



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université 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: Science de la nature et de la vie.

Filière : Sciences Biologiques

Option : Biochimie appliquée

Thème :

Effet pupicide de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* chez deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*

Présentées par :

M^{elle} Salmi Randa

M^{elle} Maifi Mehania

Dr. DRIS Djemaa

MCB Université de Tébessa

Présidente

Dr. BOUABID Hayette

MCA Université de Tébessa

Rapporteuse

M. HAMIRI Manel

MAA Université de Tébessa

Examinatrice

Date de soutenance: Le 06 juin 2021

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال تعالى : { إِنَّ اللَّهَ لَا يَسْتَحْيِي أَنْ يَضْرِبَ
مَثَلًا مَّا بَعُوضَةً فَمَا فَوْقَهَا فَأَمَّا الَّذِينَ آمَنُوا
فَيَعْلَمُونَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّهِمْ وَأَمَّا الَّذِينَ
كَفَرُوا فَيَقُولُونَ مَاذَا أَرَادَ اللَّهُ بِهَذَا مَثَلًا
يُضِلُّ بِهِ كَثِيرًا وَيَهْدِي بِهِ كَثِيرًا وَمَا يُضِلُّ
بِهِ إِلَّا الضَّالِّينَ }

سورة البقرة آية (26)



Dédicaces

Après un remerciement sincère au Dieu.

De profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

A ma chère famille...

Mon très chère père Abdellah, modèle de force et de persévérance, qui a cru en moi et m'a toujours encouragé. Tout mon respect et toute ma gratitude pour votre soutien et votre encouragement durant toute ma vie et mes années d'études

À

Ma chère mère en témoignage de l'amour, et de l'affection que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, et de santé.

À

Mes sœurs : Samia , Samra , Sihem , Salma, Warda . En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège.

Mes frères : Oussama , Brahim , Bachir .

À

Mon cher adorable marie Hamza , tes sacrifices, ton soutien moral, ta gentillesse sans égal, ton profond attachement m'ont permis de réussir mes études.

À

Mes chères amies : Mehania ,Hadjer, Roumaïssa , Gamra ,Houda,Khaira , Chaima

A tous mes nièces : Razoka,Nour,Ishak,Ayoub,Rahma,Israa,Khalil

"M^{elle} salmi randa "

Dédicaces

Après un remerciement sincère au Dieu.

De profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers.

A ma chère famille...

Mon très chère père Saleh modèle de force et de persévérance, qui a cru en moi et m'a toujours encouragé. Tout mon respect et toute ma gratitude pour votre soutien et votre encouragement durant toute ma vie et mes années d'études

Ma chère mère Djamila en témoignage de l'amour, et de l'affection que je porte pour vous. Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur, et de santé.

Mes sœurs : Hafsia , Fatima , Nadia , Hakima , Faiza . En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège.

Mes frères : Nadjm eldine , Amara .

Mes chères amies : Randa ,Hadjer, Houda , Gamra ,Alima , Aya, Khadija , Hakim , Abdelkader

Mes chéries : Mouatez , khouloud , Assomi,Iline , Soujoud, Batoul

"Melle maifi mehania "



Remerciements

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

*Ce travail a été effectué au laboratoire de l'université de Tébessa, nous remercions vivement **Mme Djemaa Dris** pour d'avoir accepté de présider ce jury.*

*Nous tenons tous particulièrement à exprimer notre plus vifs remerciements et notre profonde gratitude à **Mme Bouabida Hayette**, enseignante à l'université de Tébessa, qui nous avons fais l'honneur d'assurer notre encadrement et qui a su faire preuve de patience, d'indulgence et de compréhension tout au long de ce travail.*

***Mme Hamiri Manel** pour l'immense privilège qu'elle nous fais en acceptant d'examiner ce travail.*

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





Résumé



Abstract

This study aims to study the effect of essential oils extracted from *Ruta graveolens* on with regard to two species of mosquito (*Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*), the most abundant in the Tébessa region.

Essential oils obtained by hydro-distillation of the species *Ruta graveolens*.

The yield of the extractions showed a high content of essential oils. As for the *Ruta graveolens* species, they are moderately rich in essential oil with a yield of $1.440 \pm 0.372\%$.

The work carried out to assess the pupicidal potential of *Ruta graveolens* allowed us to determine:

-The toxicological aspect

After the treatment of the pupae with different concentrations, the results obtained show an interesting pupicidal potential of the essential oil studied with regard to the pupae of *Cx pipiens* and *Cs longiareolata* respectively (24.99,18.57)

-Effect of lethal concentration CL 50 on the biochemical composition (carbohydrate, protein, lipid) shows a significant decrease in this content in *Culex pipiens* and *culiseta longiareolata* and there is a significant increase for catalase

Key words: *Culex pipiens*, *culiseta longiareolata*, *Ruta graveolens*, essential oil

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى دراسة تأثير الزيوت العطرية المستخرجة من نبات الفيجل (*Ruta graveolens*) علي نوعين من البعوض (*Culex pipiens* و *Culiseta longiareolata*) الأكثر وفرة في منطقة تبسة

Ruta graveolens. الزيوت الأساسية التي يتم الحصول عليها عن طريق التقطير المائي الأنواع

أظهرت عائد الاستخراج، أنها غنية بشكل معتدل بالزيت العطري بعائد $0.372 \pm 1.440\%$

حدد العمل المنجز لتقييم احتمالية قتل الفيجل .

الجانب السمي

بعد معالجة الشرانق بتركيزات مختلفة ، أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها إمكانات مثيرة للاهتمام

لتبييض العذارى للزيت العطري المدروس فيما يتعلق بالشرانق *Culex pipiens et culiseta*

longiareolata علي التوالي (24.99.18.57)

تأثير التركيز المميت CL 5 ي على التركيب البيوكيميائي (كربوهيدرات ، بروتين ، دهون) يظهر انخفاضاً

معنوياً في هذا المحتوى في *Culex pipiens* و *Culiseta longiareolata* وهناك زيادة معنوية في

الكاتلاز

الكلمات المفتاحية : *Ruta graveolens*, الزيوت الأساسية, *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata*,

Résumé

Cette étude vise à étudier l'effet des huiles essentielles extraites de *Ruta graveolens* à l'égard de deux espèces de moustique (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*), les plus abondantes dans la région de Tébessa.

Les huiles essentielles obtenues par hydro-distillation de l'espèce *Ruta graveolens*.

Le rendement des extractions montre une teneur des huiles essentielles importante.

En ce qui concerne l'espèce *Ruta graveolens*, ils sont riches moyennement en huile essentielle avec un rendement $1,440 \pm 0,372 \%$.

Le travail effectué visant à évaluer le potentiel pupicide de *Ruta graveolens* nous a permis de déterminer :

-L'aspect toxicologique

Après le traitement des pupes par différentes concentrations, les résultats obtenus montrent un potentiel pupicide intéressant de l'huile essentielle étudiée à l'égard des pupes de *Cx pipiens* et *Cs longiareolata* respectivement (24.99,18.57)

-Effet des concentrations létales CL 50 sur la composition biochimique (glucose, protéine, lipide) montre une diminution significative de ce contenu chez *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* et on note une augmentation significative pour la catalase.

Mots clés : *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata*, *Ruta graveolens*, huile essentielle

LISTE DES FIGURES

Figure	Titre	Page
01	<i>Culex pipiens</i> adulte	05
02	Description des différentes parties d'un imago	05
03	<i>Culiseta longiareolata</i> male et femelle	07
04	Nacelle de <i>culiseta longiareolata</i>	08
05	larve de <i>Culiseta Longiareolata</i>	09
06	Nymphe de <i>culex pipiens</i>	10
07	Aspect générale d'une nymphe de <i>culex pipiens</i>	10
08	Imago (adulte) de <i>Culex pipiens</i>	10
09	Cycle de développement des moustiques	11
10	Représentation de la plante <i>Ruta graveolens</i>	14
11	Position géographique des plante <i>Ruta graveolens</i> dans région Dokara	20
12	Position géographique des plante <i>Ruta graveolens</i> dans région Ain Zarga	20
13	Etape d'extraction de l'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i>	22
14	Montage de l'hydrodistillateur de type clevenger	23
15	Gite de collecte des larves de <i>Culiseta</i> de la région de Dokara	24
16	Collecte des moustiques de deux espèces de <i>Culiseta et culex</i> de la région de Tébessa	25
17	Identification et séparation des larves selon le stade larvaire	26
18	Schéma récapitulatif des étapes à suivre pour l'élevage des pupes de <i>Culex et Culiseta</i>	27
19	Test de toxicité de l'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> sur les nymphes de <i>Culex et Culiseta</i>	28
20	Les étapes de dosage l'activité du catalase	30
21	Dosage de l'activité du catalase	31
22	Les étapes de dosage des glucides totaux	33
23	Dosage des métabolites primaires	35
24	Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des pupes de <i>Cs longiareolata</i> nouvellement exuvies traitées par différentes concentrations des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i>	38
25	Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des pupes de <i>Cx pipiens</i> nouvellement exuvies traitées par différentes concentrations des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i>	41
26	Effet des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> (CL50), sur le contenu en protéine ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de <i>Culiseta longiareolata</i> ($m \pm SD$;	42

	n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative (p<0.05)	
27	Effet des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> (CL50), sur le contenu en protéine ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de <i>Culex pipiens</i> ($m \pm SD$; n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative (p<0.05)	43
28	Effet des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> (CL50), sur le contenu en glucides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de <i>Cs lo</i> des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens ngiareolata</i> ($m \pm SD$; n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative (p<0.05)	44
29	Effet des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> (CL50), sur le contenu en glucides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de <i>Cx pipiens</i> ($m \pm SD$; n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative (p<0.05)	44
30	Effet des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> (CL50), sur le contenu en lipide ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de <i>Cs longiareolata</i> ($m \pm SD$; n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative (p<0.05)	45
31	Effet des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> (CL50), sur le contenu en lipide ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de <i>Cx pipiens</i> ($m \pm SD$; n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative (p<0.05)	46
32	Effet des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> (CL50), sur l'activité spécifique de la catalase ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de <i>Cs longiareolata</i> ($m \pm SD$; n = 3 répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative (p<0.05).	47
33	Echec de la mue chez <i>Culex pipiens</i>	47
34	Réduction de leur taille des pupes	48

LISTE DES TABLEAUX

Tableau	Titre	Page
01	Liste des espèces de Culicidae inventoriées dans les sites d'étude	05
02	Position systématique de moustiques <i>Cx. pipiens</i>	06
03	Position systématique de moustiques <i>Cs. longiareolata</i>	
04	La position systématique de la plante <i>Ruta graveolens</i>	15
05	Principaux composés des rues	17
06	Liste d'appareils, solvants, solutés, verrerie et autres pour l'expérimentation.	19
07	Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	32
08	Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	34
09	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	34
10	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> (ppm) appliquées sur les pupes de <i>Culiseta longiareolata</i> : Mortalité corrigée % ($m \pm SD$, n = 5 répétitions comportant chacune 25 individus).	36
11	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> (ppm) chez les pupes de <i>Culiseta longiareolata</i> . Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).	37
12	L'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> a été appliquée sur des pupes à concentration létales, CL25, CL50, et la CL90 (qui provoque la mortalité de 25%, 50 %, et 90 % de population ciblée).	37
13	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> (ppm) appliquées sur les pupes de <i>Culex pipien</i> : Mortalité corrigée % ($m \pm SD$, n = 5 répétitions comportant chacune 25 individus).	39
14	Effet d'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> (ppm) chez les pupes de <i>Culex pipien</i> . Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).	40
15	L'huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i> a été appliquée sur des pupes à concentration létales, CL25, CL50, et la CL90 (qui provoque la mortalité de 25%, 50 %, et 90 % de population ciblée).	40

LISTE DES ABREVIATIONS

CL50 : Concentration létale de 50% de la population

Cs : *Culiseta*

Cx : *Culex*

h : Heure

H.E : Huile essentielle

m : Moyenne

n : Nombre de répétition

Pb: Masse en gramme d'huile essentielle

Pa : Masse en gramme de la matière végétale sèche

Ppm: partie par million

R : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage

SD : Ecart type

% : Pourcentage

α : Le seuil de signification du test statistique

L1 :larve de première stade

L2 :larve de deuxième stade

L3 :larve de troisième stade

L4 :larve de quatrième stade

mm : millimètre



Sommaire



SOMMAIRE

Résumé

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Titre	Page
INTRODUCTION	01
PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE	
1.Présentation des espèces des moustiques <i>Culex pipiens</i> et <i>Culiseta longiareolata</i>	03
1.1. Généralité de famille de Culicidae	03
1.2. Présentation de l'insecte <i>Culex pipiens</i>	04
1.3 .Caractéristiques de <i>Culex pipiens</i>	05
1.3.1.Position systématique	06
1.4. Présentation de l'insecte <i>Culiseta longiareolata</i>	06
1.4.1. Position systématique	07
1.5. Cycle de développement de moustique	08
1.5.1. Œuf (nacelle)	08
1.5.2. Larves	08
1.5.3. nymphe (pupe)	09

1.5.4. Adulte (Imago)	10
1.6 Etude éthologique des Culicidés	12
1.6.1 Rôle pathogène	12
1.6.2 Rôle écologique	12
2. Présentation de la plante <i>Ruta graveolens</i>	13
2.1. La famille des Rutacées	13
2.2. Présentation de <i>Ruta graveolens</i>	13
2.2.1. Position systématique	15
2.3. Utilisation de la plante	15
2.3.1. Usage médicinal	15
2.3.2. Usage Culinaire	15
2.3.3 .Usages médicinaux en médecine traditionnelle	16
2.4. Constituants chimiques de la plante	16
2.5. les huiles essentielles	17
2.5.1. Localisation des huile essentiel	17

2.5.2. Rôle des huiles essentielles	18
3. Matériels et méthodes	19
3.1. Appareillage, solvants, solutés, verrerie et autres	19
3.2. Matériel d'origine végétale : huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i>	19
3.2.1. Récolte et séchage de <i>Ruta graveolens</i>	19
3.2.2. Extraction des huiles essentielles par hydro distillation	21
3.2.3. Rendement des huiles essentielles	24
3.2.4. Conservation des huiles essentielles obtenues	24
3.3..Matériel d'origine animal	24
3.3.1. Elevage de deux espèce des moustiques <i>Cs longiareolata</i> et <i>Cx pipiens</i>	24
3.4. Test de toxicité	28
3.5. Dosage de la catalase	29
3.6. Dosage des compositions biochimiques	31
3.6.1. Dosage des glucides totaux	32
3.6.2. Dosage des protéine totale	34
3.6.3. Dosage des lipide totaux	34

4.Résultats	36
4.1. Rendement en huile essentielle de <i>Ruta graveolens</i>	36
4.2. Essais d'insecticide des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> sur les pupes de <i>Culiseta longiareolata</i>	36
4.3. Essais d'insecticide des huiles essentielles de <i>Ruta graveolens</i> sur les pupes de <i>Culex pipiens</i>	38
4.4. Effet sur la biochimie	39
4.4.1. Effet sur le contenu en protéines de <i>Culiseta longiareolata</i> et <i>Culex pipiens</i>	39
4.4.2. Effet sur le contenu en glucides	42
4.4.3. Effet sur le contenu en lipide	45
4.5. Anomalies morphologiques	46
5. Discussion	48
5.1. Rendement en huiles essentielles	48
5.2. Toxicité des huiles essentielles extraites de <i>Ruta graveolens</i>	48
5.3. Anomalies morphologiques	49
5.4. Effet d'HE de <i>Ruta graveolens</i> sur la composition biochimique du corps et de catalase	49



Introduction



INTRODUCTION

Les Arthropodes constituent le groupe taxonomique le plus diversifié, abondant et riche en espèces dans différents habitats terrestres. (Jeanne & Marie, 2019). Ils participent activement à la stabilité de l'écosystème en pollinisant les plantes, en décomposant la matière morte et en servant de base au réseau trophique mémoire (Souadkia & Boudraa, 2019). et jouent un rôle comme bio-indicateur de la qualité de l'environnement (Jeanne & Marie, 2019).

