier sa taille jusqu'à 5 fois (**Vaufrey, 2017**). La larve, après l'éclosion de l'œuf, subit deux mues, de sorte que la période larvaire se compose de trois stades (**Sujit, 2014**). Les deux premiers stades durent chacun en moyenne 1 jour, alors que le troisième stade nécessite généralement 2 jours (**Hales et al., 2015**). Les larves sont assez transparentes. Leurs corps gras, sous la forme de longues feuilles blanchâtres (**Sujit, 2014**). Durant les deux premiers stades et au début du troisième stade, la larve est dans le milieu d'élevage et se nourrit sans cesse (**Sellami, 2010**). A la fin du 3ème stade, elle quitte le milieu d'élevage, remonte le long du tube, s'immobilise et se transforme en puppe (**Sellami, 2010**).

**3. Stade pupal (nympheal):** Le début du stade pupal est marqué par la sortie des spiracles antérieurs (**Vaufrey, 2017**). L'animal reste dans l'étui nympheal pendant 4 à 5 jours (**Hales et**

*al.*, 2015), est caractérisé par la formation des organes adultes de la drosophile (Schaerlinger, 2004).

**4. Stade adulte:** Les mouches adultes émergent de la nymphe cas dans un processus appelé éclosion et devenir sexuellement mature en 8 à 12 heures, ce qui permet au cycle de vie de se répéter (Hales *et al.*, 2015).



**Figure 03.** Le cycle de vie de *Drosophila melanogaster* (Photo originale).

#### 2.1.4. Technique d'élevage

Les drosophiles sont élevées sur un milieu de culture standard contenant de la farine de maïs, de la levure, un fongicide et de l'eau (Bourdet, 2014). Maintenu à  $25 \pm 2$  ° C et une humidité relative de  $65 \pm 5\%$  sous une photopériode de 12 h de lumière: 12 h d'obscurité (Kissoum & Soltani, 2016). Elles sont élevées dans des tubes en verres et des flacons (Elbah, 2017). Environ 80 adultes pondteurs sont transférés tous les 3 à 4 j sur un nouveau milieu et renouvelés tous les 15 ou 21 j (Bourdet, 2014).



**Figure 04.** Flacons d'élevage (Photo originale).

### **2.1.5. Rôle écologique**

Cette petite mouche sert de nourriture à plusieurs espèces d'animaux insectivores. Elle contribue à accélérer le processus de décomposition des végétaux sur lesquels elle pond ses oeufs (**Ramade, 2003**).

### **2.1.6. Moyens de lutte**

La lutte contre la Drosophile est une combinaison de mesures incluant la surveillance, la lutte culturale (mesures d'assainissement, récolte au moment opportun) et des traitements avec des insecticides homologués (**Foughali & Mekerbi, 2015**).

#### **1- La lutte biologique**

Les moyens de lutte culturale sont importants pour la maîtrise de ce ravageur.

- L'élimination des fruits tombés ou trop mûrs, la cueillette au moment opportun et l'éradication des hôtes sauvages permettent de réduire les populations (**Foughali & Mekerbi, 2015**).

- Retirer les fruits non vendables du champ. Ne pas laisser les fruits déclassés exposés pendant plus d'une journée (**Foughali & Mekerbi, 2015**).

#### **2- La lutte chimique**

- Quand on détecte les mouches dans les pièges et que les fruits sont à un stade sensible (dès qu'ils commencent à se colorer), il faut appliquer un insecticide (**Foughali & Mekerbi, 2015**).

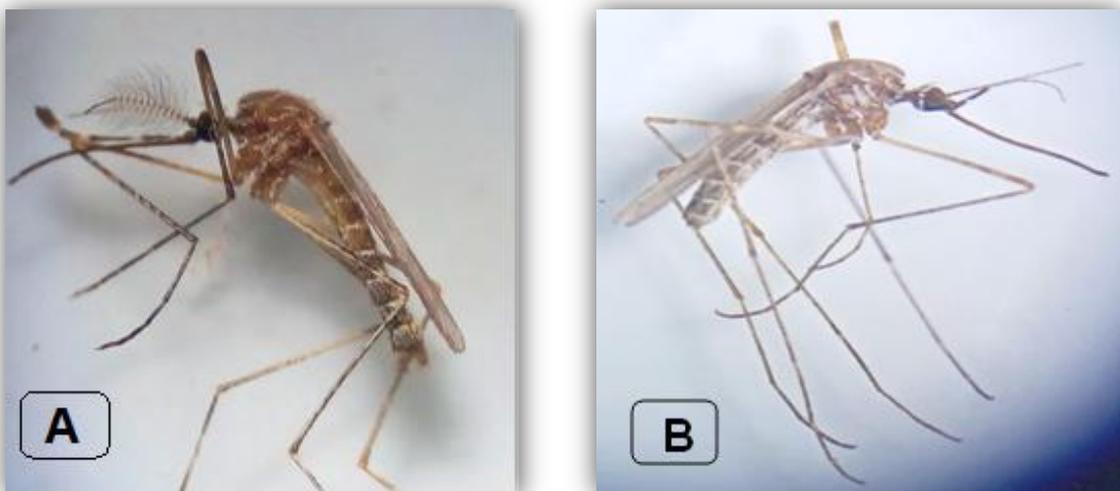
- Il faut protéger les fruits dès qu'ils commencent à se colorer jusqu'à la fin de la cueillette. Il faudra peut-être une autre application selon l'activité résiduelle du produit (**Foughali & Mekerbi, 2015**).

## 2.2. Présentation de l'insecte (*Culiseta longiareolata*)

### 2.2.1. Généralité

*Culiseta longiareolata* est une espèce de la famille des *Culicidae*, de la sous-famille des *Culicinae* (F. G. Khaligh *et al.*, 2020). C'est une espèce commune et abondante dans de nombreux pays d'Europe, d'Afrique et aussi d'Asie (Hazratian *et al.*, 2019). Il est largement distribuée en Algérie, et en particulier dans le sud du pays. C'est un vecteur de la brucellose, de la grippe aviaire et de l'encéphalite du Nil occidental (Hazratian *et al.*, 2019). Un insecte nuisible à métamorphose complète. Ce moustique a une taille qui varie de 3 à 5mm. Il possède un corps mince et des pattes longues et fines avec des ailes membraneuses, longues et étroites (Azzouz & Halib, 2017). Ces espèces de moustiques sont se distingue facilement des autres espèces de *Culiseta*, et ses caractères morphologiques comprennent des rayures blanches et des points sur les jambes, la tête et le thorax (F. G. Khaligh *et al.*, 2020).

Les larves de cette espèce se trouvent principalement dans tout type de gîtes artificiels, par ex. barils de pluie et les puits, mais se rencontrent rarement dans les plans d'eau naturels. En général, les femelles de cette espèce évitent de pondre dans des récipients d'eau avec des prédateurs présents (Zittra *et al.*, 2014). Les sites de reproduction de cette espèce sont de types très différents; ils peuvent être permanents ou temporaires, ombragés ou ensoleillés, remplis d'eau douce ou saumâtre, propres ou pollués (Merabti *et al.*, 2020). Il est trouvé commun dans les habitations humaines (Hazratian *et al.*, 2019), bien qu'il attaque rarement les humains (Cetin *et al.*, 2012). Cependant, les femelles préfèrent se nourrir de sang d'oiseau (Nabti & Bounechada, 2019).



**Figure 05.** *Culiseta longiareolata* [A: Mâle ♂ ; B: Femelle ♀] (Photos originales).

- **Position systématique**

La position systématique de *Cs. longiareolata* selon (**Aitken, 1954**) est la suivante:

**Règne:** Animalia

**Sous-règne:** Metazoa

**Embranchement:** Arthropoda

**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:** *Culiseta*

**Espèce:** *Culiseta longiareolata*

**2.2.2. Caractéristiques de *Culiseta longiareolata***

- Cette espèce est multivoltine avec un développement continu dans les pays chauds à large distribution (**Merabti et al., 2020**).

- *Cs. longiareolata* a des fonctionnalités adaptatives et de survie uniques (**Nabti & Bounechada, 2019**).

- Les premier et deuxième stades de *Cs. longiareolata* sont concentrés dans zones peu profondes des mares, tandis que les stades tardifs (larves de troisième et quatrième stades, chrysalides) se trouvent au-dessus des zones plus profondes des mares (**Cetin et al., 2012**).

**2.2.3. Cycle de vie de *Culiseta longiareolata***

Les *Culicidae*, ou moustiques comme communément connus, sont une famille d'insectes Diptères qui se reproduisent rapidement et abondamment (**Nabti & Bounechada, 2019**). Ces sont des insectes holométaboles. Leur développement passe par une phase larvaire aquatique avant le stade adulte aérien entrecoupé d'une courte phase nymphale (**Poupardin, 2011**).

**1. Les œufs:** La prise d'un repas de sang par une femelle induit la vitellogénèse et la maturation des œufs, qui seront pondus dans un intervalle de 48 h à 72 h après la prise du repas de sang (**Pagès, 2017**). Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs. Au moment de la ponte ils sont blanchâtres et prennent

rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque ; une couleur noire (**Bouderhem, 2015**). Les œufs pondus à la surface de l'eau sont insubmersible grâce à leur arrangement en nacelle. Les œufs peuvent éclore en moins de 2 à 3 jours après leur ponte, période nécessaire au développement embryonnaire (**Dahchar, 2017**).

**2. Les larves:** Les larves de moustiques sont toujours aquatiques colonisent les eaux temporaires ou permanentes. Leur évolution s'accomplit en quatre stades (**Dahchar, 2017**). leur déplacement est assuré par des mouvements frétilants caractéristiques, de taille variant de 2mm à 12mm (**Bouderhem, 2015**). Les larves vivent environ 10 jours. La rapidité du développement des larves dépend de la quantité de nourriture contenue dans l'eau du gîte (**Azzouz & Halib, 2017**).

**3. Les nymphes:** La nymphe ou pupa est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (**Bouderhem, 2015**). La nymphe, également aquatique, éphémère (de 1 à 5 jours) (**Azzouz & Halib, 2017**). La nymphe est mobile mais qui ne se nourrit pas (**Pagès, 2017**), mais durant ce stade le moustique subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques. A la fin de cette période, la nymphe donne un adulte, mâle ou femelle (**Dahchar, 2017**).

**4. Les adultes (ou l'imago):** La métamorphose se produit dans la nymphe qui va donner l'adulte ailé, mâle ou femelle, les adultes mâles émergent avant les adultes femelles (**Pagès, 2017**), car il leur faut d'avantage de temps pour développer leurs glandes sexuelles. L'antenne du mâle est velue, chez la femelle est glabre (**Dahchar, 2017**). 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 (**Bouderhem, 2015**). Il est composé de trois parties la tête, le thorax et l'abdomen bien différencié (**Azzouz & Halib, 2017**).



Figure 06. Le cycle de vie de *Culiseta longiareolata* (Photo originale).

#### **2.2.4. Technique d'élevage**

##### **A l'état de l'œufs**

Les œufs qui ont été collectés dans les gîtes sont conservés dans le laboratoire, où ils sont élevés dans des conteneurs contenant une quantité d'eau (150mL) conservée à une température de 25° C.



**Figure 07:** Site d'élevage de *Culiseta longiareolata* (photo originale).

#### **2.2.5. Moyens de lutte**

La lutte contre les moustiques peut dépendre de diverses stratégies (Nabti & Bounechada, 2019):

##### **1- La lutte biologique**

- Récemment, des méthodes respectueuses de l'environnement ont été développées pour contrôler les moustiques. Par exemple, l'amélioration des outils de contrôle et le développement de répulsifs et toxiques les produits à base de composants botaniques peuvent cibler différents stades de vie des moustiques (Nabti & Bounechada, 2019).

##### **2- La lutte chimique**

- Le plus courant au cours des dernières décennies a été l'utilisation d'insecticides synthétiques car peu coûteux et produits disponibles (Nabti & Bounechada, 2019).

- Les insecticides chimiques tels que les organophosphates, les organochlorés, les carbamates et les pyréthroïdes sont l'arme principale contre les deux adultes. et les stades larvaires des moustiques vecteurs (Hazratian *et al.*, 2019).

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

#### 2.3.1. Généralité

*Ruta graveolens* appelée habituellement rue fétide, rue officinale, herbe de grâce, rue des jardins ou rue commune. C'est un arbrisseau de la famille des *Rutaceae* et du genre *Ruta* (Doerper, 2008). Le *Ruta* est connu aussi par rue (nom français) et par « Πύρη » (nom grec) (Benkiki, 2006). Le mot *graveolens* arrive du latin 'gravis' qui signifie fort et de verbe "olere" qui veut dire sentir, ce à dire odeur forte et désagréable (Boumediene & Agha, 2014). Le rue est une plante herbacée vivace, originaire de la région méditerranéenne. Il est maintenant cultivé dans de nombreuses régions du monde (Asgarpanah, 2012). *Ruta graveolens* est bien connu pour ses utilisations aromatiques et médicinales (Parray *et al.*, 2012). La rue est toxique à fortes doses (Iserin, 2001).



**Figure 08.** *Ruta graveolens* (Rue) (Photo originale).

#### 2.3.2. Description botanique

*Ruta graveolens* est un petit sous-arbuste à feuilles persistantes ou une plante vivace semi-ligneuse 0,6 à 0,9 m de haut et presque aussi large (Asgarpanah, 2012). C'est une plante très ramifiée. Ses feuilles d'un vert terne (Doerper, 2008). Les feuilles de 7,6 à 12,7 cm de long sont disséqué penné en forme de forme oblongue ou cuillère segments (Asgarpanah, 2012). *Ruta graveolens* se caractérise par une odeur forte, acre et pénétrante émise par les huiles contenues dans les poches schizolysogènes à la surface des feuilles (Doerper, 2008). Les fleurs sont petites et de couleur jaune (Malik *et al*, 2017). Ses fleurs ont les mêmes nombres sépales et pétales qui vont de 4 à 5 et de 8-10 étamines. La floraison s'étend de mai à août (Doerper, 2008). Les fruits sont secs, durs et arrondis, 4 ou 5 lobés au sommet brun grisâtre

et rugueux. Les graines sont ovoïdes, arrondies sur le dos, aplaties à l'avant (Parray *et al.*, 2012). La plante est hermaphrodite et entomogame (Doerper, 2008).



**Figure 09.** Feuilles et fleur de *Ruta graveolens* (Asgarpanah, 2012).

**- Position systématique**

La position systématique de *Ruta graveolens* selon (linné, 1753) est la suivante:

**Domaine:** Biota.

**Règne:** Plantae.

**Sous-Règne:** Viridiaeplantae.

**Infra-Règne:** Streptophyta.

**Classe:** Equisetopsida.

**Clade:** Tracheophyta.

**Clade:** Spermatophyta.

**Sous-Classe:** Magnoliidae.

**Super-Ordre:** Rosanae.

**Ordre:** Sapindales.

**Famille:** Rutaceae.

**Sous-Famille:** Rutoideae.

**Genre:** *Ruta*.

**Espèce:** *Ruta graveolens*.

### **2.3.3. Utilisations de plante**

La plante *Ruta graveolens* a de nombreuses utilisations:

#### **a) Médicales**

la rue est prescrite pour régulariser l'apparition des règles, car elle a un effet stimulant sur les muscles de l'utérus. En Europe, elle sert à soigner des pathologies aussi diverses que l'hystérie, l'épilepsie, le vertige, la colique, les parasites intestinaux, l'empoisonnement et les affections des yeux. Dans ce dernier cas, on utilise la rue en infusion, que l'on applique sur les yeux cernés ou fatigués, mais également pour «améliorer la vue» (Iserin, 2001).

On prescrit aussi la rue contre la sclérose en plaques et la paralysie de Bell. la rutine a pour particularité de renforcer les parois des vaisseaux sanguins et d'abaisser la tension (Iserin, 2001).

Il a été démontré que les extraits de rue ont une puissante activité anticancéreuse, manifestée par de puissants effets antiprolifératifs et anti-survie sur les cellules cancéreuses (Mancuso *et al.*, 2015).

#### **- Utilisations médicinales en médecine traditionnelle**

1. L'utilisation locale de ce médicament avec du miel est un bon traitement pour la paralysie, les tremblements, les articulations douleur et troubles nervins (Parray *et al.*, 2012).
2. La décoction de *Ruta graveolens* lorsqu'elle est utilisée comme lavement soulage la colite, les flatulences et les flatulences colite (Parray *et al.*, 2012).
3. L'infusion de feuilles de *Ruta graveolens* est utilisée sous forme de goutte nasale pour traiter la paralysie infantile (Parray *et al.*, 2012).

#### **b) Alimentaire**

En gastronomie, la rue est utilisée pour son arôme piquant typique et le goût très amer de ses parties aériennes, principalement pour aromatiser certaines préparations de viande et d'œufs et pour préparer une boisson alcoolisée traditionnelle (grappa alla ruta) populaire dans le nord de l'Italie et en Croatie (Mancuso *et al.*, 2015).

### **2.3.4. Composition chimique du *Ruta graveolens***

La rue de jardin renferme de nombreux composés appartenant à différentes classes chimiques: alcaloïdes, coumarines, flavonoïdes et une huile essentielle. Les chercheurs ont pu identifier dans *Ruta graveolens* L. plus de 100 composés. La nature et les teneurs de ces composés sont très variables selon l'espèce, le stade de développement et la distribution géographique (Belaid & Bellil, 2017).

### **2.3.5. Huiles essentielles**

#### **a. Définition**

L'huile essentielle est un extrait naturel et pur provenant de plantes aromatique. Elle concentre l'essence de la plante, autrement dit son parfum. Il s'agit de substances odorantes, volatiles, de consistance (**Lakhdar, 2015**).

Selon l'AFNOR (l'Association Française de Normalisation), ce sont des produits généralement odorants, obtenus soit par entraînement à la vapeur d'eau, de végétaux ou de parties de végétaux, soit par expression du péricarpe frais de certaines citrus. Cette définition excluant les essences obtenues par d'autres procédés d'extraction. huileuse, très concentrées, offrant une forte concentration en principes actifs (**Lakhdar, 2015**).

#### **b. Activités biologiques étudiées des huiles essentielles de *Ruta graveolens***

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* contient de nombreuses activités biologiques, dont les suivantes:

##### **Antifongique**

Les extraits de *Ruta graveolens* et les huiles essentielles ont également des applications bien documentées dans l'agriculture et la protection des cultures. Ils sont utilisés comme fongicides (**Mancuso et al., 2015**).

##### **Antiparasitaires**

La *Ruta graveolens* a été utilisée en médecine folklorique pour le traitement de plusieurs maladies inflammatoires, comme les rhumatismes, ainsi que pour traiter la leishmaniose cutanée. Au Brésil. Des études antérieures ont montré que *R. graveolens* présente une activité antiparasitaire contre *Leishmania amazonensis* et contient plusieurs métabolites biologiquement actifs, tels que les alcaloïdes et les coumarines (**Aleixo de Carvalho et al, 2019**).

##### **Anti-inflammatoire**

Les parties aériennes de *R. graveolens* ont été fonctionnellement utilisés comme drogue brute traditionnelle en cataplasme contre les douleurs rhumatismales. L'extrait méthanolique de *R. graveolens* réduit l'afflux cellulaire, l'œdème, la libération de médiateurs et stress oxydatif associé à un état arthritique, et adonc le potentiel d'être utilisé comme anti-arthritique agent (**Asgarpanah, 2012**).

##### **Antimicrobienne**

L'une des études suggère que les extraits de *R. graveolens* ont montré une activité inhibitrice contre les bactéries Gram-positives telles que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes*, *Listeria monocytogenes* et *Bacillus subtilis* (**Pavić et al., 2019**).

### **Activité antioxydant**

*Ruta graveolens* est une espèce très riche en métabolites secondaires (flavonoïdes, coumarines, alcaloïdes, huiles essentielles...) ce qui explique son pouvoir antioxydant (**Belaid & Bellil, 2017**).

### **2.4. Extraction des huiles essentielles par hydrodistillation**

Il s'agit de la méthode la plus simple et de ce fait la plus anciennement utilisée (**El haib, 2011**). Cette méthode est généralement indiquée pour les huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants. Cependant, l'inconvénient majeur de cette méthode est la non maîtrise de la température du récipient contenant le mélange (eau + organes végétaux) et la modification de la couleur, de l'odeur et de la composition de l'huile essentielle au cours de la distillation (**Lakhdar, 2015**).

L'extraction de huile essentielle de plante *Ruta graveolens* été fait au niveau de laboratoire de Tébessa, nous avons utilisées un appareil de type Clevenger pour l'hydrodistillation. La plante *Ruta graveolens* frais a été acheté sur le marché local en février 2021. Après séchage dans un endroit sec et aéré à l'abri de la lumière du soleil (**Esseid, 2018**). 100g de la plante sèche est introduite dans un ballon à bi ou tri cols, et imprégné d'eau, l'ensemble est porté à ébullition pendant 2 à 3 heures. Les vapeurs d'eau chargées d'huile essentielle, en traversant le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter, l'eau et l'huile se séparent par différence de densité (**Attou, 2011**). L'huile essentielle obtenue de couleur jaune et à odeur très agréable, est séchée par du sulfate de sodium anhydre (**Esseid, 2018**). Il est placée dans une petite bouteille en verre hermétiquement fermée recouverte d'une feuille d'aluminium pour la protéger de la lumière, puis conservée à 4 ° C.