Les moustiques étaient les premiers arthropodes introduit officiellement comme hôtes intermédiaires des parasites vertébrés (Khaligh *et al.*, 2020) plus précisément les insectes de la famille des Culicidae (Diptera : Culicidae), sont présents dans toutes les régions tropicales ou tempérées du monde, y compris bien au-delà du cercle polaire. À ce jour, plus de 3 500 espèces de moustiques sont décrites, (Francis & Bruno, 2020). agissent comme un vecteur pour la plupart des maladies mortelles comme le paludisme, la fièvre jaune, dengue, chikungunya, filariose, encéphalite et infection par le virus du Nil occidental (Dris *et al.*, 2017) .

Ces affections sont particulièrement graves dans les régions en développement des tropiques. Ils provoquer une mort précoce et une débilitation chronique (Foster & Walker, 2019).

Depuis l'antiquité, l'homme a cherché des moyens de protection contre les piqûres d'insectes vectorielles. plusieurs méthodes ont été entreprises dans le monde, comprenant la lutte chimique et la lutte biologique. Les premières stratégies de lutte intégrée sont essentiellement basées sur des matières actives des insecticides appartenant aux familles suivantes : les organophosphorés, les pyrethrinoides de synthèse, les organochlorés et les carbamates de synthèse (Benhissen *et al.*, 2019). Ces produits chimiques ont provoqué une contamination environnementale ainsi que des effets secondaires sur des organismes. De plus, les techniques de lutte contre les moustiques présentent de sérieuses menaces en raison de l'émergence d'une résistance aux insecticides synthétiques largement utilisés. (Dahchar *et al.*, 2016).

La majorité des programmes actuels de lutte contre les moustiques reposent sur l'utilisation de Val insecticides sur les sites de reproduction. En conséquence, les stratégies actives les plus récentes ont été orientées vers de nouveaux produits logiques et extraits naturels efficaces D'origine botanique comme composés puissants pour les larves de moustiques (bouabida & dris, 2020).

Naturellement, les composés botaniques contiennent beaucoup de principes actifs qui peuvent interrompre le cycle de vie des moustiques et réduire les nuisances causées par ceux-ci aux humains. Des travaux ont été menés sur de nombreuses plantes médicinales pour leurs effets insecticides (Abagli & Alavo, 2020).

Notre étude a été consacrée dans un premier chapitre la présentation des espèces des moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*

Le deuxième chapitre est consacré à la présentation de la plante *Ruta graveolens*

Le troisième chapitre traite l'effet pupicide de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* chez deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* et l'activité insecticide a permis de déterminer les paramètres de létalité et sublétales et l'activité de catalase et les réserves énergétiques.



Partie bibliographique



1. Présentation des espèces des moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*

1.1. Généralité de famille de Culicidae

La faune Culicidienne occupe le centre de l'actualité entomologique mondiale, en raison de son rôle dans la transmission des maladies virales et parasitaires qui peuvent affecter l'être humain et les animaux (**chahed et al., 2021**).

Les Culicidae sont des insectes piqueur-suceurs de sang appartenant à l'ordre des Diptères et au sous-ordre des Nématocères. Ils occupent la première place, soit par le rôle de vecteur d'organismes pathogènes de certaines espèces, soit par la nuisance des autres (**Hamaidia & Berchi, 2018**). La famille des Culicidés compte de par le monde environ 3500 espèces et sous-espèces, réparties en 3 sous-familles : *Toxorhynchitines*, *Anophelins* et *Colicins* (**Guemini & Zerdezi, 2020**). La faune de l'Afrique de nord est composée de 66 espèces appartenant à deux sous-familles, en sept genres et en dix-sept sous-genres dont sa richesse spécifique varie considérablement d'un pays à l'autre (**Hadjadj & Sersab, 2018**).

En Algérie seules les deux sous-familles *Culicinae* et *Anophelinae* sont représentées dans le tableau1 (**Helimi & Zoghlami, 2017**), caractérisée par des antennes longues et fines à multiples articles, des ailes pourvues d'écailles, et des femelles possédant de longues pièces buccales en forme de trompe rigide de type piqueur-suceur (**Guemini & Zerdezi, 2020**).

Les moustiques culicides sont les principaux vecteurs arthropodes de nombreux humains maladies dans le monde et avec plus de 3601 espèces; ils représentent le di-verset et famille d'ordre médical important Diptera (**Hatem et al., 2018**). *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* se trouvent dans tous les types de gîte qu'ils soient artificiels ou naturel (**Tine et al., 2016**).

Tableau 1 : Liste des espèces de Culicidae inventoriées dans les sites d'étude (**Bouabida, 2014**)

Famille	Sous Famille	Tribu	Genre	Sous genre	Espèce
Culicidae	Culicinae	Aedini	<i>Aedes</i>	<i>Ochlerotatus</i>	<i>Aedes caspius</i> Pallas, 1771
		Culicini	<i>Culex</i>	<i>Culex</i>	<i>Culex pipiens</i> Linné, 1758
					<i>Culex theileri</i> Theobald, 1903
					<i>Culex laticinctus</i> Edwards, 1913
					<i>Culex perexiguus</i> Theobald, 1903
					<i>Neoculex</i>
		Culisetini	<i>Culiseta</i>	<i>Allotheobalda</i>	<i>Culiseta longiareolata</i> Aitken, 1954
					<i>Theobaldia</i>

1.2. Présentation de l'insecte *Culex pipiens*

Culex pipiens est un complexe de sous-espèces dans la famille des Culicidés. (**Hatem et al., 2018**). est le plus largement distribuées en Algérie et de nombreuses pays dans le monde causant une morbidité sévère aux humains et aux animaux (**Bouguerra et al., 2018**). car ils transmettent certaines maladies épidémiques et mortelles (**Hatem et al., 2018**) y compris les virus et les vers filaires, ainsi que les agents pathogènes de la faune, comme le parasite du paludisme aviaire Plasmodium (**Romain et al., 2021**).

Culex pipiens L. Le moustique domestique du nord et une espèce multivoltine, originaire d'Eurasie qui se reproduit dans les eaux stagnantes et polluées, y compris les fossés, les bassins d'égouts et les conteneurs remplis d'eau riches en matières organiques, Les larves ont un siphon allongé et se nourrissent souvent au surface de l'eau. Adulte *Cx. pipiens* sont bruns avec des bandes d'écailles pâles à la base de tergites abdominaux foncés. (**Merlea et al., 2020**). ce moustique mesure entre 4 et 10 mm, et n'est pas très mobile (**William, 2020**).

La femelle consommé le sang par la pique pour produire des œufs est donc indispensable à la reproduction de cette espèce (**Bouderhem, 2014**).

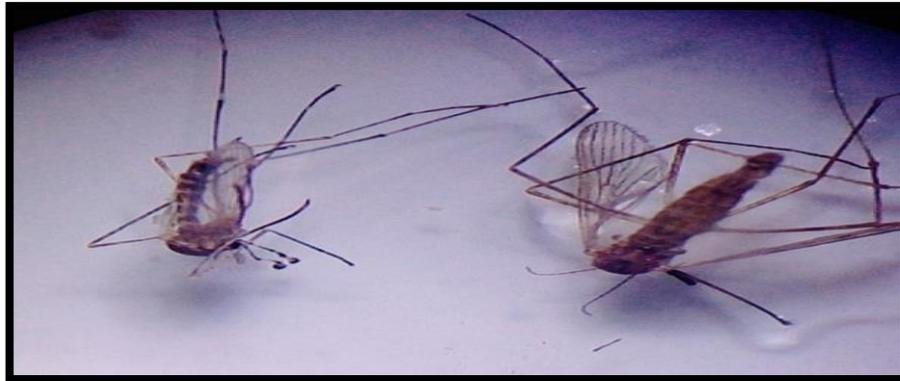


Figure01: *Culex pipiens* adulte

1.3. Caractéristiques de *Culex pipiens*

Les principales caractéristiques:

- palpes allongés chez le male (plus longs que la trompe) et légèrement recourbes vers le haut,
- palpes plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille).
- au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support
- larves avec antennes allongées,
- siphon respiratoire des larves long (**Bouderhem, 2014**).

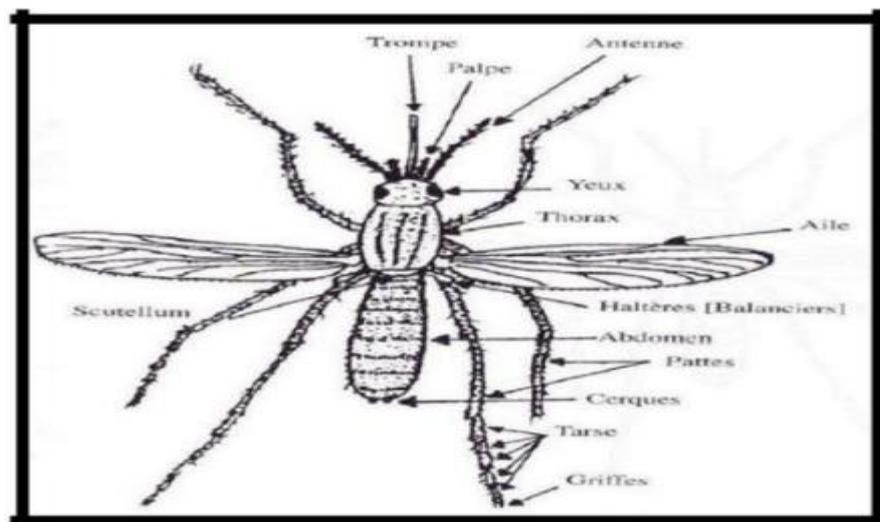


Figure 02 : Description des différentes parties d'un Imago (**in Zaiadi, 2017**).

1.3.1. Position systématique

La position systématique de moustiques *Cx. pipiens* a été proposée par **Linné, (1758)**

Comme suit :

Tableau 02 : Position systématique de moustiques *Cx. pipiens*

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Sous Embranchement	Antennata
Classe	Insecta
Sous Classe	Pterygota
Ordre	Diptera
Sous Ordre	Nematocera
Famille	Culicidae
Sous Famille	Culicinae
Genre	<i>Culex</i>
Espèce	<i>Culex pipiens</i>

1.4. Présentation de l'insecte *Culiseta longiareolata*

Culiseta longiareolata est un insecte nuisible à métamorphose complète (**Azzouz & Halib, 2017**). Cette espèce est multivoltine avec continue développement dans les pays chauds avec une large distribution, est présent dans le sud de la région paléarctique; il est distribué dans la région méditerranéenne, en Europe, et en Asie (**Merabtie et al., 2020**).

Il se développe principalement dans les petits plans d'eau (**Khaligh et al., 2020**). Elles piquent de préférence les vertébrés surtout les oiseaux, très rarement l'humain. L'espèce est considérée comme un vecteur de plasmodium d'oiseau (**Dris, 2018**)

Culiseta longiareolata est l'espèce la plus volumineuse (**Tine-Djebbar et al., 2016**). à 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 (**Menea & Aissi, 2019**). Chez l'adulte, le thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues et fortes au niveau du lobe basal du gonocoxite (**Bruhnes et al, 1999**).

C'est une espèce de la famille des Culicidae, la sous-famille des Culicinae, *Culiseta longiareolata* est l'espèce de moustique la plus intéressante d'Algérie, par-particulièrement dans la région de Tébessa (**Bouabida & Dris, 2020**), Il est l'espèce qui présente l'effectif le plus élevé au niveau des différents sites (**Tine-Djebbar et al., 2011**).

Le paludisme aviaire et divers arbovirus sont très maladies intéressantes sur le vétérinaire et côté écologique; dont *Cs. Longiareolata*, est le vecteur principal, C'est aussi le vecteur impliqué dans la transmission de la brucellose, de la grippe aviaire, ou est Encéphalite du Nil et fièvre de Malte (Merabtie et al ., 2020).

Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs (Nia. F & Nia. M, 2019).



Figure 03: *Culiseta longiareolata* male et femelle (photo personnelle).

1.4.1. Position systématique

La classification a été proposée par (Aitken, 1954).comme suit:

Tableau 03 : Position systématique de moustiques *Cs.longiareolata*

Règne	Animalia
Sous règne	Metazoa
Embranchement	Arthropoda
Sous Embranchement	Hexapoda
Classe	Insecta
Sous Classe	Pterygota
Ordre	Diptera
Sous Ordre	Nematocera
Famille	Culicidae
Sous Famille	Culicinae
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i>

1.5 Cycle de développement de moustique

Les moustiques ont un cycle de vie complexe, dans lequel les stades immatures sont confinés aux habitats aquatiques, et les adultes sont en liberté dans le paysage terrestre environnant (Alcalay *et al.*, 2019).

1.5.1. Œuf (nacelle)

Suite à l'accouplement qui a eu lieu peu de temps après l'émergence des adultes, les femelles fécondées déposent entre 200 et 400 œufs (Dris, 2018). Les œufs pondus à la surface de l'eau sont insubmersible grâce à leur arrangement en nacelle. Ils sont fusiformes, de couleur blanchâtre au moment de la ponte (Dahchar, 2017), et prend rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque une couleur marron ou noire. La couche externe de l'œuf ou exochorion, présente des ornements particuliers caractéristiques des genres et espèces. Ces formations assurent aux œufs leur flottaison et leur position relative par rapport à la surface de l'eau (Nia Fatima & Nia Meriem, 2019).