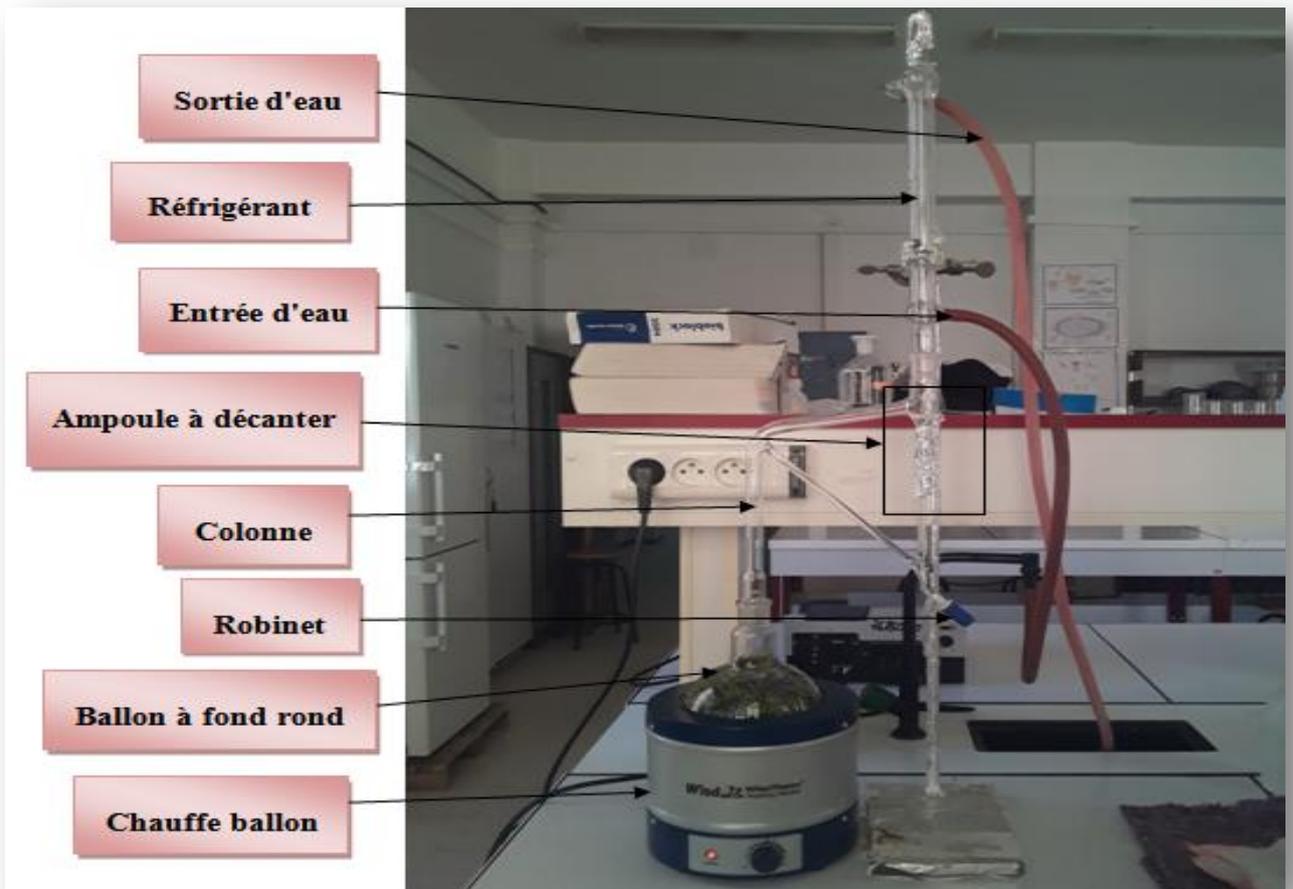


Figure 10. Montage de l'hydrodistillation de type Clevenger (photo originale).

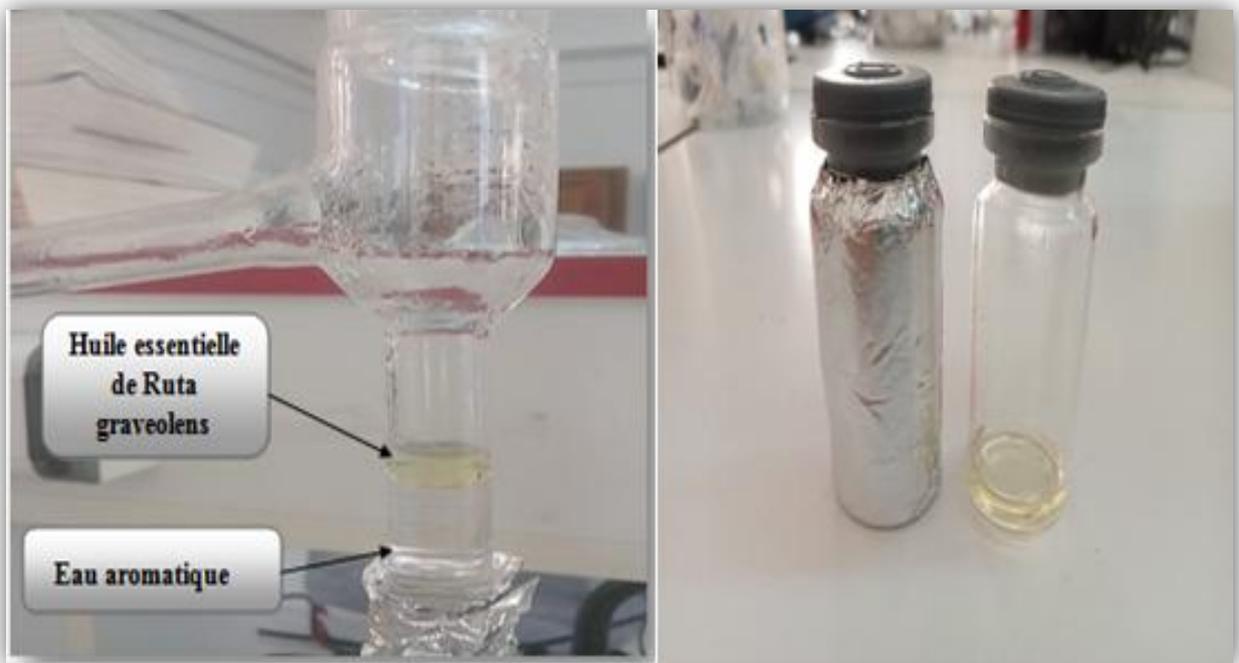


Figure 11. Huile essentielle de *Ruta graveolens* (Photo originale).

## 2.5. Rendement des huiles essentielles

On appelle rendement le rapport entre le poids de l'huile essentielle extraite et le poids de la plante à traiter. Le rendement en pourcentage (R) est calculé par la formule suivante (**Attou, 2011**):

$$R = P_H / P_P \times 100$$

PH : poids de l'huile essentielle extraite en g.

PP : poids de la plante traitée en g.

Le rendement « HE/matière première végétale » peut être très variable selon les plantes. En général les huiles essentielles ont un faible rendement (**Nowicki, 2019**).

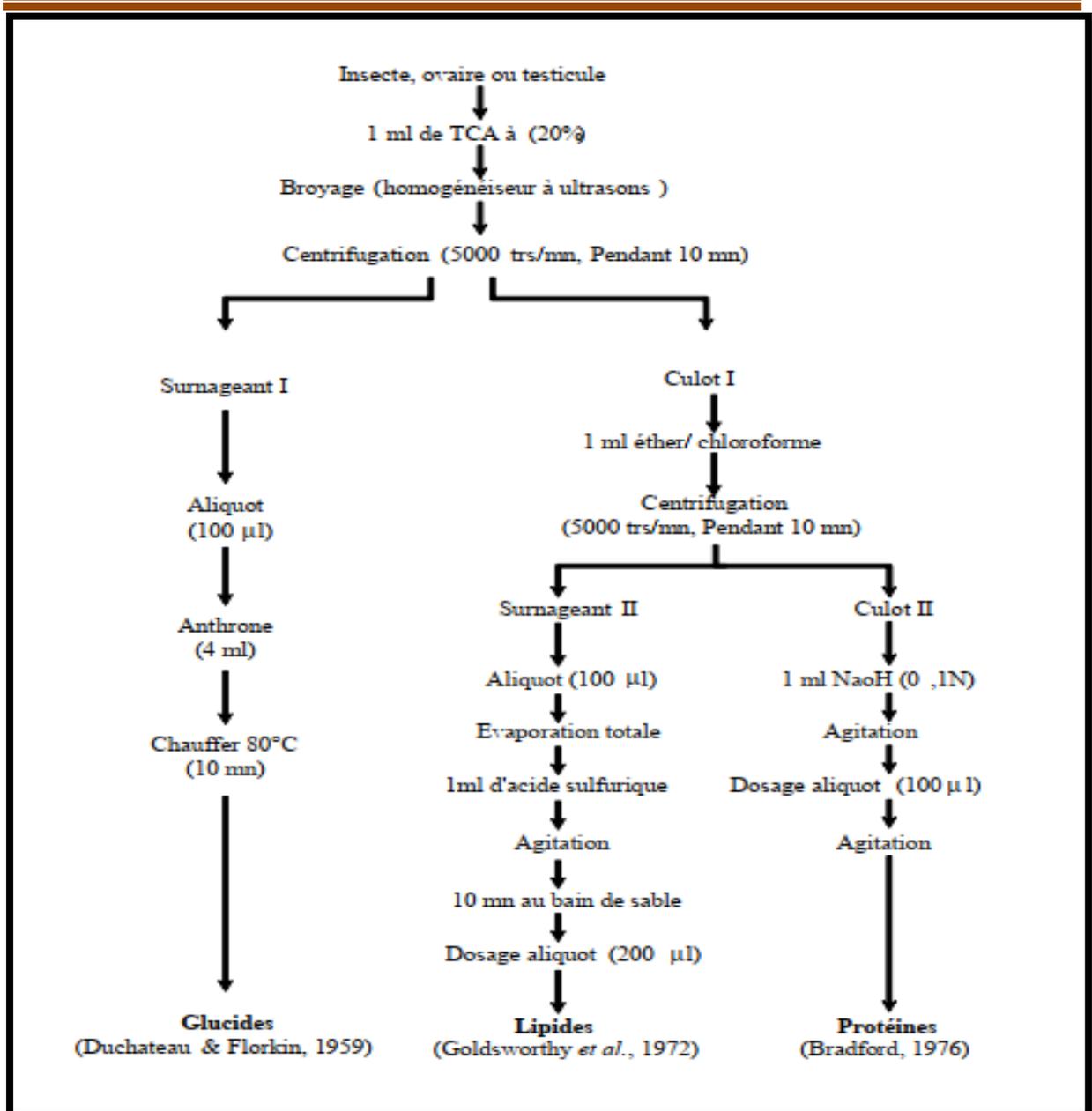
## 2.6. Test de toxicité

Nous avons préparé des concentrations de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* diluée dans l'acétone seront utilisées dans les essais toxicologiques par l'application topique des à l'égard des larves L3 *Drosophila melanogaster* dans des gobelets contenant 50 mg de milieu de culture.

Des gobelets contenant 150 mL d'eau déchlorurée en contact avec 25 œufs de *Culiseta longiareolata* ainsi préparées des solutions dans des tube épandeur contenant 1 ml d'éthanol diluée pour chaque concentration donné le nombre des œufs non clos ont été comptées après 48h heures d'exposition.

## 2.7. Extraction et dosage des principaux constituants biochimiques

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon (**Shibko et al., 1966**) et les principales étapes sont résumées dans la figure12. Les échantillons sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés à l'aide d'un homogénéiseur à ultrason. Après une première centrifugation (5000 trs / min à 4°C, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de (**Duchateau & Florkin, 1959**). Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (**Goldworthy et al., 1972**) et le culot II, dissout dans la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon (**Bradford, 1976**).



**Figure 12.** Extraction des glucides, protéines et lipides totaux selon Shibko *et al.*

### 2.7.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de (**Bradford, 1976**) dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de comassie (BBC) G 250 (Merck). La solution de BBC, se prépare comme suit: On homogénéise 100 mg de BBC, dans 50 ml d'éthanol 95°, on y ajoute ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 1000 ml avec l'eau distillée. La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4°C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant 1 mg/ml (Tableau1).

**Tableau 01.** Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

### 2.7.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon (**Duchateau & Florkin, 1959**). Elle consiste à additionner 100 µl du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 mn, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon, la lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La préparation du réactif d'anthrone se fait comme suit : peser 150 mg d'anthrone, ajouter 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée. On obtient une solution limpide de couleur verte qui est stockée à l'obscurité. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml) (Tableau2).

**Tableau 02.** Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité de glucose (µg)	0	20	40	60	80	100

### 2.7.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de (**Goldsworthy et al., 1972**) utilisant le réactif sulfo-phospho-vanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100 µl des extraits lipidiques ou de gamme étalon aux quelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, les tubes sont agités, et mis pendant 10 mn dans un bain de sable à 100 °C. Après refroidissement, on prend 200 µl de

ce mélange au quel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide Sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. Le réactif est préparé comme suit :

Dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée et ajouter 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4 °C et à l'obscurité. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V) (Tableau3).

**Tableau 03.** Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V) ml	100	80	60	40	20	0
Quantité de lipides (µg)	0	50	100	150	200	250

# [ RESULTATS ]

### 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  $0.81 \pm 0.10\%$  de la matière sèche de la partie aérienne de la plante.

#### 3.2. Essai de *Ruta graveolens* à l'égard des larves L3 de *D. melanogaster*

Les études toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité d'huiles essentielle de *Ruta graveolens* sur les larves L3 de *D. melanogaster* évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles avec un effet cumulé 24, 48, 72 h.

Les tests de toxicité sont appliqués sur les larves L3 de *D. melanogaster* avec des différentes concentrations d'huiles essentielle de *Ruta graveolens*: 2.5, 5, 10, 20 et 30  $\mu$ l. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le (Tableau 01) avec des taux variant de 2.00% (2.5  $\mu$ l) à 97,00% (30  $\mu$ l) avec une relation concentrations – réponse. Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités, Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 02) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif ( $p < 0,001$ ).

**Tableau 04.** Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* ( $\mu$ l) appliquées sur les larves de *Drosophila melanogaster* (24 h): Mortalité corrigée % ( $m \pm SD$ ,  $n = 4$  répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration ( $\mu$ l)	2.5	5	10	20	30
R1	0	20	44	80	100
R2	4	8	48	84	96
R3	4	12	48	76	96
R4	0	16	40	76	96
<b>m<math>\pm</math>SD</b>	<b>2.00 <math>\pm</math> 2.31</b>	<b>14.00 <math>\pm</math> 5.16</b>	<b>45.00 <math>\pm</math> 3.83</b>	<b>79.00 <math>\pm</math> 3.83</b>	<b>97.00 <math>\pm</math> 2.00</b>

**Tableau 05.** Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* ( $\mu\text{l}$ ) chez les larves de *Drosophila melanogaster*. Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P***
Traitement	26564.8	4	6641.2	508.26	0,000
Erreur résiduelle	196.0	15	13.1		
Total	26760.8	19			

\*\*\* différence très hautement significative ( $p < 0.001$ ) SCE : Somme des carrés

Des écarts; Ddl: degré de liberté, CM: carré moyen; F obs: F observée; p: niveau de Significative.

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* a été appliquée sur des larves du stade L3 à concentration létales, CL25, CL50, et la CL90 (qui provoque la mortalité de 25%, 50 %, et 90 % de population ciblée). Les concentrations CL25, CL50 et CL90 déterminées sont respectivement 6,941 de l'intervalle (5,719-8,257) et 10.85 de l'intervalle (9,511-12,35) ; et 26,5 de l'intervalle (20,61-34,96), avec un Slope de 0,2112.

**Tableau 06.** Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* ( $\mu\text{l}$ ) appliquées sur les larves de *Drosophila melanogaster* (48 h): Mortalité corrigée % ( $m \pm SD$ ,  $n = 4$  répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration ( $\mu\text{l}$ )	2.5	5	10	20	30
R1	8	28	48	80	100
R2	4	20	44	84	100
R3	8	20	52	84	100
R4	8	24	48	84	100
<b><math>m \pm SD</math></b>	<b><math>7.00 \pm 2.00</math></b>	<b><math>23.00 \pm 3.83</math></b>	<b><math>48.00 \pm 3.27</math></b>	<b><math>83.00 \pm 2.00</math></b>	<b><math>100.00 \pm 0.00</math></b>

**Tableau 07.** Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* ( $\mu\text{l}$ ) chez les larves de *Drosophila melanogaster*. Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P***
Traitement	24587.20	4	6146.80	922.02	0,000
Erreur résiduelle	100.00	15	6.67		
Total	24687.20	19			

\*\*\* différence très hautement significative ( $p < 0.001$ ) SCE : Somme des carrés

Des écarts; Ddl: degré de liberté, CM: carré moyen; F obs: F observée; p: niveau de Significative.

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* a été appliquée sur des larves du stade L3 à concentration létales, CL25, CL50, et la CL90 (qui provoque la mortalité de 25%, 50 %, et 90 % de population ciblée). Les concentrations CL25, CL50 et CL90 déterminées sont respectivement 5,8 de l'intervalle (3,882-8,127) et 9,563 de l'intervalle (7,412-12,16) ; et 25,99 de l'intervalle (16,97-45), avec un Slope de 0.3172.

**Tableau 08.** Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* ( $\mu\text{l}$ ) appliquées sur les larves de *Drosophila melanogaster* (72h): Mortalité corrigée % ( $m \pm \text{SD}$ ,  $n = 4$  répétitions comportant chacune 10 individus).

Concentration ( $\mu\text{l}$ )	2.5	5	10	20	30
R1	8	32	48	92	100
R2	8	28	56	84	100
R3	8	24	48	88	100
R4	8	24	52	88	100
$m \pm \text{SD}$	$8.00 \pm 0.00$	$27.00 \pm 3.83$	$51.00 \pm 3.83$	$88.00 \pm 3.27$	$100.00 \pm 0.00$

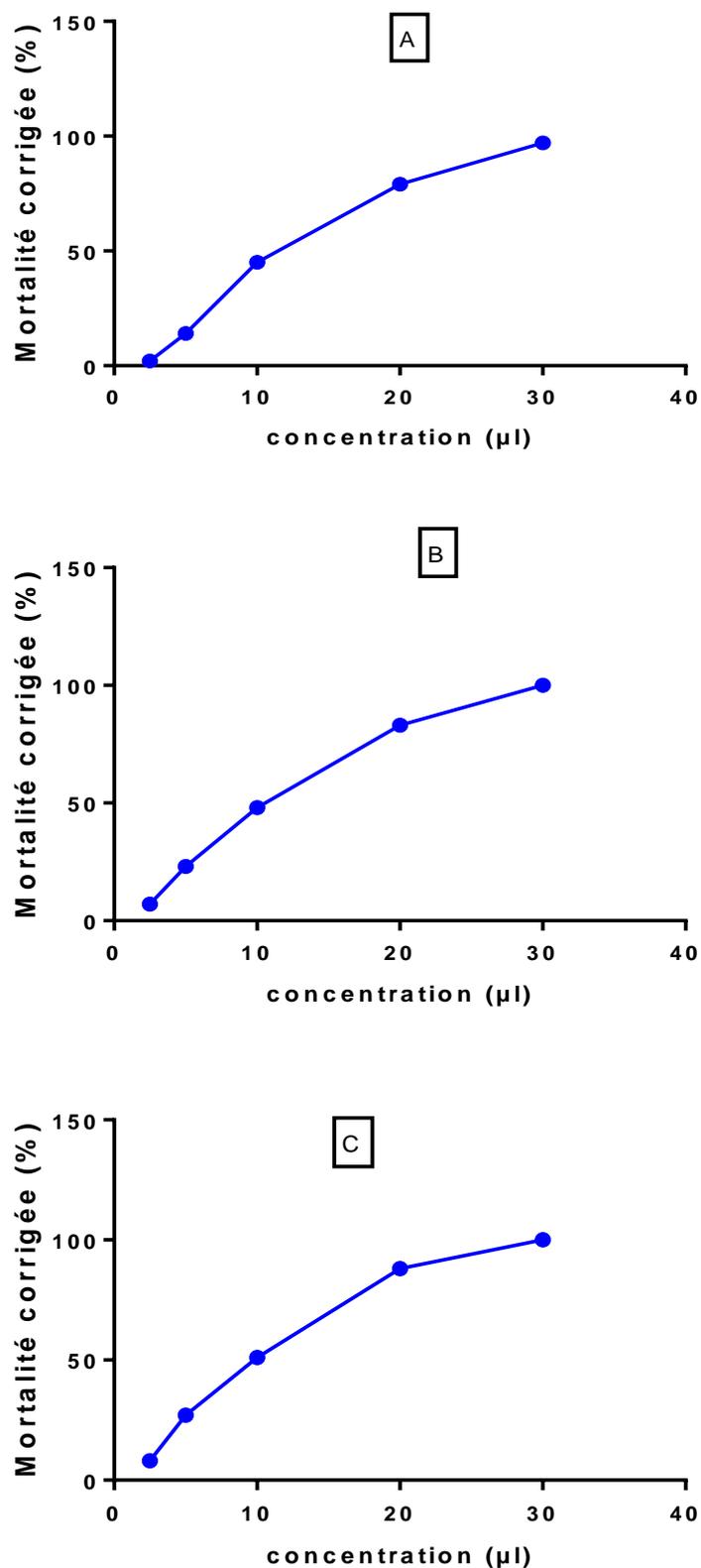
**Tableau 09.** Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* ( $\mu\text{l}$ ) chez les larves de *Drosophila melanogaster*. Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P***
Traitement	24491.20	4	6122.80	765.35	0,000
Erreur résiduelle	120.00	15	8.00		
Total					

\*\*\* différence très hautement significative ( $p < 0.001$ ) SCE : Somme des carrés

Des écarts; Ddl: degré de liberté, CM: carré moyen; F obs: F observée; p: niveau de Significative.