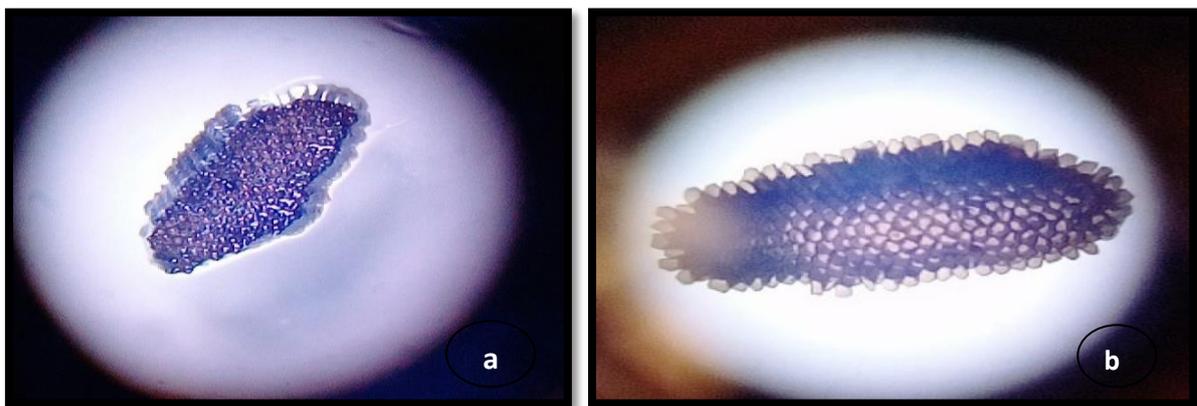


Fig 04 : a : Nacelle de *Culiseta longiareolata* et **b :** Nacelle de *Culex pipiens* (photo personnelle).

1.5.2. Larves

La larve passe par 4 stades de développement : L1, L2, L3 et L4, séparés par une mue, (Dris, 2018). La larve est vermiforme, cylindro-conique, est apode, a une taille d'environ 2 à 12 mm, son corps est divisé en trois régions : la tête, le thorax et l'abdomen (Nia Fatima & Nia Meriem, 2019). Les larves de moustiques se nourrissent généralement de détritus et de microorganismes vivants tels que les bactéries et les algues, grâce à leur paire de brosses buccales, et respirent l'air atmosphérique par leur siphon respiratoire à la surface de l'eau (Randrianjatovo, 2019).

La tête est définie par une capsule distincte portant une paire d'yeux et des ocelles latéraux, une paire d'antennes de forme variable et de longueur, et les pièces buccales à mâcher portant une variété de brosses, peignes et balayeuses utilisées pour l'alimentation.

Le thorax est large, avec trois segments sans pattes indistincts.

L'abdomen est plus étroit que le thorax, cylindrique, et composé de huit segments apparents. L'anatomie interne des larves est conforme à l'insecte général plan. Le tube digestif est presque droit. (Foster & Walker, 2019).



Fig 05 : larve de *Culiseta Longiareolata* (photo personnelle)

1.5.3. nymphe (pupe)

Lorsqu'elle a terminé sa croissance, la larve devient moins active. Elle se transforme en nymphe ou pupa. Celle-ci, beaucoup plus trapue que la larve (Tabti, 2015). Les nymphes, par vue latérale se ressemblent à une virgule (tête et thorax fusionnés dans un céphalothorax, abdomen courbé vers le bas) (Randrianjatovo, 2019).

La nymphe est active mais il lui arrive de rester immobile juste sous la surface de l'eau, absorbant l'air par ses tubes respiratoires. Si elle est dérangée, elle plonge vers le fond pour échapper aux prédateurs. (Tabti, 2015).

Elles ne se nourrissent pas cependant elles vivent avec ses réserves. (randrianjatovo, 2019).

La nymphe comprend trois parties :

- Les nageoires ou palettes natatoires, très aplaties, de forme généralement ovale, parfois asymétrique
- Les segments abdominaux qui sont au nombre de neuf, cependant, la poche génitale visible à la nageoire constituerait le dixième segment
- Le céphalothorax constitué de tubercules métathoraciques, de trompettes respiratoires qui fournissent de bons caractères taxonomiques et des soies céphaliques (Dahmani&Nouioua, 2019)



Figure 06: Nymphe de *Culex pipiens* (Photo personnelle)

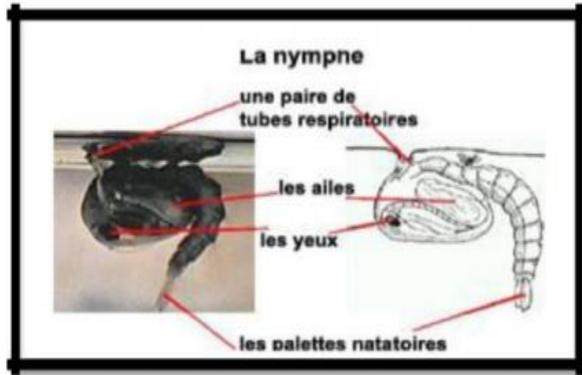


Figure 07: Aspect générale d'une nymphe de *Culex pipiens* (in Hamiche, 2017).

1.5.4. Adulte (Imago)

L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau. Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout

D'un jour alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours (**Bouderhem, 2014**)

Le corps du moustique adulte est composé de trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen. Les adultes mesurent, selon les espèces, de 5 à 20 mm. Le mâle, généralement plus petit que la femelle, est reconnaissable à ses antennes plumeuses qui lui donnent un aspect « moustachu » (**Khalfaoui & Belhaddad, 2019**). Les moustiques, comme beaucoup d'insectes se nourrissent de nectar, source d'énergie. Seules les femelles sont hématophages; elles n'ont pas besoin de sang pour leur propre survie mais en retirent les protéines nécessaires à la maturation de leurs œufs (**Bouderhem, 2014**)



Figure 08: Imago (adulte) de *Culex pipiens* (**Houam & Achouri, 2019**)

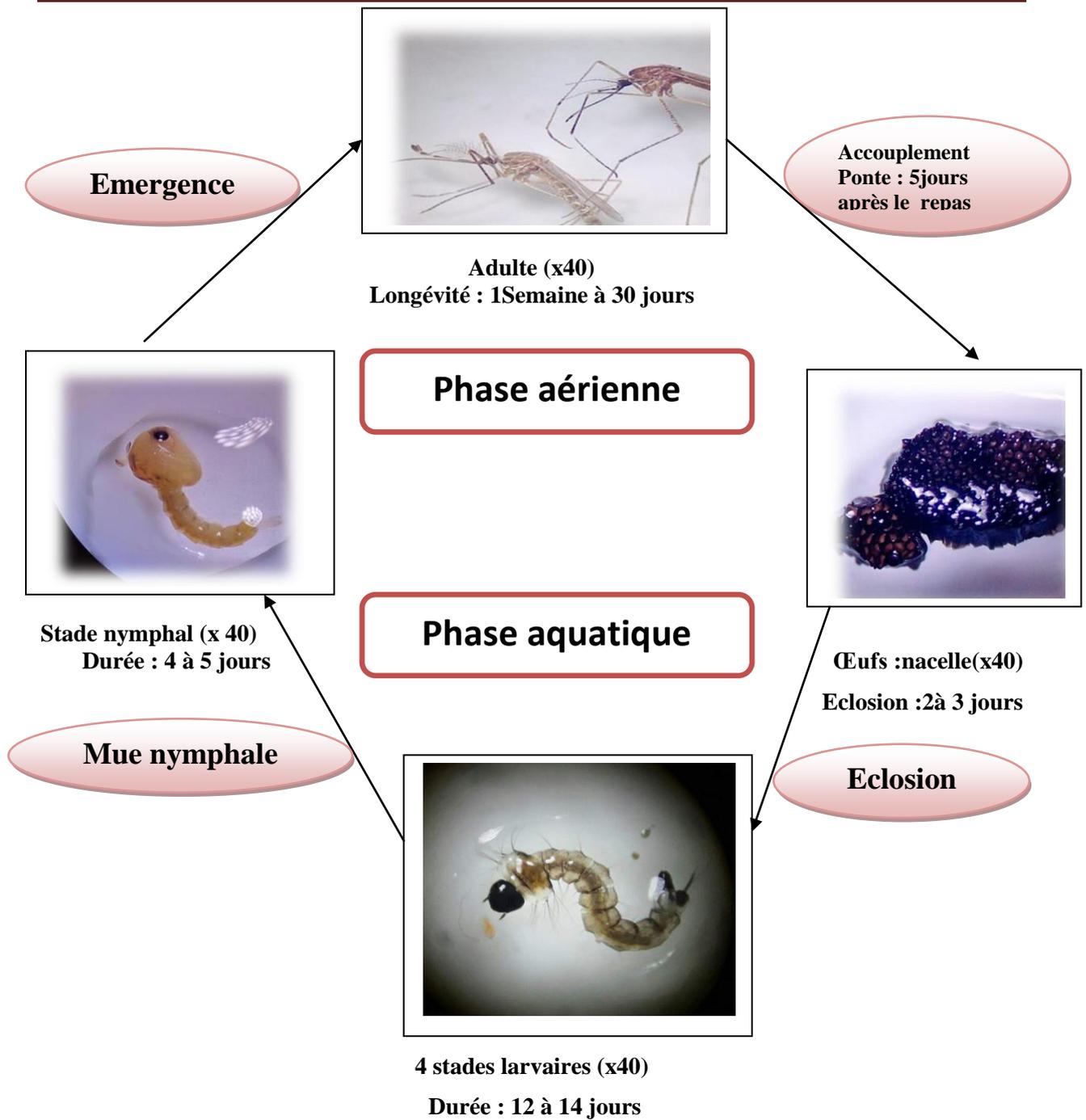


Figure09: Cycle de développement des moustiques (photo personnel)

1.6 Etude éthologique des Culicidés

1.6.1 Rôle pathogène

Les Culicidés ont un rôle majeur dans la transmission des maladies, il s'agit des microparasites (virus, parasites, bactéries). Certains parmi eux tirent profit de leur hôte sans causer de dégâts. D'autres ont la capacité de transmettre des agents pathogènes qui peuvent amener la mort de leur hôte.

Parmi les maladies vectorielles véhiculées par les moustiques, le paludisme est de loin la plus importante dans le monde. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, cette affection constitue avec le sida et la tuberculose l'une des trois maladies infectieuses les plus meurtrières sur la planète. Dans de nombreux pays en développement, notamment en Afrique au Sud du Sahara où le paludisme occupe une vaste aire de distribution (**Trar, 2017**), les premières infections sont suivies d'une phase aiguë, où le parasite se multiplie dans les globules rouges de l'oiseau, qui éclatent ensuite pour libérer les parasites ce qui provoque des anémies, les parasites peuvent ensuite être éliminés par l'hôte ou perdurer dans l'organisme, sous forme d'infections chroniques (**Coraline, 2012**).

Le virus West Nile est un flavivirus. Dépourvu d'un potentiel épidémique majeur lié à une virémie peu importante chez l'homme, l'infection par le virus West Nile (fièvre du Nil occidental) est néanmoins l'arbovirose actuellement la plus répandue. La distribution de ce virus, initialement limitée à l'Afrique s'est propagée en Europe du Sud et Sud-Est, puis en Amérique du Nord en 1999. (**Merlea et al., 2018**)

1.6.2 Rôle écologique

Les Culicidés ont un rôle dans les écosystèmes car ce sont les plus importants vecteurs d'agents pathogènes. Ils sont présents dans toutes les surfaces émergées (à l'exception de l'Antarctique), tant dans des milieux forestiers qu'urbains tant qu'une surface d'eau douce même réduite ou temporaire est disponible. Les adultes mâles se nourrissent de nectar de fleurs, ils participent donc à la pollinisation au même titre que les autres diptères. Les femelles piquent les animaux et l'homme et se nourrissent du sang. Ce repas sanguin constitue la source de protéines nécessaire pour compléter la formation des œufs. Les moustiques sont essentiels à la biodiversité spécifiques et fonctionnelles des zones humides (ruisseau, marécages ou encore saisons des pluies dans les pays tropicaux). Ils ont une importance pour les biologistes car ils leur servent de bio indicateurs. Les Culicidés (larves et adultes) sont une source de nourriture pour de nombreux prédateurs (insectes, lézards,

Batraciens, oiseaux...), Transférant de l'eau à la terre quantités de biomasse. Certaines larves, représentant une part importante de la biomasse des écosystèmes aquatiques, filtrent jusqu'à deux litres par jour

En se nourrissant de micro-organismes et déchets organiques. Elles participent donc à la bio-Épuration des eaux marécageuses. On peut donc affirmer que les moustiques s'avèrent être un facteur de pollinisation, de nourriture (les larves) et de diffusion d'agents pathogènes (Maladies tropicales) au sein des écosystèmes. Le rôle des moustiques a toujours été ignoré Alors qu'ils ont un rôle important au sein de la biodiversité. Malgré la mauvaise image que les moustiques ont, il faut apprendre à vivre avec car ils ont un impact plus positif que Négatif (Janet Fang, 2010).

2. Présentation de la plante *Ruta graveolens*

2.1. La famille des Rutacées

La famille des Rutacées, également nommée Rutaceae, appartient à l'ordre de Sapindales (França & Nascimento, 2015). contient environ 160 genres et plus de 1600 espèces (Rajaa et al., 2020) présentes dans les régions tempérées et chaudes (Hammiche & Azzouz, 2013). contient une très grande variété de plantes aromatiques, principalement dans les Régions tropical , Parmi eux, le riche est le genre *Ruta*. (Mouna et al ., 2007). Cette plante est considérée comme indigène en Europe du Sud et en Afrique du Nord (Parray et al ., 2012). Il préfère les sols rocheux bien drainés et résiste au temps sec (Malik & Nathar, 2020).

Elle est connue pour présenter une grande variété des métabolites secondaires fortement aromatiques en raison de la présence des huiles essentielles, qui a attiré l'attention de plusieurs chercheurs groupes sur l'importance chimique et biologique d'un grand nombre de ces métabolites. (Boubendir &Ladjal, 2020).

La famille des Rutacées est utilisée dans les systèmes de médecine dans le monde entier. La plante médicinale la plus commune de cette famille est la *Ruta graveolens* L., qui est communément appelé «Rue» ou «Sudab» ou «Sadab» en hindi. (Parray et al ., 2012).