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* a été appliquée sur des larves du stade L3 à concentration létales, CL25, CL50, et la CL90 (qui provoque la mortalité de 25%, 50 %, et 90 % de population ciblée). Les concentrations CL25, CL50 et CL90 déterminées sont respectivement 5,266 de l'intervalle (3,41-7,586) et 8,754 de l'intervalle (6.651-11.33) ; et 24,19 de l'intervalle (15,52-43,52), avec un Slope de 2.162.



**Figure 13.** Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* (µl) appliquées sur les larves de *Drosophila melanogaster* (24h, 48h et 72h): Mortalité corrigée % ( $m \pm SD$ ,  $n = 4$  répétitions comportant chacune 10 individus).

### 3.3. Essai de *Ruta graveolens* a l'égard des œufs de *Culiseta longiareolata*

Les études toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité d'huiles essentielle de *Ruta graveolens* sur les oeufs de *Culiseta longiareolata* Évalué par le nombre d'œufs qui n'ont pas éclos après 48 h.

Les tests de toxicité sont appliqués sur les nacelles de *Culiseta longiareolata* avec des différentes concentrations d'huiles essentielle de *Ruta graveolens*: 2.5, 5, 10, 20 et 40 µl jusqu'à 24 h. les œufs qui n'ont pas éclos observée est corrigée à partir d'une éclos naturelle. Elle est mentionnée dans le (Tableau 07) avec des taux variant de 8.00% (2.5 µl) à 100.00 % (40 µl) avec une relation concentrations – réponse. Après une transformation angulaire des pourcentages de mortalités, Les données ont fait l'objet d'une analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 08) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif ( $p < 0,001$ ).

**Tableau 10.** Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* (µl) appliquées sur les oeufs de *Culiseta longiareolata*: Mortalité corrigée % (m ± SD, n = 4 répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentration (µl)	2.5	5	10	20	40
R1	4	16	32	64	100
R2	8	24	40	72	100
R3	12	20	48	80	100
R4	8	16	32	76	100
m±SD	8.00 ± 3.27	19.00 ± 3.83	38.00 ± 7.66	73.00 ± 6.83	100.00 ± 0.00

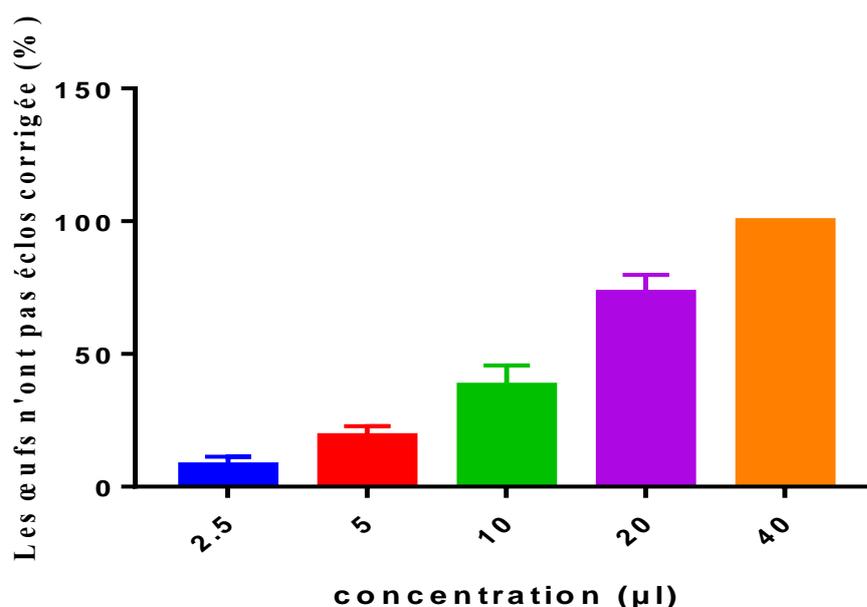
**Tableau 11.** Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* (µl) chez les œufs de *Culiseta longiareolata*. Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P***
Traitement	23476.8	4	5869.2	224.59	0,000
Erreur résiduelle	392.0	15	26.1		
Total	23868.8	19			

\*\*\* différence très hautement significative ( $p < 0.001$ ) SCE : Somme des carrés

Des écarts; Ddl: degré de liberté, CM: carré moyen; F obs: F observée; p: niveau de Significative.

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* a été appliquée sur des larves du stade L3 à concentration létales, CL25, CL50, et la CL90 (qui provoque la mortalité de 25%, 50 %, et 90 % de population ciblée). Les concentrations CL25, CL50 et CL90 déterminées sont respectivement 6,845 de l'intervalle (4,289 -10,01) et 11,77 de l'intervalle (8,839 -15,47) ; et 34,83 de l'intervalle (20,87 -70,34 7), avec un Slope de 2.026.



**Figure 14.** Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* (µl) appliquées sur les œufs de *Culiseta longiareolata*: Mortalité corrigée % (m ± SD, n = 4 répétitions comportant chacune 25 individus).

### 3.4. Anomalies morphologiques

L'examen des individus après traitement montre des aberrations morphologiques variées chez les larves de *Drosophila melanogaster* et les pupes et les adultes et les œufs de *Culiseta longiareolata*: On note un blocage de l'exuviation nymphale et imaginale qui se manifeste par une incapacité totale ou partielle des larves L1 à se dégager correctement des exuvies. De plus, d'autres malformations se manifestent, telles que malformation des deux ailes ainsi que la réduction de leur taille et la réduction de la taille des pupes et des œufs.

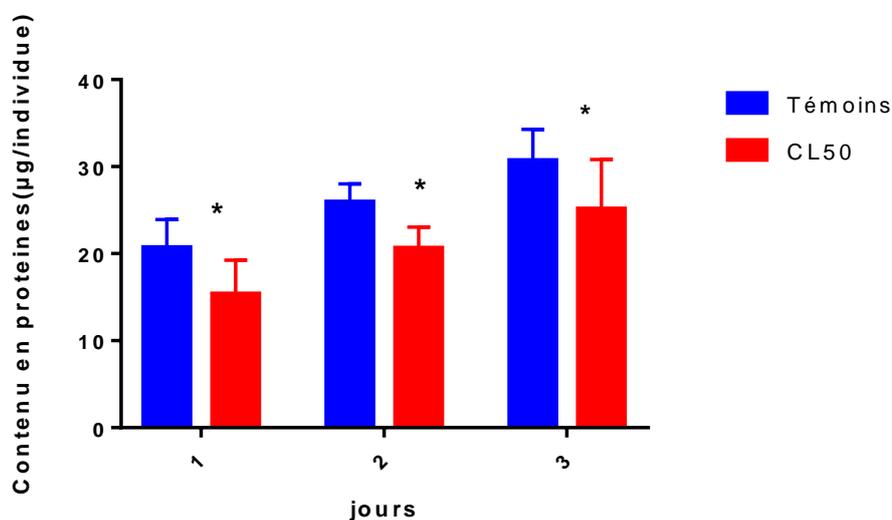


**Figure 15.** Anomalies morphologiques chez les larves, les pupes et les adultes de *Drosophila melanogaster* et les œufs de *Culiseta longiareolata*.

### 3.5. Effet sur la biochimie

#### 3.5.1. Effet sur le contenu en protéines chez les larves L3 de *Drosophila melanogaster*

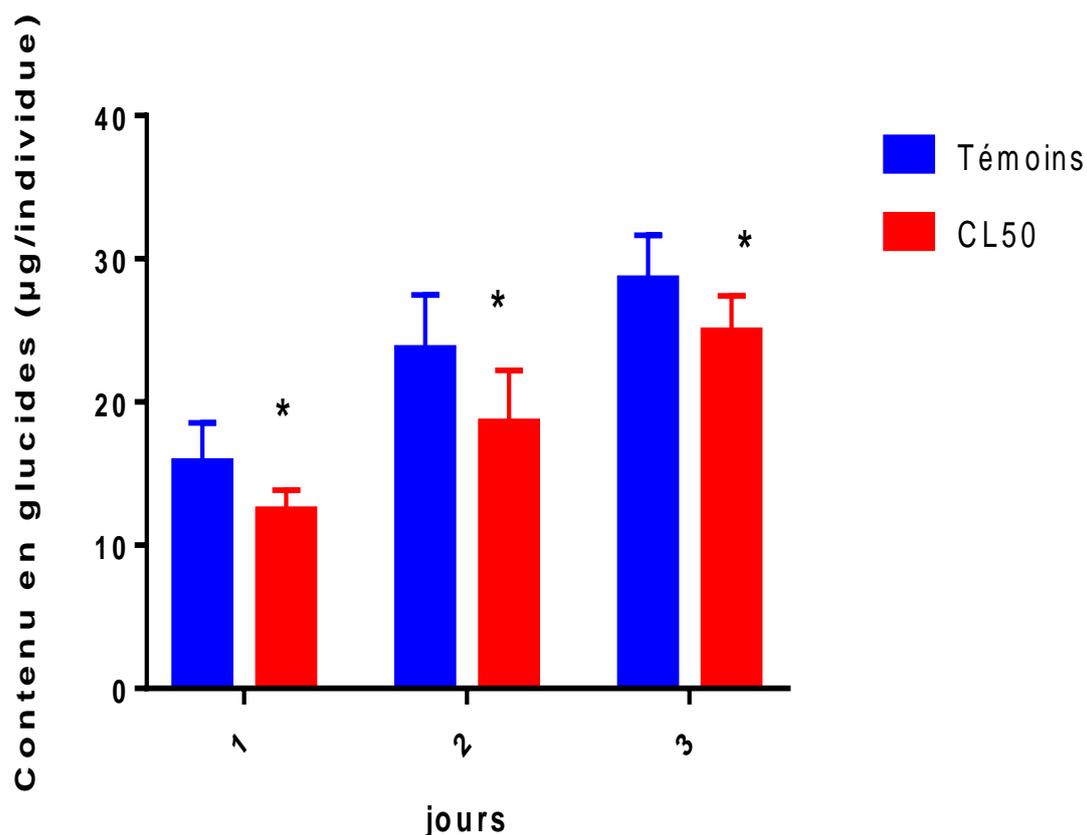
Le contenu en protéines ( $\mu\text{g/larve}$ ) chez *Drosophila melanogaster* augmente significativement pendant les périodes testés (24h, 48h, 72h) pour les séries témoins et traitées. La comparaison entre les deux séries pour la même période, montre une diminution significative de ce contenu chez les larves L3 de *Drosophila melanogaster* 1jour ( $p=0,044$ ), 2 jours ( $p=0,041$ ) et 3 jours ( $p=0,036$ )



**Figure 16.** Effet des huiles essentielles de *Ruta graveolens* (CL50), sur le contenu en protéines ( $\mu\text{g/individu}$ ) chez les larves L3 de *Drosophila melanogaster* ( $m \pm SD$  ;  $n = 3$  répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative ( $p < 0.05$ ).

#### 3.5.2. Effet sur le contenu en glucides chez les larves L3 de *Drosophila melanogaster*

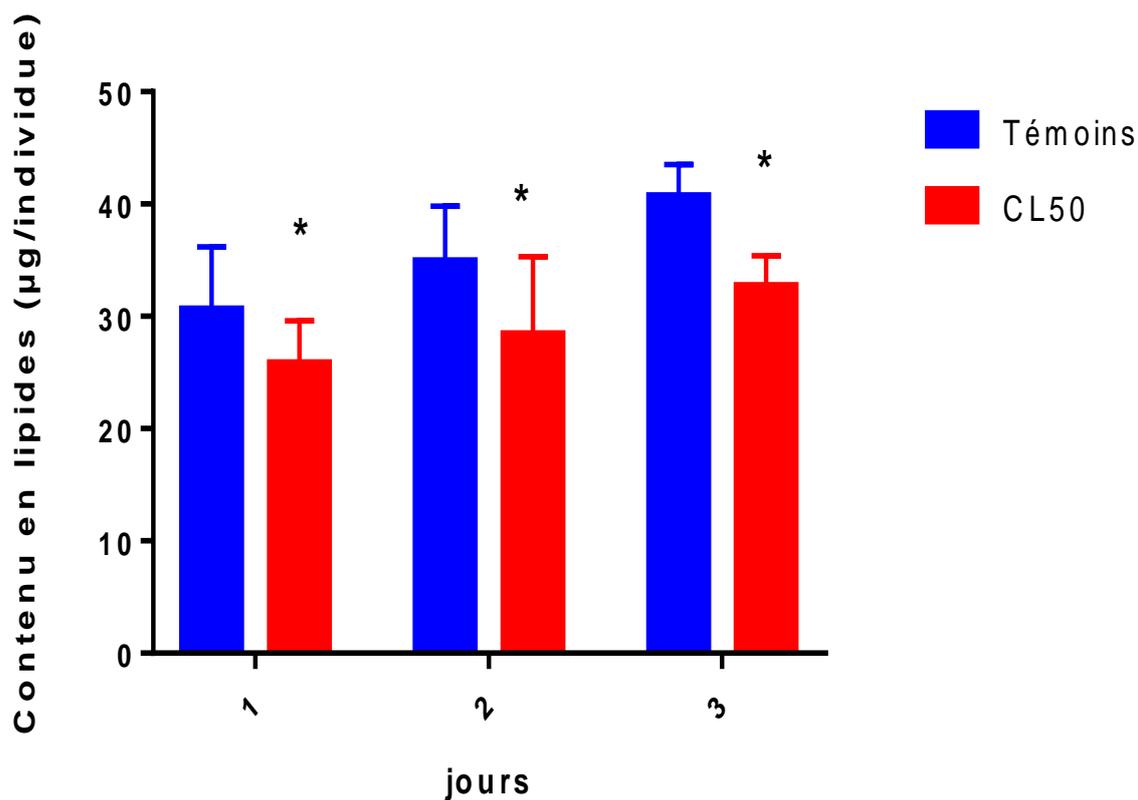
Les résultats obtenus montrent une augmentation significative du contenu en glucides ( $\mu\text{g/larve}$ ) de 24h à 72h pour les deux séries et chez les deux espèces. La comparaison des deux séries pour la même période montre que le contenu de ce métabolite marque une diminution significative au cours 1jour ( $p = 0,032$ ), 2 jours ( $p = 0,028$ ) et 3 jours ( $p = 0.032$ ).



**Figure 17.** Effet des huiles essentielles de *Ruta graveolens* (CL50), sur le contenu en glucides ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves L3 de *Drosophila melanogaster* ( $m \pm SD$  ;  $n = 3$  répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative ( $p < 0.05$ ).

### 3.5.3. Effet sur le contenu en lipides chez les larves L3 de *Drosophila melanogaster*

Le contenu en lipides ( $\mu\text{g}/\text{larve}$ ) chez les larves L3 de *Drosophila melanogaster* augmente de 24h à 72h aussi bien dans la série témoin que la série traitée. En comparant les deux séries, on constate que l'huile essentielle de *Ruta graveolens* diminue significativement le contenu en lipides durant tous les périodes testés, ( $p=0,018$ ) au cours du 1jour, ( $p=0,023$ ) au cours du 2jours, ( $p=0,032$ ) au cours du 3 jours.



**Figure 18.** Effet des huiles essentielles de *Ruta graveolens* (CL50), sur le contenu en lipide (µg/individu) chez les larves L3 de *Drosophila melanogaster* ( $m \pm SD$  ;  $n = 3$  répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative ( $p < 0.05$ ).

**DISCUSSION**

## 4. Discussion

### 4.1. Rendement en huiles essentielles

Les huiles essentielles peuvent être stockées dans tous les organes végétaux: feuilles, fleurs, écorces, racines, rhizomes, fruits et graines (**Hernandez Ochoa, 2005**). Le rendement en huile essentielle extraite de *Ruta graveolens* est **0.81±0.10%** de la matière sèche de la partie aérienne de la plante. Celles-ci les résultats sont supérieurs à ceux rapportés à Annaba situé dans l'est Algérie (0,18±0,01%) par (**Haddouchi et al. 2013**). Cette différence de le rendement pourrait être dû à une différence de conditions climatiques entre les deux sites et la période de récolte (**Ndomo et al., 2009**). Le même R. La plante graveolens a été récoltée en Italie a un rendement de 0,74% (**De Feo et al., 2002**) et un rendement variant entre 0,30 % et 0,10 % signalé dans la région de Jemmel en Tunisie (**Ben Hadj Fredj et al., 2007**).

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

La relation concentration-réponse a été déterminée pour l'huile de *Ruta graveolens* appliquée aux larves L3 de *D. melanogaster* et les œufs de *Culiseta longiareolata*. La mortalité a été notée après 24h, 48h et 72h et pour les œufs de *Culiseta longiareolata* après 48 h. Les témoins positifs n'ont montré aucun effet de solvant acétone contre larves L3 de *D. melanogaster* et les œufs de *Culiseta longiareolata*, les résultats montrent une activité larvicide de l'huile essentielle appliquée avec une concentration-relation de réponse.

Plusieurs travaux ont montré les propriétés larvicides de certaines huiles essentielles. L'étude de (**Tabanca et al. 2012**) montre que la l'huile essentielle de *Ruta graveolens* avait une DL50 de 21,25 (19,6 à 23,7) ppm et une DL90 de 34,35 (30,3 à 41,1) ppm un effet toxique contre les larves d'*A. aegypti*. De plus, (**Boutoumi et al. 2009**) ont également montré que l'huile essentielle *Ruta montana* avait une activité larvicide sur le Larves de *Culex pipiens* pour une dose de 1,6% de l'extrait, les pourcentages de mortalité étaient de 99% pour les moustiques *Culex pipiens* après 30 min. Les travaux de (**Dris et al. 2017**), montre que l'huile essentielle de *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae) a un effet larvicide sur les larves de moustiques, les valeurs CL50 et CL90 par rapport aux larves du quatrième stade étaient de 77,09 et 104,45 ppm pour le *Cs. longiareolata* et 113,38 et 150,38 ppm pour *Cx. pipiens*. De plus, (**Tchoumboungang et al. 2009**) ont rapporté que le les huiles essentielles de quatre plantes possèdent des propriétés larvicides, car elles pourraient induisent une mortalité de 100 % chez les larves d'*A. gambiae* à une concentration de 100 ppm pour *C. citratus*, 200 ppm avec *T. vulgaris*, 350 ppm pour *O. gratissimum* et 400 ppm pour *O. canum*. Les travaux de (**Bouabida & Dris, 2020**) que la même plante a un effet arvicidel pour l'espèce *Cs. Longiareolata*.

### 4.2. Effet de l'HE de *Ruta graveolens* sur la composition biochimique du corps

Les protéines, les glucides et les lipides ont été estimés dans le corps entier des larves L3 de

*D. melanogaster*. L'application de la concentration létale (CL50) à 24 h = ;;;;;;; de l' HE de *Ruta graveolens*.

Les niveaux de protéines ont été affectés par le traitement (CL50) de Huile essentielle de *Ruta graveolens* et provoque une réduction significative à 24 h par rapport à la série témoin. Concernant les niveaux de glucides, une diminution significative a été observée avec la CL50 testées à 24 h ( $p = 0,012$ ) et 48 h ( $p=0,010$ ) et à 72 h ( $p=0,021$ ). Pour terminer, la teneur en lipides était également significativement réduite chez les traités à 24 h ( $p=0,033$ ) et 48 h ( $p=0,040$ ) et à 72 h ( $p=0,023$ ) respectivement par rapport au témoin. La présente étude indique qu'en raison de l'exposition à l'huile essentielle de *Ruta graveolens* les constituants biochimiques ont été réduits. La diminution des niveaux de protéines peut être due à l'adaptation de l'insecte pour compenser le stress causé par les insecticides (**Zamani et al., 2010**). Une autre raison possible pour laquelle les animaux ont besoin d'un beaucoup d'énergie pour surmonter la situation de stress et ce besoin de l'énergie peut avoir conduit à la simulation du catabolisme des protéines (**Ribeiro et al., 2001**). Une diminution similaire de la teneur en protéines a également été observé par (**Tarigan et al. 2016**) ont découvert que la cardamome, la cannelle et l'HE de muscade réduisent les niveaux de protéines, de glucides et de lipides dans *Tribolium castaneum* et *Callosobruchus maculatus*.