2.2 .Présentation de *Ruta graveolens*

Ruta graveolens L. est une plante vivace appartenant à la famille des Rutacées (Auday et al ., 2021). répartie dans les régions tropicales et tempérées et considérée comme originaire de la Région méditerranéenne (E,I Mahmoud et al., 2020). La plante contient de nombreux métabolites secondaires qui sont utilisés dans le industries pharmaceutiques, y compris les alcaloïdes d'acridone, les coumarines, les substances volatiles, les terpénoïdes, les flavonoïdes, la furoquinoline, les saponines, les tanins et les glycosides (Auday et al., 2021). Principalement présents dans les feuilles, notamment avant de fleurir. (Amrutha et al., 2015).

Distribué dans tout le monde et cultivé comme plante médicinale et ornementale. (Shahid, 2020). Il atteint des hauteurs comprises entre 65 à 70 cm, semi-arbustive plante avec une odeur désagréable forte. Les feuilles sont vertes à fortement alaucos, de couleur bleu-vert, glandes, alternes, tripennées ou bipennées avec un aspect plumeux. Les feuilles sont linéaires-ovales ou oblongues. Les fleurs sont bisexuées, régulières, jaunes, à longues tiges avec 4-5 pétales. Les terminaux sont pentamères et d'autres sont tétramères. Les pétales sont jaune verdâtre, largement étalé, distinct et encapuchonné à le haut, brusquement connecté à la griffe étroite ci-dessous, marge ondulé ou denté, La capsule de fruit contenant 4-5 lobés avec de nombreuses graines. La tige pousse jusqu'à une hauteur de un mètre et il est lisse, mince et glauque pâle vert. (Shamal *et al.*, 2020)



Figure 10: Représentation de la plante *Ruta graveolens* (Photo personnelle).

2.2.1. Position systématique

La position systématique de la plante *Ruta graveolens* (wiart, 2006 ; Bonnier, 1999 ; Takhtajan, 2009).

Tableau 04 : La position systématique de la plante *Ruta graveolens*

Règne	Plantae
Sous règne	Tracheobionta (plantes vasculaires)
Super division	Spermatophyta (plantes à graine)
Division	Magnoliophyta (plantes à fleurs)
Sous division	Angiospermae
Classe	Magnoliopsida (dicotylédons)
Sous classe	Rosidae
Super ordre	Rutanae
Ordre	Sapindales
Famille	Rutaceae
Genre	<i>Ruta</i>
Espèce	<i>Ruta graveolens</i>

2.3. Utilisation de la plante

2.3.1. Usage médicinal

R. graveolens est utilisé pour les préparations médicinales en homéopathie, ayurvédique et unani, parce que cette herbe est si efficace contre diverses maladies. Il a été largement utilisé dans le traitement de la leucodermie, du vitiligo, du psoriasis, de la sclérose en plaques (Amrutha *et al.*, 2015). elle a connu pour sa haute valeur pharmaceutique telle que l'activité antioxydant, anti-inflammatoire, cytotoxique, antitumoral, antiarythmique, anti-androgène, contraception et Fertilité (Y. Sharifi *et al.*, 2019).

2.3.2. Usage Culinaire

On utilise dans des sauces et pour aromatiser le gibier ou le fromage blanc, mais en petite quantité. C'est un condiment prisé des Anglo-Saxons. Elle entre dans la préparation d'un beurre aux herbes et la fabrication du vinaigre de rue. Elle aromatise aussi certaines boissons alcoolisées (Mecheri & Akdif, 2017).

2.3.3. Usages médicinaux en médecine traditionnelle

En médecine traditionnelle, plusieurs propriétés thérapeutiques sont décrites De *R. graveolens* L., qui incluent l'utilisation de cette plante dans les menstruations troubles, inflammations cutanées, crampes, maux d'oreille et maux de tête (**França & Nascimento, 2015**).

- La décoction de Sitab lorsqu'il est utilisé comme lavement soulage la colite, les flatulences et la colite flatulente.
- Étant un analgésique, il est utile dans la douleur thoracique causée par pneumonie et pleurésie. Il est également utile dans la sciatique, goutte, arthrite et coliques flatulentes.
- L'application locale de pâte de feuilles de Sitab, sur le l'abdomen est efficace dans l'hydropisie.
- L'infusion de feuilles de Sitab s'utilise sous forme de goutte nasale pour traiter la paralysie infantile
- Le médicament est utile dans les troubles rénaux, urinaires vessie et aide à réguler la fonction de ces organes. Il soulage également les maux de dos et les douleurs thoraciques (**Parray et al ., 2012**).

2.4. Constituants chimiques de la plante

On a identifié 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(**Hammiche & Azzouz, 2013**). Les constituants chimiques présents comprennent l'impératorine, bergaptène, xanthotoxine, rutine, psoralène, et isoimperatorin , Les feuilles et les jeunes tiges contiennent saponines, phénols, acides aminés, flavonoïdes et alcaloïdes, Il contient également des glucosides d'acridone, du gravacridondiol, les époxydes d'acridone et la rutacridone. Dérivé de fruits, fleurs, racines, feuilles ou tiges de *Ruta graveolens* par distillation à la vapeur est principalement composé de composés oxygénés comme les cétones, les alcools et acétates. Les rapports montrent que les principaux composants des huiles essentielles obtenues à partir de fruits, de fleurs et de feuilles sont Acétate de 2-nonyle, 2-undécane et 2-nonane (**Shamal et al ., 2020**).

Tableau 05 : Principaux composés des rues (Hammiche & Azzouz, 2013)

Huile essentielle	Coumarines	Alcaloïdes
2-undécanone (méthylnonylcétone), 2-nonanone (méthylheptylcétone), 2-décanone (méthyl-octylcétone), alcools (nonanol), esters	Psoralène, bergaptène, xanthotoxine, isopimpinelline, daphnorétine, daphnorine, ombelliférone, scopolétine, gravelliférone, rutaculine, chalepensine, chalépine, marmésine, rutarétine, rutarine, rutamarine	– Dérivés des quinoléines : gravéolinine, gravéoline, arborine – Dérivés des furoquinoléines : dictamnine, ptéléine, kokusaginine, skimmianine, fagarine – Dérivés de l'acridone : arborinine, acridinone, gravacridone, rutacridone, furacridone

2.5. Les huiles essentielles

Selon la huitième édition de la pharmacopée française une huile essentielle, appelée également essence ou l'huile volatile est définie comme étant un produit de composition généralement assez complexe, renfermant les principes volatiles contenue dans les végétaux (Boubendir & Ladjal, 2020). Obtenu soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par hydro distillation (Belazizia & Askri, 2019). Ils peuvent être synthétisés par tout organe végétal (fleurs, bourgeons, graines, feuilles, brindilles, écorces, herbes, bois, fruits et racines) et stockés dans des cellules sécrétoires, des cavités, des canaux, des cellules épidermiques ou des trichomes glandulaires (Belghalem, 2019).

Le terme «huile» fait allusion à la propriété de ces composés à se solubiliser dans les graisses ainsi qu'à leur caractère hydrophobe. Le terme «essentielle» fait référence au parfum et à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (Charik & Kadri, 2019).

2.5.1. Localisation des huiles essentielles

Les huiles essentielles se rencontrent dans tout le règne végétal. Cependant elles sont particulièrement abondantes chez certaines familles, Conifères, Rutacées, Ombellifères, Myrtacées, Lamiacées, Poacées. (Djellab *et al.*, 2019). La biosynthèse et l'accumulation des huiles essentielles sont généralement associées à la présence des structures histologiques spécialisées. Elles se retrouvent dans des glandes minuscules sécrétrices situées dans

différentes parties de la plante aromatique (les feuilles, les fleurs, les fruits, les graines, l'écorce et pour certaines plantes dans les racines), (**Frouhat & Lahcini, 2013**).

2.5.2. Rôle des huiles essentielles

Les huiles essentielles possèdent un rôle écologique lors des interactions végétales, comme agents allélopathiques, c'est-à-dire inhibiteur de la germination mais lors des interactions végétal-animal, il s'agit aussi comme agent de protection contre les prédateurs tels que les insectes. Ils interviennent également, par leurs odeurs caractéristiques, dans l'attraction des pollinisateurs. Prouvées par la recherche scientifique moderne, les huiles essentielles (HE) ont des propriétés médicinales nombreuses et variées. Elles agissent quasiment dans tous les domaines de la santé et de la maladie. D'autres considèrent l'huile comme source énergétique, facilitant certaines réactions chimiques, conservent l'humidité des plantes dans les climats désertiques (**Guernit & Rhaim, 2018**).



Matériels et méthodes



3. MATERIEL ET METHODES

Le présent travail a pour objectif d'évaluer l'activité pupicide de l'huiles essentielles obtenues par hydrodistillation de la plante médicinale *Ruta graveolens*, cultivé dans la région de Tébessa, à l'égard de deux espèce de moustique : *Culex pipiens* et *culiseta longioreolata*

3.1. Appareillage, solvants, solutés, verrerie et autres

Le tableau ci-après présente tous ce qui est nécessaire pour nos expérimentations.

Tableau06: Liste d'appareils, solvants, solutés, verrerie et autres pour l'expérimentation.

- | |
|---|
| <ul style="list-style-type: none"> - Balance de précision - Béchers - Plaque chauffante - Papier aluminium - Papier absorbant - Papier film - Entonnoirs - Pipette en plastique de 3mL - Micropipettes avec embouts correspondants - Ethanol 96% - Méthanol - Eau distillée - Gobelets en plastique - Etiquettes - Récipients - Flacons en verre - Cage pour l'adulte - Cristalliseur |
|---|

3.2. Matériel d'origine végétale : huile essentielle de *Ruta graveolens*

3.2.1. Récolte et séchage de *Ruta graveolens*

La récolte de la plante a lieu durant le mois de 5 février dans la montagne de Dokara – Safsaf Elouesra (**figure 11**) et a lieu 1 mars de la montagne de Gastle Ain Zarga (wilaya de Tébessa). (**figure 12**). Elle a été séchée à l'ombre, à l'abri de l'humidité et à température

Ambiante pendant 10 jours, puis; la plante est en suite ramenée au laboratoire pour fait l'extraction de huile essentielle.



Figure11: Position géographique des plante *Ruta graveolens* dans région Dokara (Photo personnelle).



Figure12: Position géographique des plante *Ruta graveolens* dans région Ain Zarga (Photo personnelle).

3.2.2. Extraction des huiles essentielles par hydro distillation

l'extraction a été effectuée par hydrodistillation en utilisant un type Clevenger appareil (Bouguerra *et al.*, 2018) . Au niveau de laboratoire de Tébessa, des échantillons de 50 g ont été utilisés, plus 500 ml d'eau distillée. (Cristiane F&Lisboa, 2020). Sont introduit dans un ballon d'une capacité d'un litre, à fond rond et à 3 cols ou fioles, surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur. Le tout sera mis sur une chauffe ballon à une température voisine de 100°C et raccordé avec le reste de l'appareil d'extraction (Mawussi, 2008).

Les huiles essentielles recueillent par décantation à la fin de la distillation a été filtrée en présence de sulfate de sodium Na₂SO₄ pour éliminer les traces d'eau résiduelles et l'huiles essentielles de *Ruta graveolens* sera par suite récupérer et stockée à 4°C à l'obscurité dans un flacon en verre approprié, hermétique fermé et couvert d'une feuille d'aluminium pour la préserver de l'air et de la lumière. La quantité d'essence obtenue est pesée pour le calcul du rendement (Tchoumboungang *et al.*., 2009).