Les réserves de lipides et de glucides sont également affectées par les plantes huiles essentielles. Ces deux réserves jouent un rôle important lors de la stade larvaire, car libère la haute énergie nécessaire à la métamorphose (**Saket et al., 2006**). Des résultats similaires montrent une réduction des lipides et taux de glucides chez les larves de *G. pyloalis* traitées avec *A. annua* (**Khosravi et al., 2010**).

**CONCLUSION**

## **5. Conclusion**

Ces dernières années, la législation est devenue plus stricte, lors de l'application de pesticides synthétiques, la recherche de pesticides végétaux en fait partie des stratégies pouvant satisfaire à la fois les besoins des consommateurs et les besoins des consommateurs alentours.

Ce modeste travail de recherche vise à promouvoir les plantes aromatiques utilisé dans les médicaments algériens.

L'HE de *Ruta graveolens* présentent un rendement de **0,81±0,10%** de la matière sèche de la partie aérienne.

Cette HE est été testé sur les larves L3 de *D. melanogaster* et les œufs d'une espèce de moustiques d'importance vétérinaire *Culiseta longiareolata*. Leur action est été évaluée sur plusieurs aspects : Toxicologique, biochimiques.

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations létales (CL25, CL50 et CL90=) de l'huile extraite de *Ruta graveolens* sur les larves L3 de *D. melanogaster* pendant trois périodes testées (24h, 48h et 72h).

L'HE extraite de *Ruta graveolens*, affectent les réserves énergétiques des larves L3 de *D. melanogaster*. Les résultats révèlent une diminution significative du contenu en protéines, glucides et lipides chez les individus étudiés.

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* est une alternative intéressante pour lutter contre les larves L3 de *D. melanogaster* et les œufs d'une espèce de moustiques *Culiseta longiareolata*. Ce résultat ouvre des perspectives intéressantes pour son application dans la production du bio pesticide. L'HE montre une activité insecticide avec une relation concentration – réponse. Nous envisageons de poursuivre cette étude afin de préciser la nature des composés responsable de cette activité par fractionnement mené en parallèle avec les tests biologiques. La voie donc reste ouverte vers la découverte de nouvelles plantes et par la suite de nouvelles molécules à effet phytosanitaire. Il serait très important d'étendre les investigations à d'autre espèce des plantes pour voir l'effet de ces bios pesticides sur d'autres insectes nuisibles.

REFERENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES

## Références bibliographiques

-A-

**Abolaji, A. O., Kamdem, J. P., Farombi, E. O. & Rocha J. B. T.** (2013). *Drosophila melanogaster* as a Promising Model Organism in Toxicological Studies. *Arch. Bas. App. Med* [En ligne]. 33 - 38.

**Ahmad Malik, A., Mir, S. R. & Ahmad, J.** (2013). *Ruta graveolens* L. Essential Oil Composition under Different Nutritional Treatments. *Middle-East Journal of Scientific Research* [En ligne]. 17 (7): 885-890. DOI: 10.5829/idosi.mejsr.2013.17.07.12231

**Aleixo de Carvalho, L. S., Sales Queiroz, L., José Alves Junior, I., Chagas Almeida, A.D., Soares Coimbra, E., Pinto, P. F., Nascimento da Silva, M. P., De Moraes, J. & Da Silva Filho, A. A.** (2019). *In Vitro* Schistosomicidal Activity of the Alkaloid-Rich Fraction from *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) and Its Characterization by UPLC-QTOF-MS. *Evid Based Complement Alternat Med.* [En ligne]. 7909137. doi: 10.1155/2019/7909137

**Allocca, M., Zola, S. & Bellosta, P.** (2018). The Fruit Fly, *Drosophila melanogaster*: The Making of a Model (Part I). *intechopen* [En ligne]. 72832.113-130. <http://dx.doi.org/10.5772/intechopen>.

**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* [En ligne]. 10 (2). 67 – 71.

**Asgarpanah, J.,** (2012). Phytochemistry and pharmacological properties of *Ruta graveolens* L. *Journal of Medicinal Plants Research* [En ligne]. Vol. 6(23), pp.3942-3949. <http://www.academicjournals.org/JMPR>

**Attou, A.** (2011). Contribution à l'étude phytochimique et activités biologiques des extraits de la plante *Ruta chalepensis* (Fidjel) de la région d'Ain Témouchent [En ligne]. Mémoire de Magister en biologie, option de Produits naturels: Activités biologiques et synthèses. Université de Abou Beker Belkaid Tlemcen. 3p, 43p.

**Azzouz, S. & Halib, S.** (2017). Inventaire de la faune culcidiene dans les palmeraies de la région de Bou Saâda, des essais de lutte [En ligne]. Mémoire du diplôme de Master Académique, Option de Ecologie des écosystèmes aquatique. Université Mohamed Boudiaf - M'Sila. 26-28p.

-B-

**Belaid, A. & Bellil, H. N.** (2017). Propriétés antioxydantes et anti-inflammatoires des polyphénols de la rue fétide *Ruta graveolens* [En ligne]. Mémoire du diplôme de Master Académique ,spécialité de Nutrition et santé. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. 4p, 11p.

**Benkiki, N.** (2006). Etude phytochimique des plantes médicinales algériennes: *Ruta montana*, *Matricaria pubescens* et *hypericum perforatum* [En ligne]. Thèse de Doctorat En chimie. Université El hadj Lakhdar Batna. 12p.

**Boudemagh, N., Bendali-Saoudi, F. & Soltani, N.** (2018). Morphometry of three mosquito species vectors of West Nile *Culiseta longiareolata* Macquart 1838, *Culiseta subochrea* Edwards 1921 and *Culiseta glaphyoptera* Schiner 1864 collected at Collo (Northeast Algeria). International Journal of Mosquito Research [En ligne]. 5(1): 12-18.

**Bouderhem, A.** (2015). Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*) [En ligne]. Mémoire du diplôme de Master Académique, Filière de Sciences biologiques, Spécialité de Biochimie appliquée. Université Echahid Hamma Lakhdar D'El-Oued. 1-16p.

**Boumediene, N. & Agha, O.** (2014). Contribution à l'étude de l'activité biologique d'une espèce du genre *Ruta* de Djebel Tessala (Algérie occidentale) et à la faisabilité d'un Plan de conservation [En ligne]. Mémoire du diplôme de Master II, option de Amélioration de la Production Végétale. Université de Abou Beker Belkaid Tlemcen. 30p.

**Bourdet, I.** (2014). La Drosophile comme modèle pour l'étude de la maladie d'Alzheimer : rôle de la protéine précurseur Amyloïde dans la mémoire olfactive [En ligne]. Thèse de Doctorat, spécialité de Neurosciences. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, Français. NNT : 2014PA066256. 73p.

**Bradford, M. M.** (1976). A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding. *Analytic. Biochem.*, **72**: 248 - 254

-C-

**Cetin, H., Tufan-Cetin, O., Turk, A.O., Tay, T., Candan, M., Yanikoglu, A. & Sumbul, H.** (2012). Larvicidal activity of some secondary lichen metabolites against the mosquito *Culiseta longiareolata* Macquart (Diptera: Culicidae), *Natural Product Research: Formerly Natural Product Letters* [En ligne]. 26:4, 350-355. <http://dx.doi.org/10.1080/14786411003774296>

**Chaabane, M.** (2016). Evaluation des effets du Spinosad chez un modèle fondamental de recherche *Drosophila melanogaster* (Diptera: Drosophilidae): Toxicité, biomarqueurs enzymatiques, métabolisme et reproduction [En ligne]. Thèse de Doctorat, spécialité de Biologie Animale. Université Badji Mokhtar Annaba. 12p.

-D-

**Dahchar, Z.** (2017). Inventaire des Culicidae de la région Ouest de la ville d'Annaba. Etude bio-écologique, systématique des espèces les plus abondantes. Lutte biologique anti larvaire par les extraits aqueux de quelques plantes (Médicinales et toxiques) et le *Bacillus thuringiensis israelensis* H14 [En ligne]. Thèse de Doctorat en Biologie, Option de Ecologie Animale. Université Badji Mokhtar Annaba. 1-24p.

**Doerper, S.,** (2008). Modification de la synthèse des furocoumarines chez *Ruta graveolens* L. par une approche de génie métabolique [En ligne]. Thèse, spécialité En Sciences Agronomiques. Université de Lorraine. 32-34p.

**Duchateau, G. & Florkin, M.** (1959). Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem.*, **67**: 306-314.

-E-

**Elbah, D.** (2017). Etude de deux modèles d'insectes nuisibles coloniaux des milieux urbains : *Blattella germanica* (L.) et *Drosophila melanogaster* : Aspect toxicologique et comportemental [En ligne]. Thèse de Doctorat en Neurosciences. Université de Badji Mokhtar Annaba. 1p, 9p.

**El haib, A.** (2011). Valorisation de terpènes naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques [En ligne]. Thèse de Doctorat, spécialité de Chimie organique et catalyse. Université Toulouse III - Paul Sabatier. 9p.

**Esseid, E. R. C.** (2018). Isolement et détermination structurale de métabolites secondaires de plantes sahariennes - activités biologiques [En ligne]. Thèse de Doctorat de troisième cycle (LMD), Spécialité de Chimie Organique, Option de Analyses Physicochimiques, Contrôle de la Qualité et Synthèse de Substances Bioactives. Université Frères Mentouri Constantine 1. 46p, 314p.

-F-

**Foughali, B. M. & Mekerbi, K.** (2015). Effet du spinosad sur la fécondité et la fertilité de la *Drosophila melanogaster* (meigen ,1830) [En ligne]. Mémoire du diplôme de Master Académique, Spécialité de Biologie, Evolution et Contrôle de Population d’Insectes. Université des Frères Mentouri Constantine. 7p, 12p.