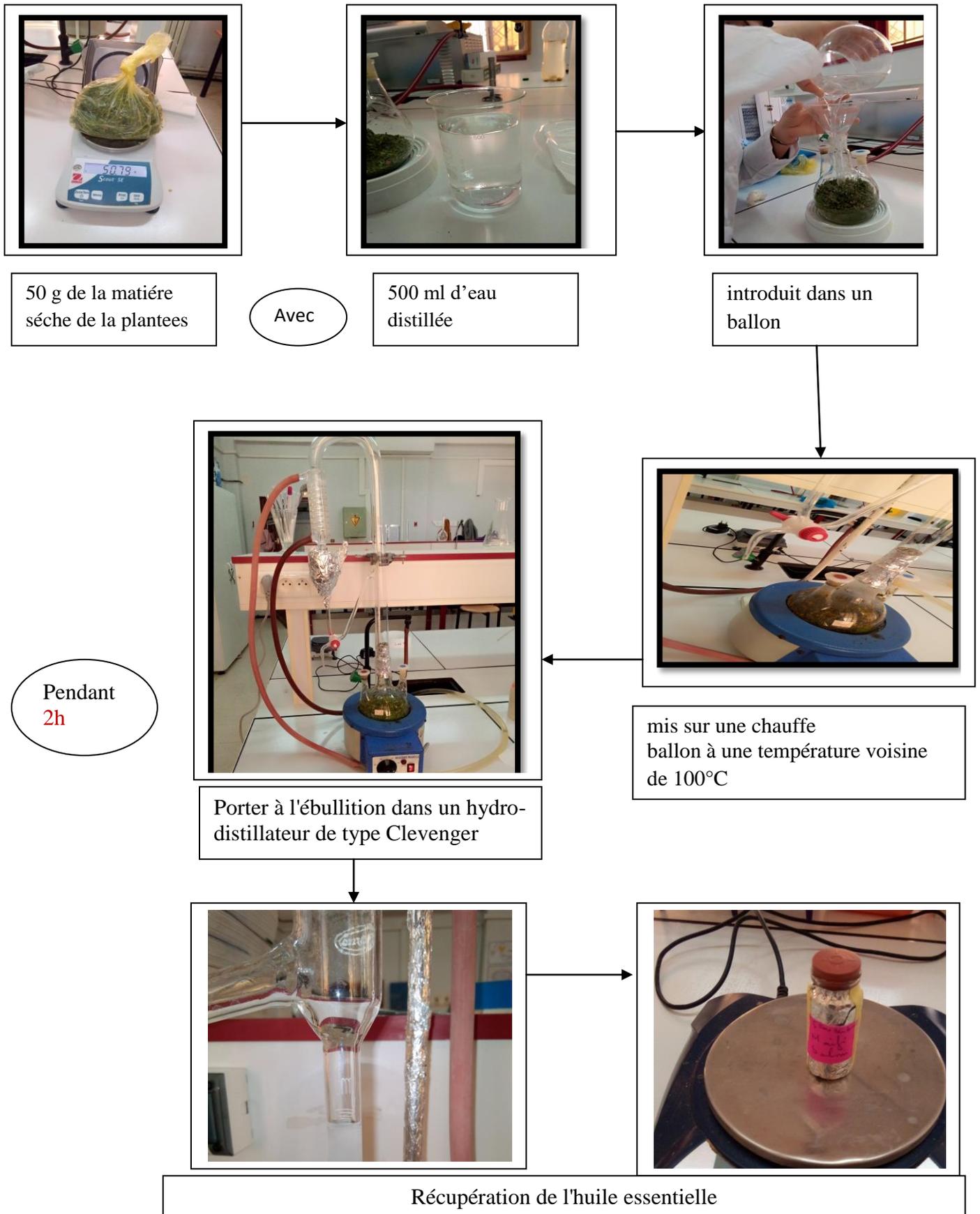


Figure13: étapes d'extraction de l'huile essentielle de *Ruta graveolens*

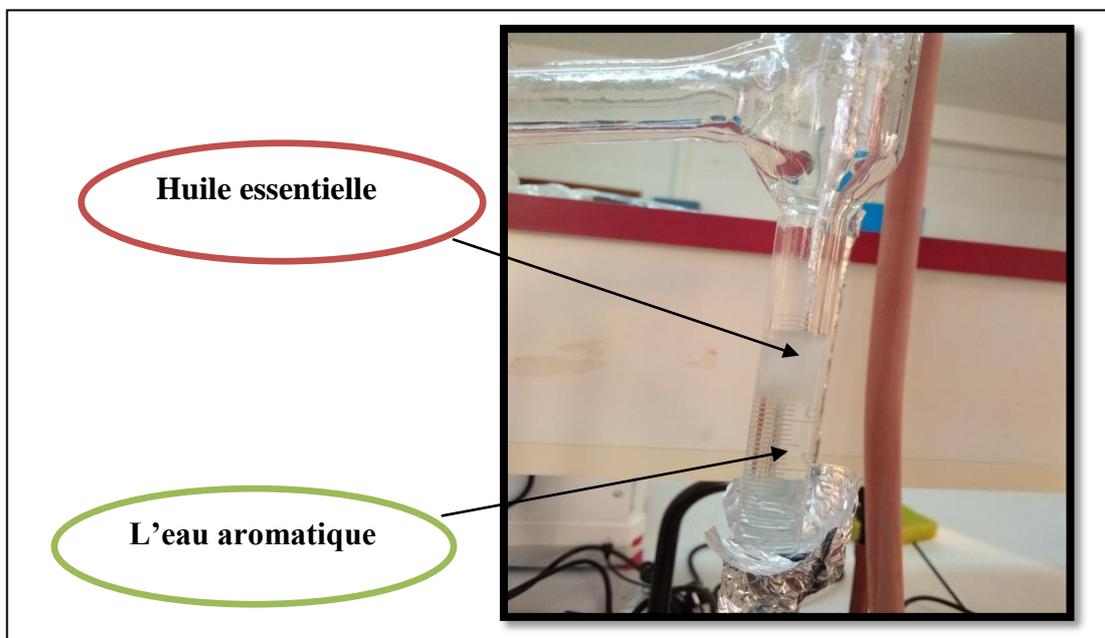
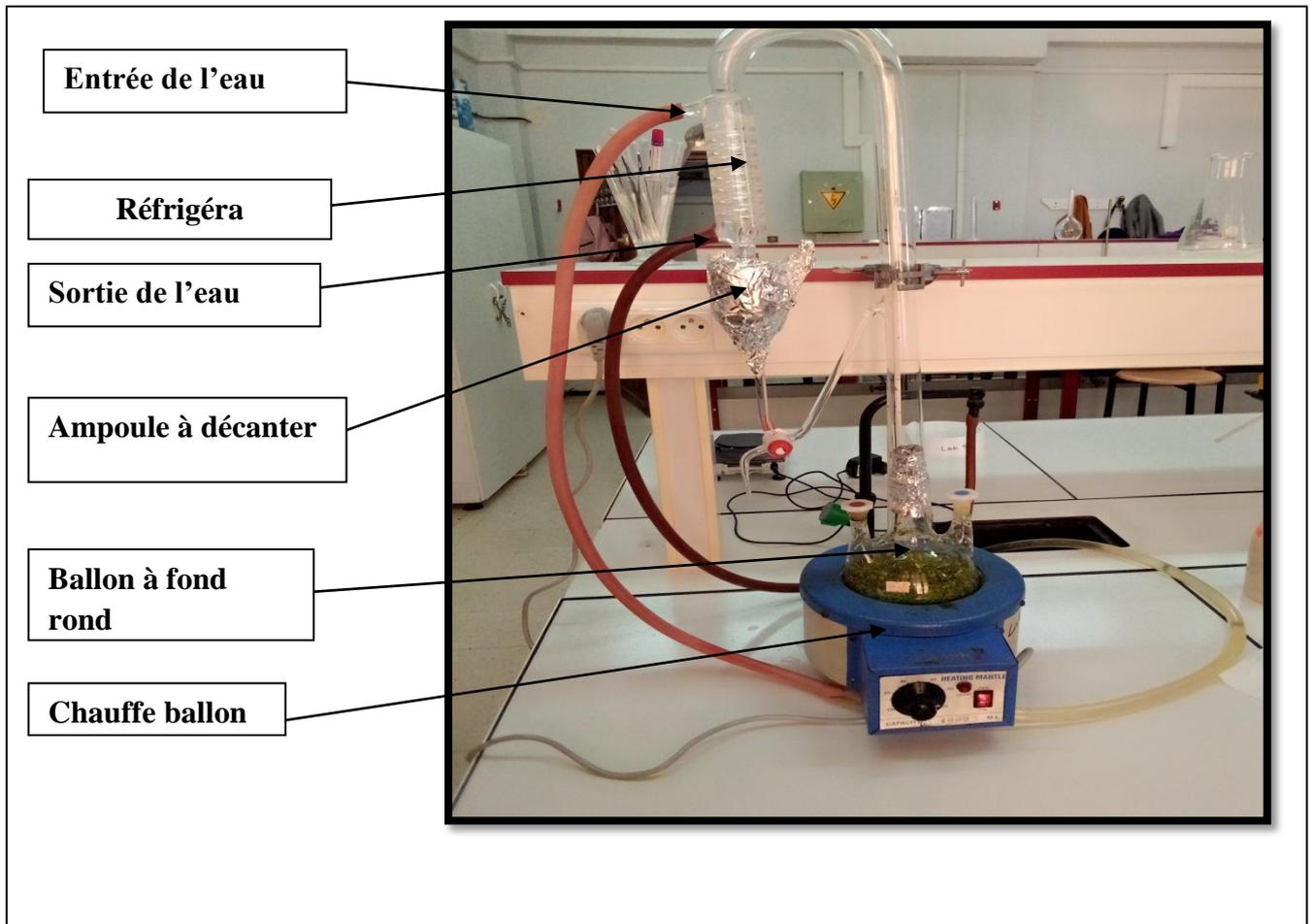


Figure14 : Montage de l'hydrodistillateur de type Clevenger (photo personnelle)

3.2.3. Rendement des huiles essentielles

Le rendement en HE est le rapport entre le poids d'HE extraite et le poids de la biomasse végétale à traiter. Le rendement est exprimé en pourcentage (%) et calculé par la formule suivante : $R (\%) = (mh/mf) \times 100$

R (%) = Rendement en HE,

mh = Masse totale d'huile essentielle,

mf = Masse de la matière végétale sèche (Nadia *et al.*, 2021)

3.2.4. Conservation des huiles essentielles obtenues

Les huiles essentielles obtenus après extraction ont été conservée dans des flacons fermés hermétiquement, recouverts d'un papier aluminium à l'abri de la lumière et à basse température (dans un réfrigérateur) pour éviter toute dégradation, jusqu'à leurs usages pour les tests de caractérisation. L'huile altérée perd son activité biologique (Bachir, 2019)

3.3 Matériel d'origine animal

3.3.1. Elevage de deux espèce des moustiques *Cs longiareolata* et *Cx pipiens*

Durant la période s'étendant de février à mars (2021), les prélèvements des échantillon des moustique ont été effectués dans notre région Tébessa (figure16) et El dokara (figure15)



Figure 15 : Gite de collecte des larves de *culiseta* de la région de el' Dokara (Photo personnelle)

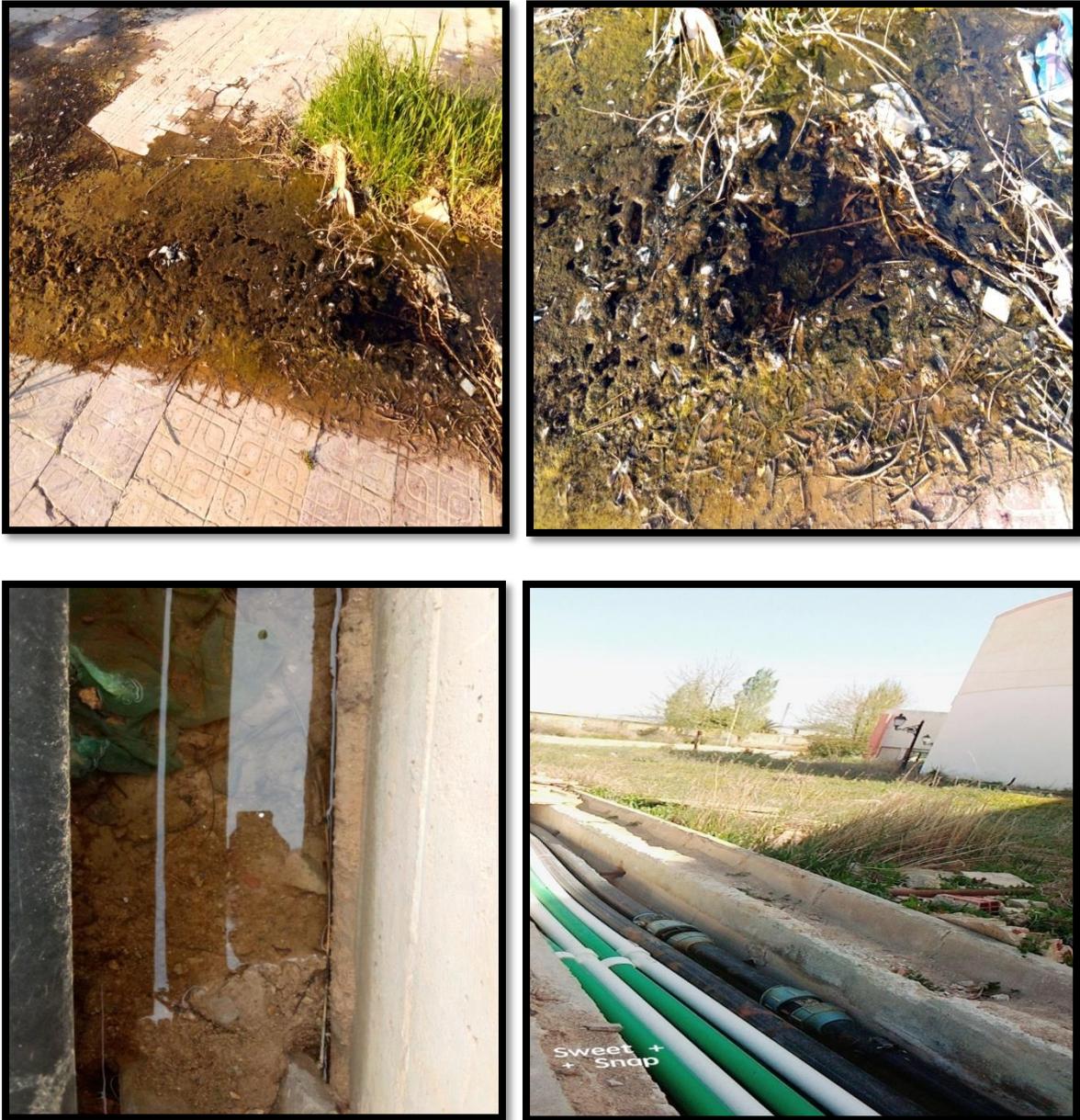
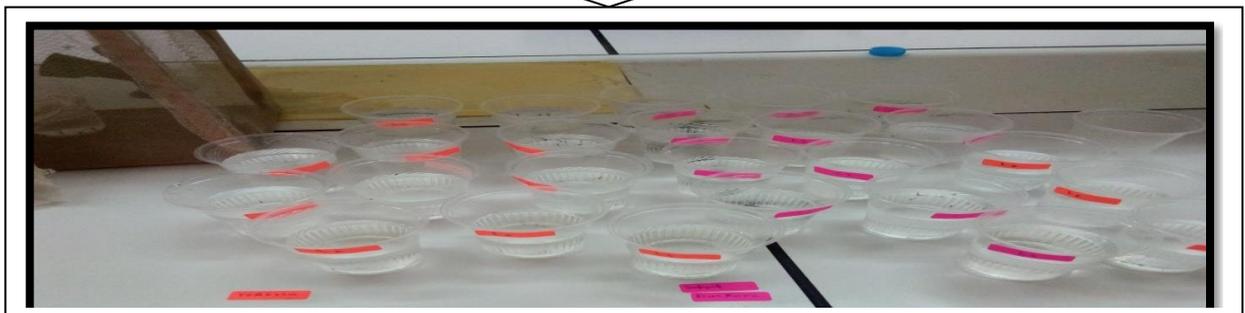


Figure16 : Collecte des moustiques dans la région de Tébessa (Photo personnelle).



Les larves et les pupes sont mises dans des gobelets



Les larves sont nourries d'un mélange de poudre de biscuit 75% et de levure sèche 25%.



Figure17 : Identification, et séparation des larves selon le stade larvaire (Photo personnelle).

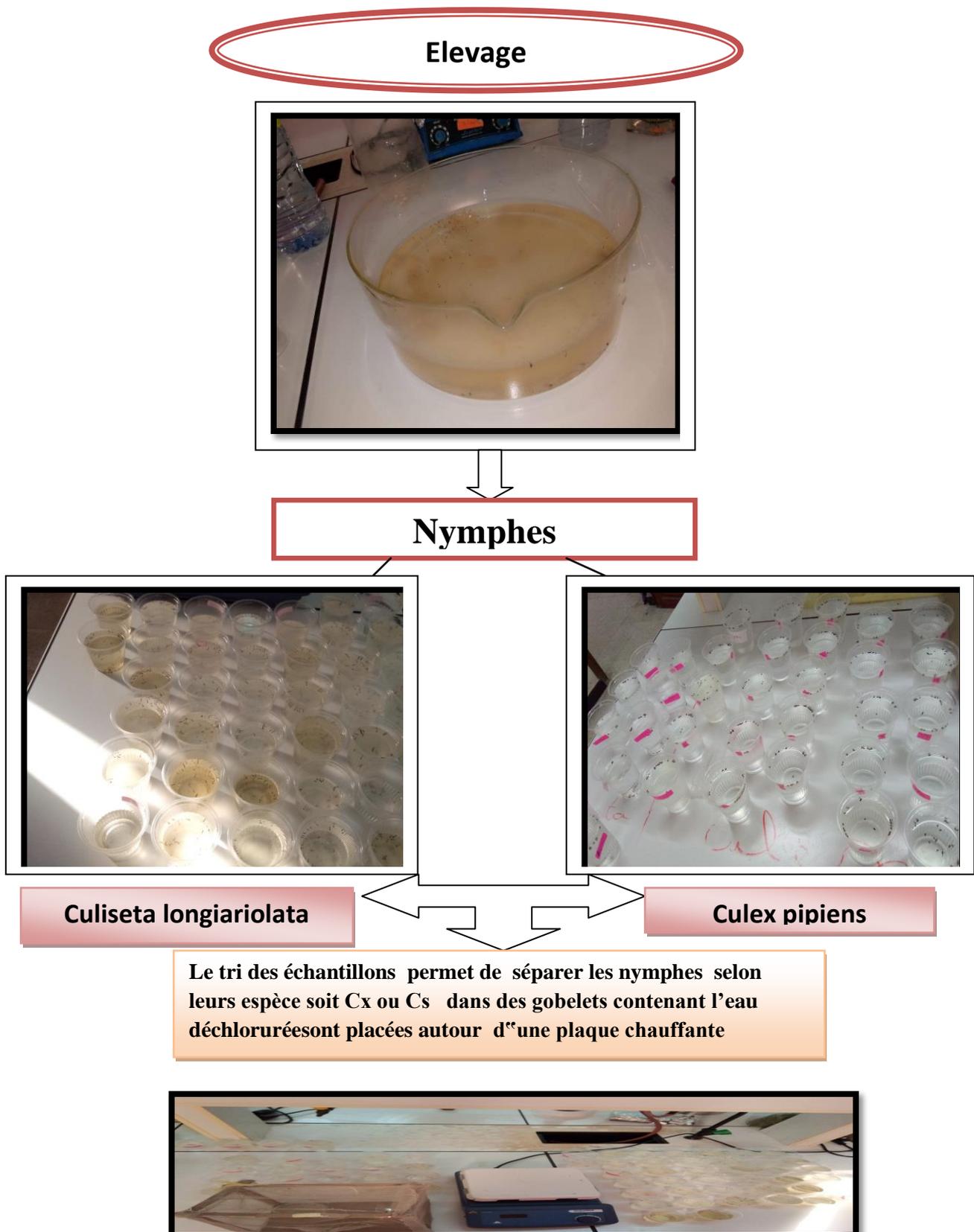


Figure 18: Schéma récapitulatif des étapes à suivre pour l'élevage des pupes de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* (Photo personnelle).

3.4. Test de toxicité

Nous avons préparé des concentrations de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* seront utilisées dans les essais toxicologiques à l'égard des différents stades pupes de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*.

Des gobelets contenant 150 mL d'eau déchlorurée en contact avec 25 des pupes de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*, ainsi préparées des solutions dans des tube épandeur contenant 1 ml d'éthanol diluée pour chaque concentration donné .cinq répétitions ont été réalisées pour chaque dilution ainsi utilisée et le nombre des pupes mortes ont été comptées après 24h heures d'exposition.

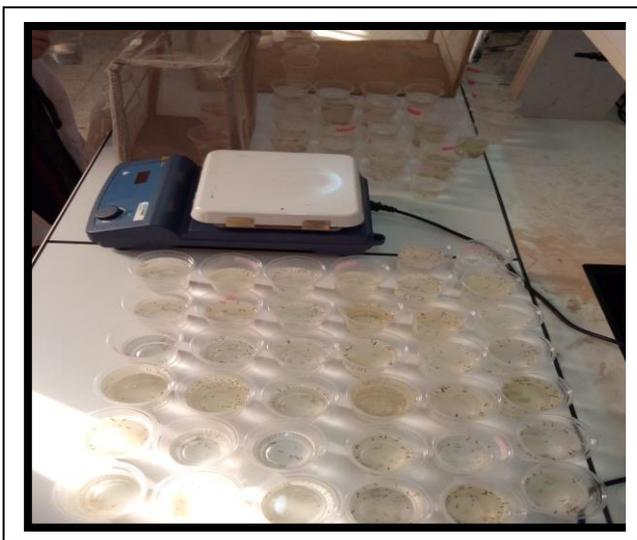
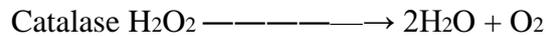


Figure 19 : Test de toxicité de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur les nymphes de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* (Photo personnelle).

3.5. Dosage de la catalase

Le dosage de la catalase (CAT) est réalisé selon la technique de **Claiborne (1985)**. Cette technique est basée sur la mesure spectrophotométrique de la réduction de l'eau oxygénée (H₂O₂) en une molécule d'oxygène (O₂) et deux molécules d'eau (H₂O) en présence de la CAT à une longueur d'onde UV de 240 nm, selon la réaction suivante :



Les pupes témoins et traitées de *Culiseta longiareolata*, sont prélevées à différentes périodes (24, 48, et 72 heures), l'essai est conduit avec 3 répétitions comportant 10 individus. Les pupes sont homogénéisées dans 1ml de tampon phosphate (100 Mm, pH 7,4), puis centrifugées à 15000 trs/mn, pendant 10 mn. Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme (**Figure 21**). Le dosage de l'activité de la catalase s'effectue dans une cuve de spectrophotomètre en quartz à 250°C, sur une fraction aliquote de 50 µl du surnageant dilué de façon à se situer entre 1 et 1,5 mg de protéines/ml, soit 0,05 à 0,75 mg dans la cuve, à laquelle on ajoute 750 µl de tampon phosphate (100 Mm, pH 7,4). Après agitation, la lecture est effectuée au spectrophotomètre. L'activité décroît rapidement, il est donc important de mettre toujours le même temps entre le pipetage du surnageant et le moment où on place la cuve dans le spectrophotomètre. La lecture des absorbances s'effectue après 15 secondes d'attente toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde de 240 nm contre un blanc avec 800 µl de tampon phosphate (100Mm, pH 7,4), et 200 µl de H₂O₂. L'activité spécifique est calculée selon la formule suivante :

$X = \frac{\text{Do max} - \text{Do min}}{0,04} \quad \text{mg de protéines}$

X : micromole de substrat réduit par minute et par mg de protéines (µM/mn/mg de protéines).

Do max : densité optique maximum obtenue.

Do min : densité optique minimum obtenue.

0,04 : coefficient d'extinction molaire du H₂O₂ (cm-1. mM-1).

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.



Figure20: les étape de dosage l'activité du catalase

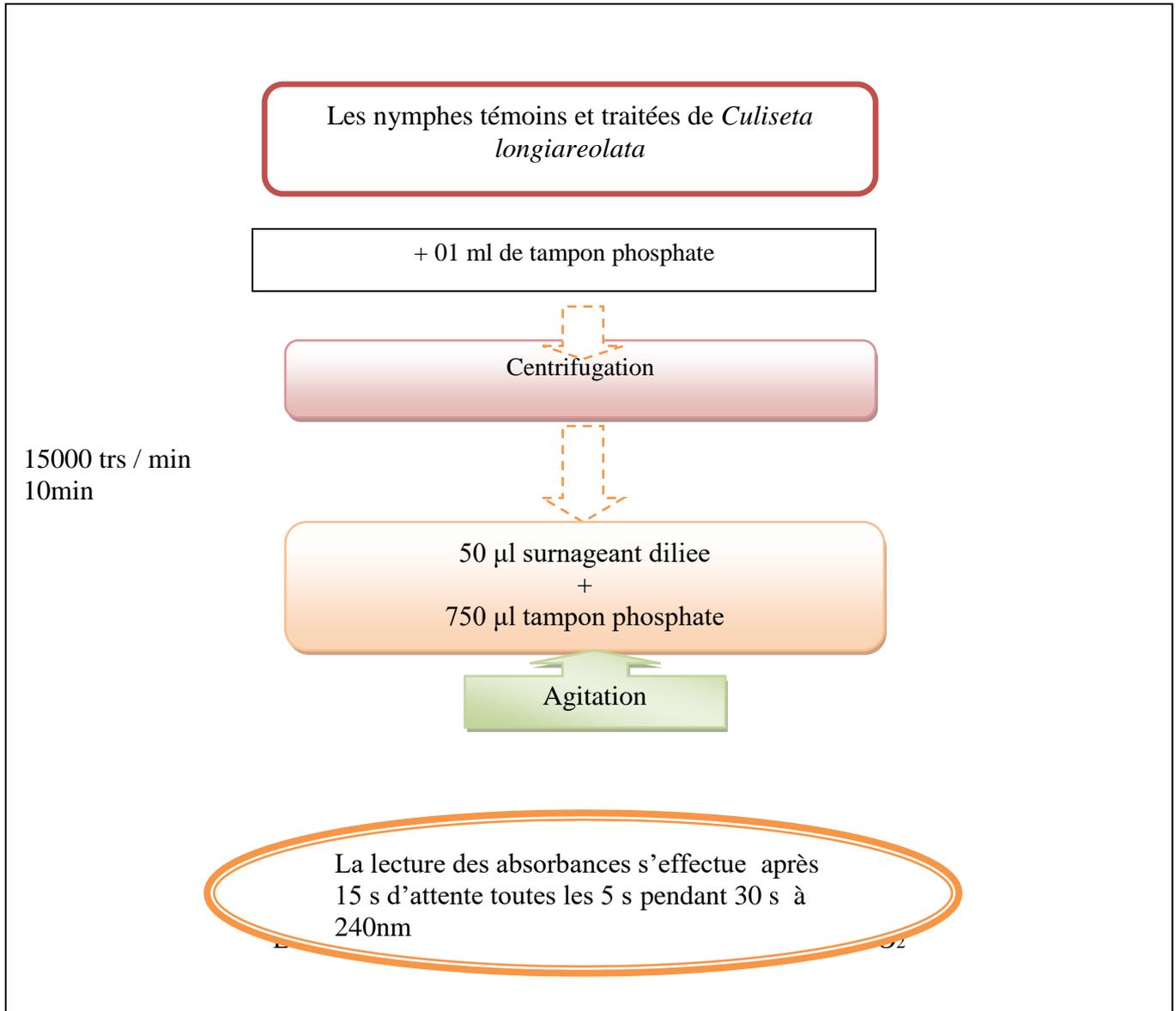


Figure21: Dosage de l'activité du catalase (Claiborne, 1985).

3.6. Dosage des compositions biochimiques

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de Shibko *et al.* (1966), et les principales étapes sont résumées dans la (figure 23). Les échantillons (les nymphes de *Culiseta longiareolata*) sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés. 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)**.

3.6.1. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon **Duchateau & Florkin (1959)**. Cette méthode 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 min, 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 gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml) (**Tableau 07**)

Tableau 07 : 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	00
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité de glucose (µg)	0	20	40	60	80	100

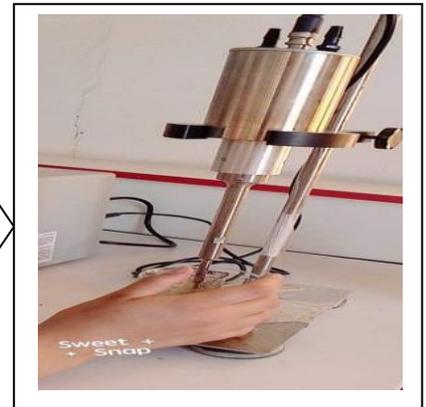


Insecte (entier)

+



1 ml de TCA à (20%)



Broyage des échantillons

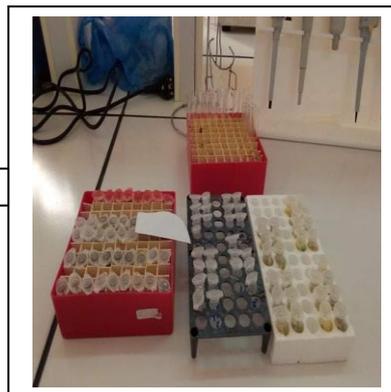


Anthrone (4 ml)

+



Le surnageant récupéré
100 ul



centrifugées à 5000 trs/mn,
pendant 10 mn.

Chauffer
80°C (10
mn)



la lecture est effectuée au
spectrophotomètre

Figure 22: les étapes de Dosage des glucides totaux**3.6.2. 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 commassie (BBC) G 250 (Merck). 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 (BSA) titrant 1 mg/ml (**Tableau 08**)

Tableau 08 : 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	00
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine (μg)	0	20	40	60	80	100

3.6.3. 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 auxquelles 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. 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 et on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V) (**Tableau 09**).