-G-

**Goldsworthy, A. C., Mordue, W. et Guthkelch, J.** (1972). Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18**: 306-314

**González, M. A., Prosser, S. W., Hernández-Triana, L. M., Alarcón-Elbal, P. M., Sergio López, F. G., Ruiz-Arrondo, I., Hebert, P. D. N. & García-Pérez, A. L.** (2020). Avian Feeding Preferences of *Culex pipiens* and *Culiseta* spp. Along an Urban-to-Wild Gradient in Northern Spain. *Frontiers in Ecology and Evolution* [En ligne]. Volume 8, doi: 10.3389/fevo.2020.568835

**Grillet, M.** (2009). Implication des signaux sensoriels dans la réceptivité sexuelle de la femelle *Drosophila melanogaster* : cas d’isolement reproducteur chez des populations du Zimbabwe [En ligne]. Thèse de Doctorat, spécialité de Biologie Animale. Université de Bourgogne. 13p.

-H-

**Habbachi, W., BENHISSEN, S., OUAkid, M. L. & FARINE J. P.** (2013). EFFETS BIOLOGIQUES D'EXTRAITS AQUEUX DE *Peganum harmala* (L.) (ZYGOPHYLLACEAE) SUR LA MORTALITÉ ET LE DÉVELOPPEMENT LARVAIRE

DE *Drosophila melanogaster* (DIPTERA-DROSOPHILIDAE). *Algerian journal of arid environment* [En ligne]. vol. 3, n° 1: 82-88.

**Hales, K. G., Korey, C. A., Larracuente, A. M. & Roberts, D. M.** (2015). Genetics on the Fly: A Primer on the *Drosophila* Model System. *Genetics* [En ligne]. Vol. 201, 815–842. doi: 10.1534/genetics.115.183392.

**Hamaidia, H. & Berchi, S.** (2018). Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Souk-Ahras (Algérie). *Entomologie Faunistique – Faunistic Entomology* [En ligne]. 71.

**Hazratian, T., Paksa, A., Sedaghat, M. M., Vatandoost, H., Moosa-Kazemi, S. H., Sanei-Dehkordi, A., Salim-Abadi, Y., Pirmohammadi, M., Yousefi, S., Amin, M. & Oshaghi, M. A.** (2019). Baseline Susceptibility of *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae) to Different Imagicides, in Eastern Azerbaijan, Iran. *J Arthropod-Borne Dis* [En ligne]. 13(4): 407–415. <http://jad.tums.ac.ir>

-I-

**Iserin, P.** (2001). *Encyclopédie des Plantes Médicinales*. 2<sup>ème</sup> édition. Belge. 264-265p.

-K-

**Khaligh, F. G., Naghian, A., Soltanbeiglou, S. & Gholizadeh, S.** (2020). Autogeny in *Culiseta longiareolata* (Culicidae: Diptera) mosquitoes in laboratory conditions in Iran. *BMC Research Notes* [En ligne]. 5(1).

**Kissoum, N.** (2016). Activité du Spiromesifen en application topique sur la reproduction de *Drosophila melanogaster* (Diptera): effet stade et sexe [En ligne]. Thèse de Doctorat, spécialité de Physiotoxicologie Animale. Université Badji Mokhtar Annaba. 6p.

**Kissoum, N. & Soltani, N.** (2016). Spiromesifen, an insecticide inhibitor of lipid synthesis, affects the amounts of carbohydrates, glycogen and the activity of lactate dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*. *JOURNAL OF ENTOMOLOGY AND ZOOLOGY STUDIES* [En ligne]. 4(1): 452-456.

-L-

**Lakhdar, L.** (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*: Etude in vitro [En ligne]. Thèse de Doctorat,

Formation doctorale de Sciences Odontologiques. Université Mohammed V de Rabat. 26p,30p.

**Laturney, M. & Billeter, J. C.** (2014). Neurogenetics of Female Reproductive Behaviors in *Drosophila melanogaster*. *Advances in Genetics* [En ligne]. Volume 85. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-800271-1.00001-9>

**Lemaitre, B. & Miguel-Aliaga, I.** (2013). The digestive tract of *Drosophila melanogaster*. *Annual Review of Genetics* [En ligne]. 47, 377–404. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-111212-133343>.

-M-

**Mahmoud, A. M., Ahmed, R. R., Soliman, H. A. & Salah, M.** (2015). *Ruta graveolens* and its active constituent rutin protect against diethylnitrosamine-induced nephrotoxicity through modulation of oxidative stress. *Journal of Applied Pharmaceutical Science* [En ligne]. Vol. 5 (10), pp. 016-021.

**Malik, S., Coutinho Moraes, D. F., Mendonça do Amaral, F. M. & Sousa Ribeiro M. N.** (2017). *Ruta graveolens*: Phytochemistry, Pharmacology, and Biotechnology. Springer International Publishing Switzerland [En ligne]. 177-204. DOI 10.1007/978-3-319-28669-3\_4.

**Mancuso, G., Borgonovo, G., Scaglioni, L. & Bassoli, A.** (2015). Phytochemicals from *Ruta graveolens* Activate TAS2R Bitter Taste Receptors and TRP Channels Involved in Gustation and Nociception. *Molecules* [En ligne]. 18907-18922. doi:10.3390/molecules201018907.

**Merabti, B., Boumaaza, M., Lebbouz, I., Ouakid, M. I.** (2020). First record of the avian malaria vector *Cs. longiareolata* (Diptera: Culicidae) for the Southeast of Algeria. *J. Appl. Biosci* [En ligne]. 154: 15842 - 15861. <https://doi.org/10.35759/JABs.154.2>

**Mullan, A. & Marsh, A.** (2019). Advantages of using *Drosophila Melanogaster* as a Model Organism. *Learning centre* [En ligne]. OXFORD INSTRUMENTS. 1(3).

-N-

**Nabti, I. & Bounechada, M.** (2019). Larvicidal Activities of Essential Oils Extracted from Five Algerian Medicinal Plants against *Culiseta longiareolata* Macquart. *Larvae* (Diptera: Culicidae). *Eur J Biol* [En ligne]. 78(2). DOI: 10.26650/EurJBiol.2019.0015.

**Nowicki, J.** (2019). Les dangers de l'utilisation abusive des huiles essentielles [En ligne]. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Lille 2, Faculté de Pharmacie de Lille. 20p.

-O-

**O'Grady P.M.**, (2003). *Drosophila melanogaster*. In : Resh V.H., Cardé R.T. *Encyclopedia of insects* [En ligne]. Ed., Academic Press, San Diego, USA. 345-348 p.

-P-

**Pagès, J. C.** Comité scientifique du HCB (2017). Avis du Comité scientifique du Haut Conseil des biotechnologies concernant l'utilisation de moustiques génétiquement modifiés dans le cadre de la lutte antivectorielle en réponse à la saisine du 12 octobre 2015 (Réf. HCB-2017.06.07) [En ligne]. (Paris, HCB), 150p. Disponible sur <http://www.hautconseildesbiotechnologies.fr>.

**Parray, S. A., Bhat, J., Ahmad, G., Jahan, N., Sofi, G., Faisal Iqbal, S. M.** (2012). *Ruta graveolens*: from Traditional System of Medicine to Modern Pharmacology: an Overview. American Journal of PharmTech Research [En ligne]. 22(2). 2249-3387. [www.ajptr.com](http://www.ajptr.com)

**Parvathi, D. V., Amritha, A. S., FD Paul, S.** (2009). WONDER ANIMAL MODEL FOR GENETIC STUDIES - *Drosophila Melanogaster* –ITS LIFE CYCLE AND BREEDING METHODS – A REVIEW. Journal of Medicine [En ligne]. Vol. II, Issue 2.

**Pavić, V., Flašcer, D., Jakovljević, M., Molnar, M. & Jokić, S.** (2019). Assessment of Total Phenolic Content, In Vitro Antioxidant and Antibacterial Activity of *Ruta graveolens* L. Extracts Obtained by Choline Chloride Based Natural Deep Eutectic Solvents. *Plants* [En ligne]. 9(2). 8, 69; doi:10.3390/plants8030069

**Perveen, F. K.** (2018). Introduction to *Drosophila*. *Drosophila melanogaster* - Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics [En ligne]. 12. <http://dx.doi.org/10.5772/67731>

**Poupardin, R.** (2011). Interactions gènes-environnement chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides [En ligne]. Thèse de Doctorat, Spécialité de Biodiversité, Ecologie et Environnement. Université de Grenoble. 6p.

-R-

**Ramade, F.** (2003). *Éléments d'écologie fondamentale*, 3<sup>ème</sup> édition DUNOD, Paris ,690p.

-S-

**Schaerlinger, B.** (2004). Rôle de la sérotonine dans le développement embryonnaire précoce de *Drosophila melanogaster* : Etude d'un mutant ponctuel du récepteur 5-HT2Dro [En ligne]. Thèse de Doctorat, Mention Biologie Moléculaire et Cellulaire. Université Louis Pasteur de STRASBOURG.

**Sellami, A. C.** (2010). ROLES FONCTIONNELS DE NEUROPEPTIDES CHEZ *Drosophila melanogaster* : DEVELOPPEMENT D'OUTILS GENETIQUES ET EXEMPLES D'ETUDES PHYSIOLOGIQUE ET COMPORTEMENTALE [En ligne]. Thèse de Doctorat, spécialité de NEUROSCIENCES. Université de Bordeaux I. 25p.

**Shibko, S., Koivistoinen, P., Tratnyeck, C., New Hall, & Feidman, L.** (1966). A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, **19**: 415-528

**Sujit, K.** (2014). Study on history fitness and life cycle of drosophila (*Drosophila melanogaster*). Journal of Entomology and Zoology Studies [En ligne]. 2(1): 123-129. [www.entomoljournal.com](http://www.entomoljournal.com)

-V-

**Vaufrey, L.** (2017). Étude du rôle de la kinase Aurora-A dans le développement de la larve et du cerveau de *Drosophila melanogaster* [En ligne]. Thèse de Doctorat, *Mention de Biologie*. Université de Rennes 1. 30p, 31p.

**Vos, M. & Klein, C.** (2021). The Importance of *Drosophila melanogaster* Research to UnCover Cellular Pathways Underlying Parkinson's Disease. *Cells* [En ligne]. *10*, 579. <https://doi.org/10.3390/cells10030579>

-W-

**Wilson, T.G.** (1988). A correlation between juvenile hormone deficiency and vitellongenicoocyte degeneration in *Drosophila melanogaster*. *Rousc's Arch.Dev.Biol* [En ligne]. **191** : 257-263.

-Z-

**Zittra, C., Waringer, J., Werblow, A., Melaun, C. & Fuehrer, H. P.** (2014). Reconfirmation of *Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata* (Macquart 1838) (Diptera: Culicidae) in Austria. The first sequence-confirmed findings in northeastern Austria. Acta ZooBot Austria [En ligne]. **150/151**. 17–24.