Tableau 09 :

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)	100	80	60	40	20	00
Quantité de lipides (μg)	0	50	100	150	200	250

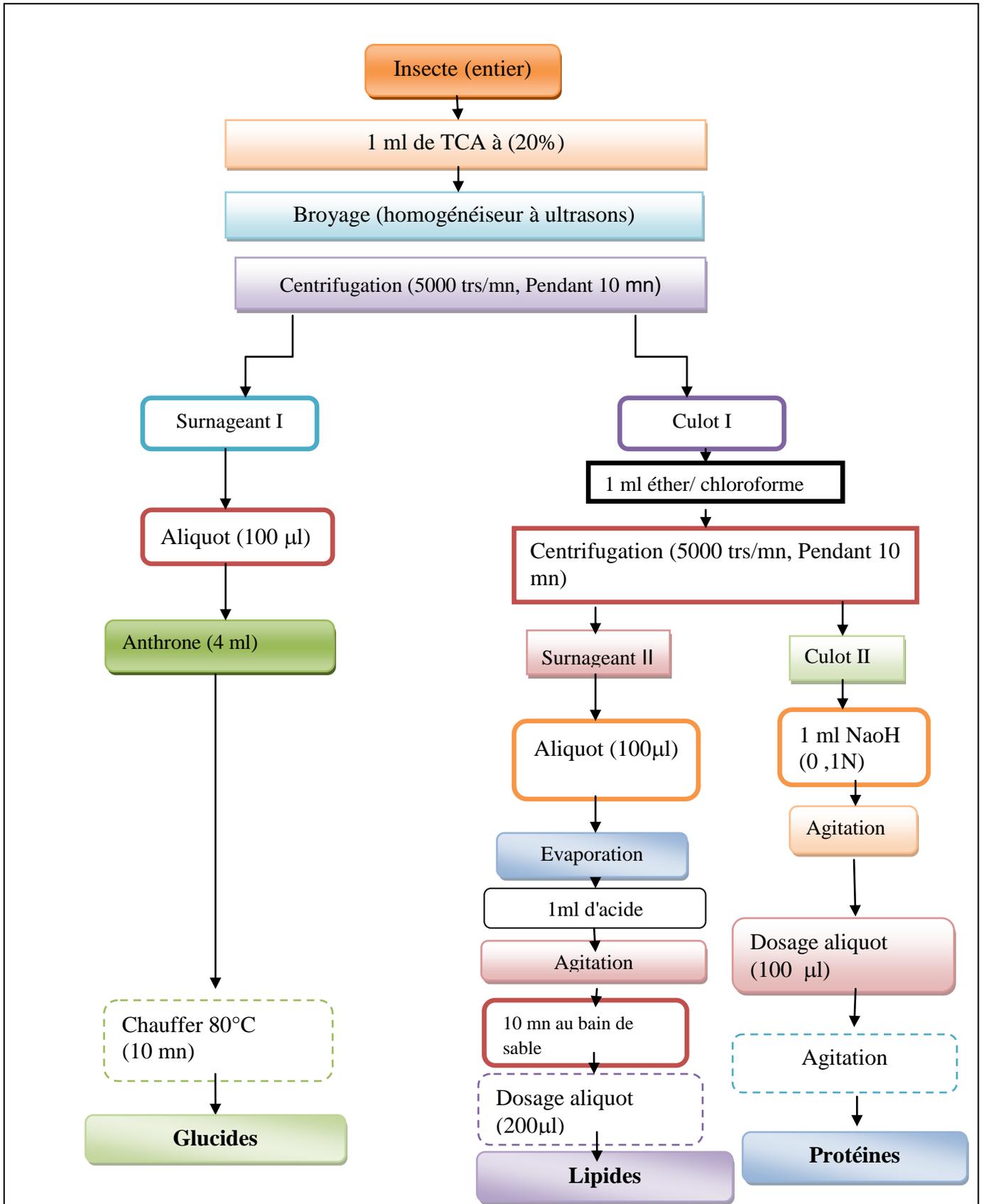


Figure 23 : Dosage des métabolites primaires selon **Shibko et al. (1966)** modifié par (**Soltani & Soltani - Mazouni, 1992**)



Résultats



4. Résultats

4.1. Rendement en huile essentielle de *Ruta graveolens*

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* obtenue par un hydrodistillateur de type Clevenger est de couleur blanc, claire avec une odeur agréable et avec un rendement de **1,440 ± 0,372 %** de la matière sèche de la partie aérienne de la plante.

4.2. Essais d'insecticide des huiles essentielles de *Ruta graveolens* sur les pupes de *Culiseta longiareolata*

Les études toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité d'huiles essentielle de *Ruta graveolens* sur les pupes de *Culiseta longiareolata* évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles avec un effet direct.

Les tests de toxicité sont appliqués sur les pupes (2- 3 jours) *Culiseta longiareolata* avec des différentes concentrations d'huiles essentielle de *Ruta graveolens* : 5, 10, 20, 30 et 40 ppm jusqu'à 24 h. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le (**Tableau 10**) avec des taux variant de **9.80% (5ppm) à 92,60% (40 ppm)** avec une relation concentrations – réponse (**Figure 24**). 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 11**) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif ($p < 0,001$).

Tableau 10 : Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* (ppm) appliquées sur les pupes de *Culiseta longiareolata* : Mortalité corrigée % ($m \pm SD$, $n = 5$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentration (ppm)	5	10	20	30	40
R1	10	20	60	80	88
R2	12	23	45	75	92
R3	10	20	40	80	100
R4	9	25	40	78	88
R5	8	20	50	80	95
m±SD	9.80 ± 1.48	21.60 ±2.30	47.00±8.37	78.60± 2.19	92.60± 5.08

Tableau 11 : Effet d’huile essentielle de *Ruta graveolens* (ppm) chez les pupes 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	25321,4	4	6330,4	292,80	0,000
Erreur résiduelle	432,4	20	21,6		
Total	25753,8	24			

*** différence très hautement significative (p<0.001)

SCE : Somme des carrésDes 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 pupes 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 11,81 de l’intervalle (6,885-18,1) et 18,57 de l’intervalle (13,73-23,79) ; et 45,88 de l’intervalle (29,94 -93), avec un Slope de 2,429 (**Tableau 12**).

Tableau 12: L’huile essentielle de *Ruta graveolens* a été appliquée sur des pupes à concentration létales, CL25, CL50, et la CL90 (qui provoque la mortalité de 25%, 50 %, et 90 % de population ciblée).

Stade	Hill Slope	CL25 (95%IC)	CL50 (95%IC)	CL90 (95%IC)	R ²
Pupes	2,429	11,81 [6,88-18,1]	18,57 [13,73-23,79]	45,88 [29.94- 93]	97 %

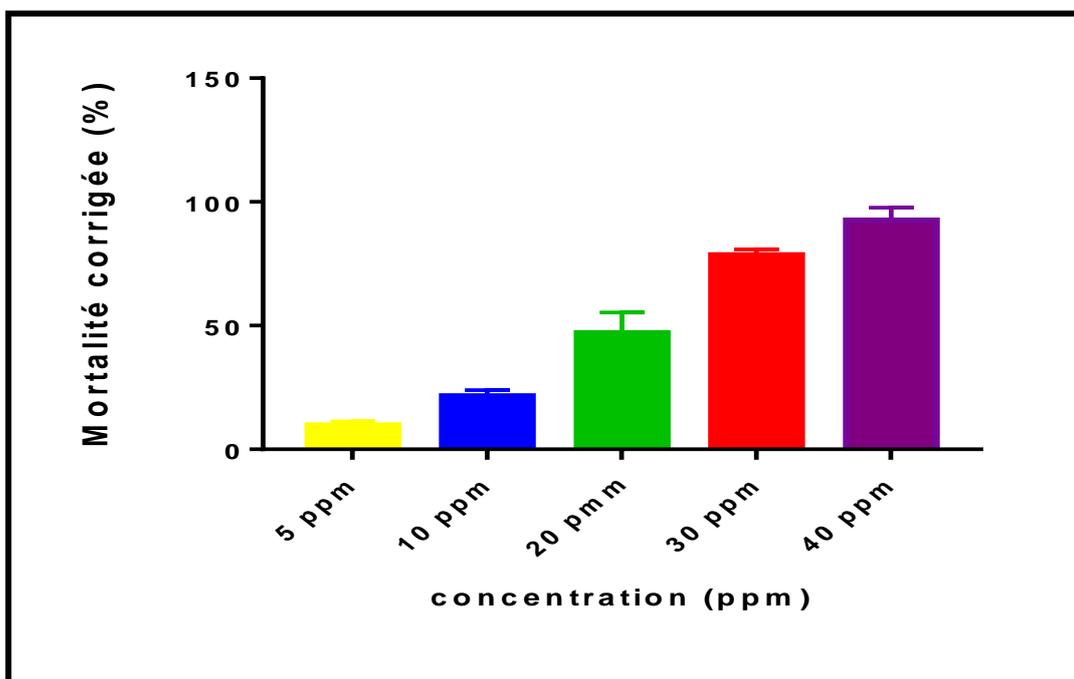
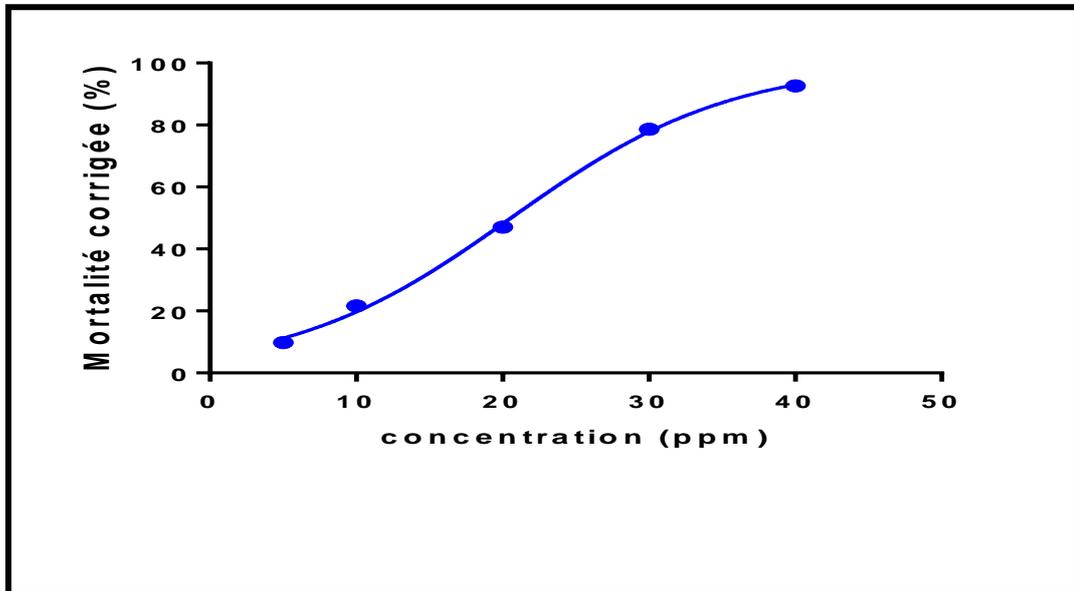


Figure24 : Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des pupes de *Cs longiareolata* nouvellement exuvies traitées par différentes concentrations des huiles essentielles de *Ruta graveolense* .

4.3. Essais d'insecticide des huiles essentielles de *Ruta graveolens* sur les pupes de *Culex pipiens*

Les études toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité d'huiles essentielle de *Ruta graveolens* sur les pupes et de *Culex pipiens* évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles avec un effet direct.

Les tests de toxicité sont appliqués sur les pupes (2- 3 jours) *Culex pipiens* des différentes concentrations d'huiles essentielle de *Ruta graveolens* : 5, 10, 25, 50 et 80 ppm jusqu'à 24 h . La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le (Tableau 13) avec des taux variant de **8% (5ppm) à 100 % (80 ppm)** avec une relation concentrations – réponse (Figure 25). 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 14) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif ($p < 0,001$).

Tableau 13: Effet d'huile essentielle de *Ruta graveolens* (ppm) appliquées sur les pupes de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée % ($m \pm SD$, $n = 5$ répétitions comportant chacune 25 individus).

Concentration (ppm)	5	10	25	50	80
R1	12	28	40	80	100
R2	8	24	48	76	100
R3	8	20	40	72	100
R4	4	28	36	80	100
R5	8	28	40	68	100
m±SD	8,00 ±2.83	25.60±3.58	40.80±4.38	75.20± 5.22	100± 0.00

Tableau 14: Effet d’huile essentielle de *Ruta graveolens* (ppm) chez les pupes de *Culex pipien*. Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).

Source de variation	SCE	Ddl	CM	Fobs	P***
Traitement	27895.0	4	6973.8	518.88	0,000
Erreur résiduelle	268.8	20	13.4		
Total	28163.8	24			

*** 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 pupes 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 13,17 de l’intervalle (4,41-28,86) et 24,99 de l’intervalle (13,63-41,32) ; et 139 de l’intervalle (31,22-115,1), avec un Slope de 1,716 (**Tableau 15**).

Tableau 15: L’huile essentielle de *Ruta graveolens* a été appliquée sur des pupes à concentration létales, CL25, CL50, et la CL90 (qui provoque la mortalité de 25%, 50 %, et 90 % de population ciblée).

Stade	Hill Slope	CL25 (95%IC)	CL50 (95%IC)	CL90 (95%IC)	R ²
Pupes	1.716	13,17 [4,42-28,86]	24,99 [13,63-41,32]	139 [31,22- 115,1]	94 %

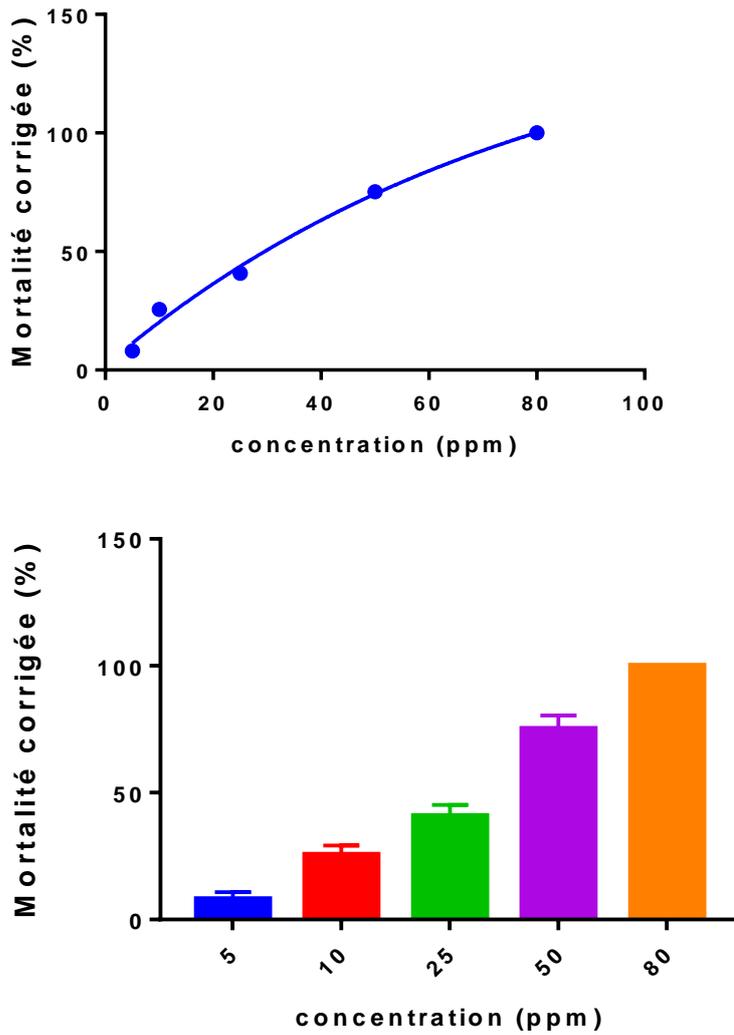


Figure25 :Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des pupes de *Cx pipiens* nouvellement exuvies traitées par différentes concentrations des huiles essentielles de *Ruta graveolens*.

4.4. Effet sur la biochimie

4.4.1. Effet sur le contenu en protéines de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*

Le contenu en protéines ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* 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 *Culex pipiens*, 24h ($p=0,034$), 48h ($p=0,045$) et 72h ($p=0,040$) et chez *Culiseta longiareolata* 24h ($p= 0,032$), 48h ($p= 0,041$) et 72h ($p= 0,030$)

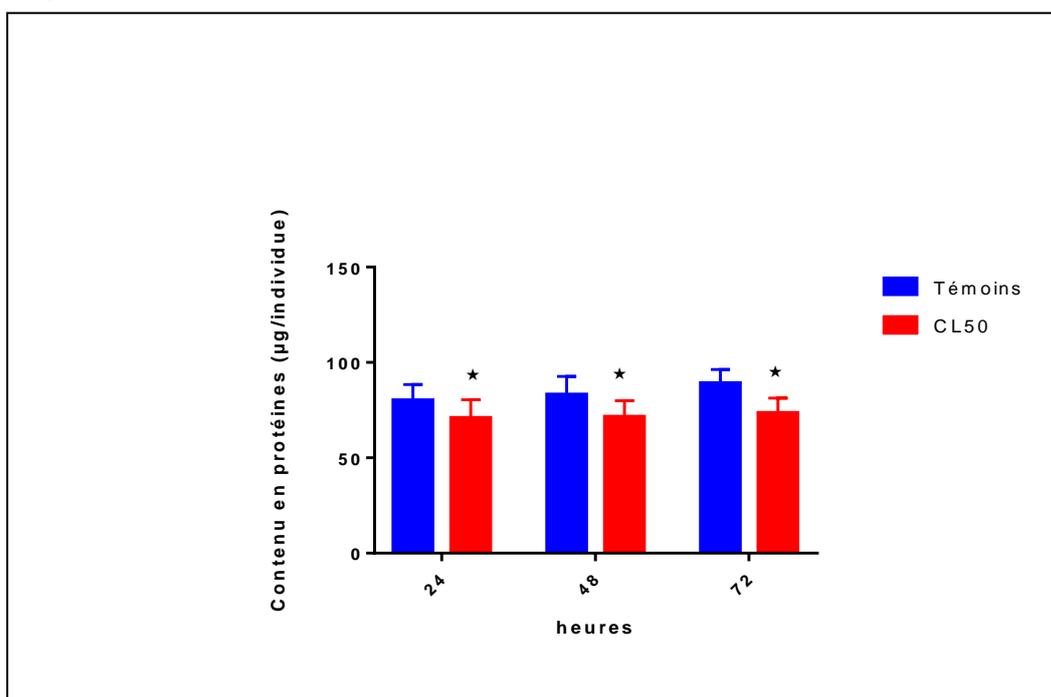


Figure26 : Effet des huiles essentielles de *Ruta graveolens* (CL50), sur le contenu en protéines ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de *Culiseta longiareolata* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative ($p < 0.05$)

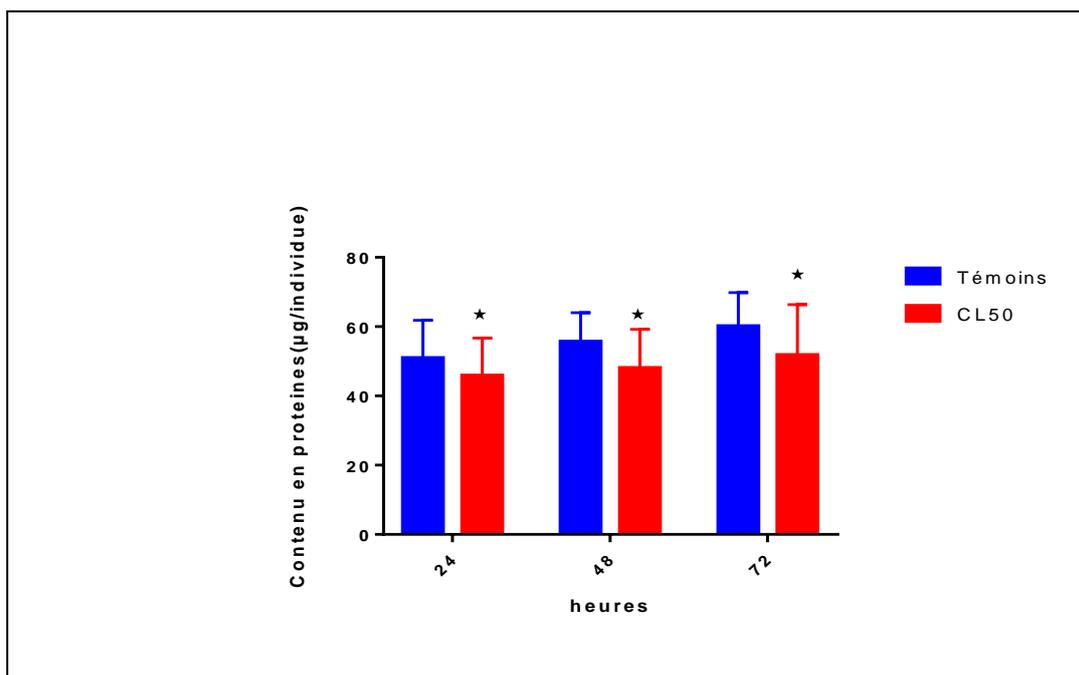


Figure 27: Effet des huiles essentielles de *Ruta graveolens* (CL50), sur le contenu en protéines (µg/individu) chez les pupes de *Culex pipiens* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative ($p < 0.05$)

4.4.2. Effet sur le contenu en glucides

Les résultats obtenus (**figure28,29**) marquent une augmentation significative du contenu en glucides (µg/individu) 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 24h ($p = 0,030$ et $0,041$), 48h ($p = 0,045$ et $0,042$) et 72h ($p = 0,040$ et $0,032$) chez *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* respectivement.

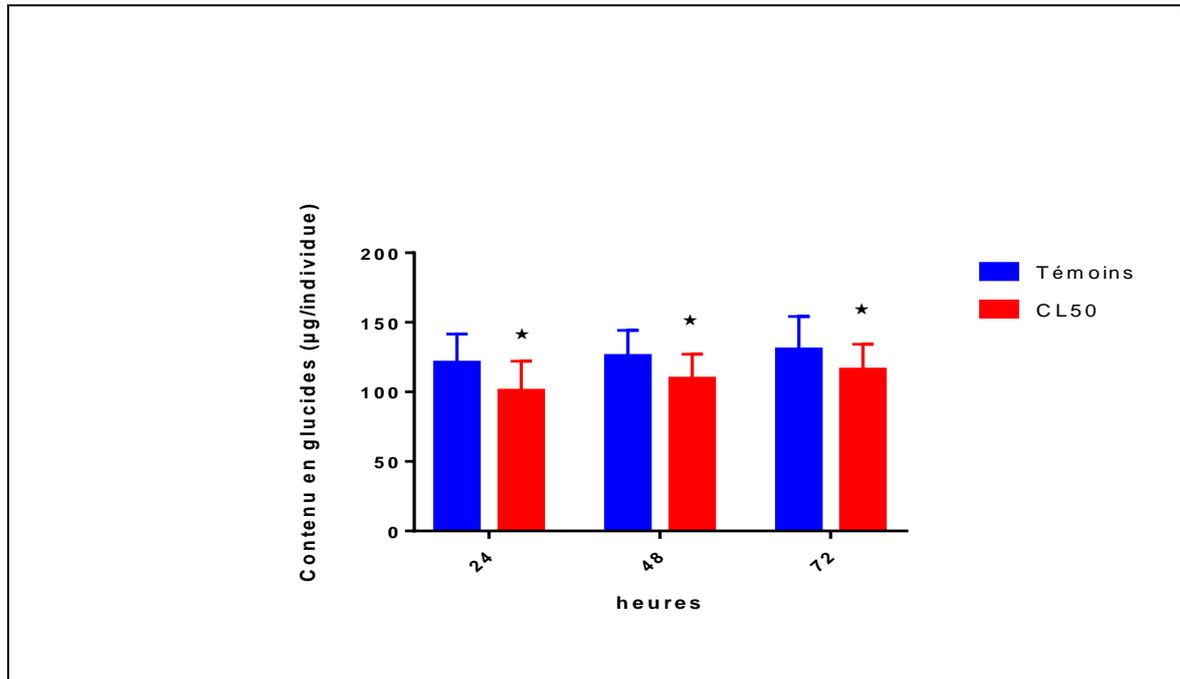


Figure 28 : Effet des huiles essentielles de *Ruta graveolens* (CL50), sur le contenu en glucides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de *Cs longiareolata* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative ($p < 0.05$)

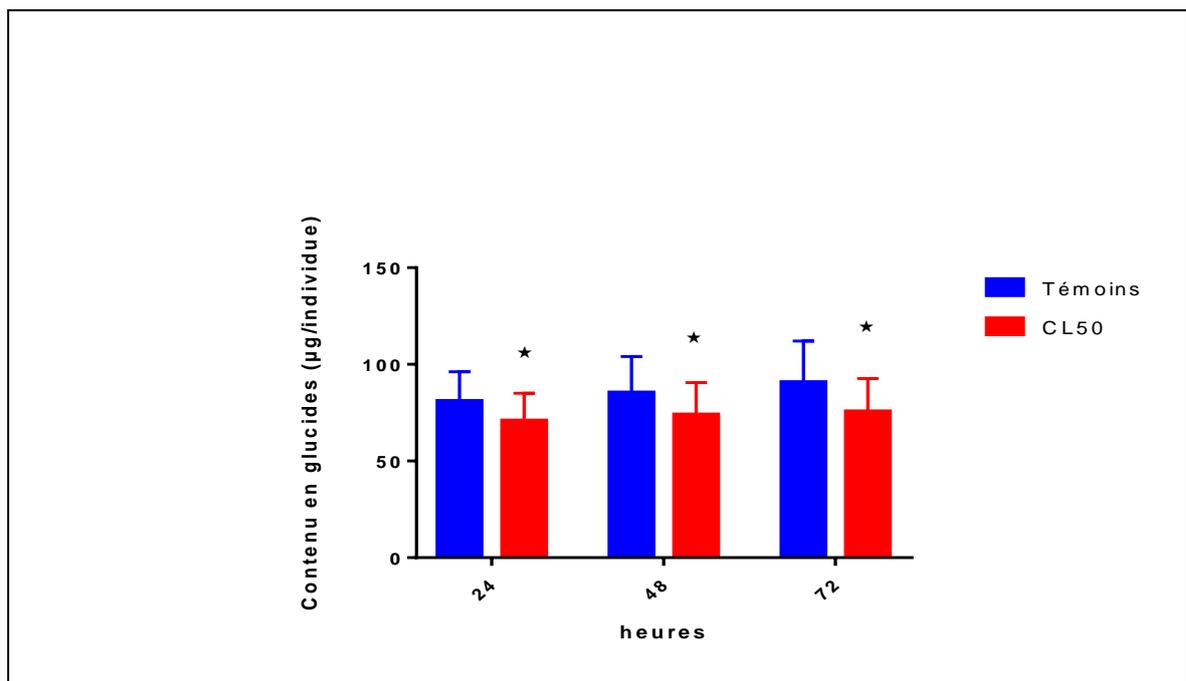


Figure 29: Effet des huiles essentielles de *Ruta graveolens* (CL50), sur le contenu en glucides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de *Cx pipiens* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative ($p < 0.05$)

4.4.3. Effet sur le contenu en lipides

Le contenu en lipides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* (figure 30.31), 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, ($p=0,028$) et ($p=0,019$) au cours du 24h, ($p=0,03$) et ($p=0,044$) au cours du 48h, ($p=0,026$) et ($p=0,032$) au cours du 72h chez *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* respectivement.

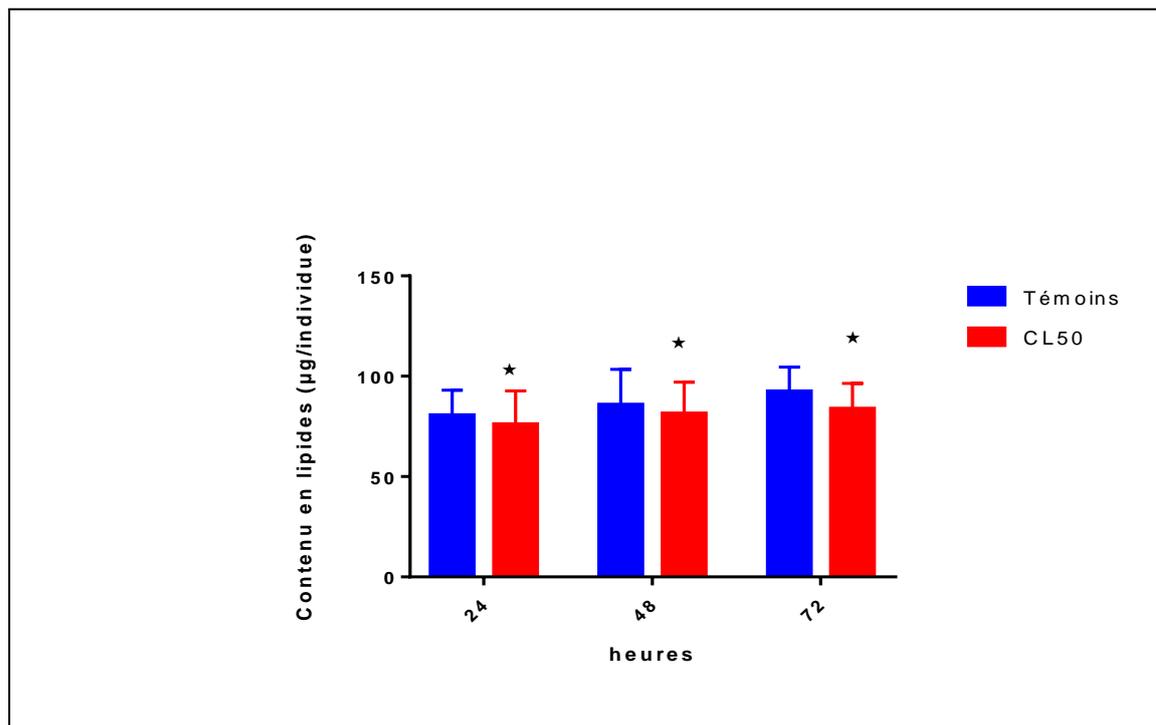


Figure 30: Effet des huiles essentielles de *Ruta graveolens* (CL50), sur le contenu en lipide ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de *Cs longiareolata* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative ($p < 0.05$).

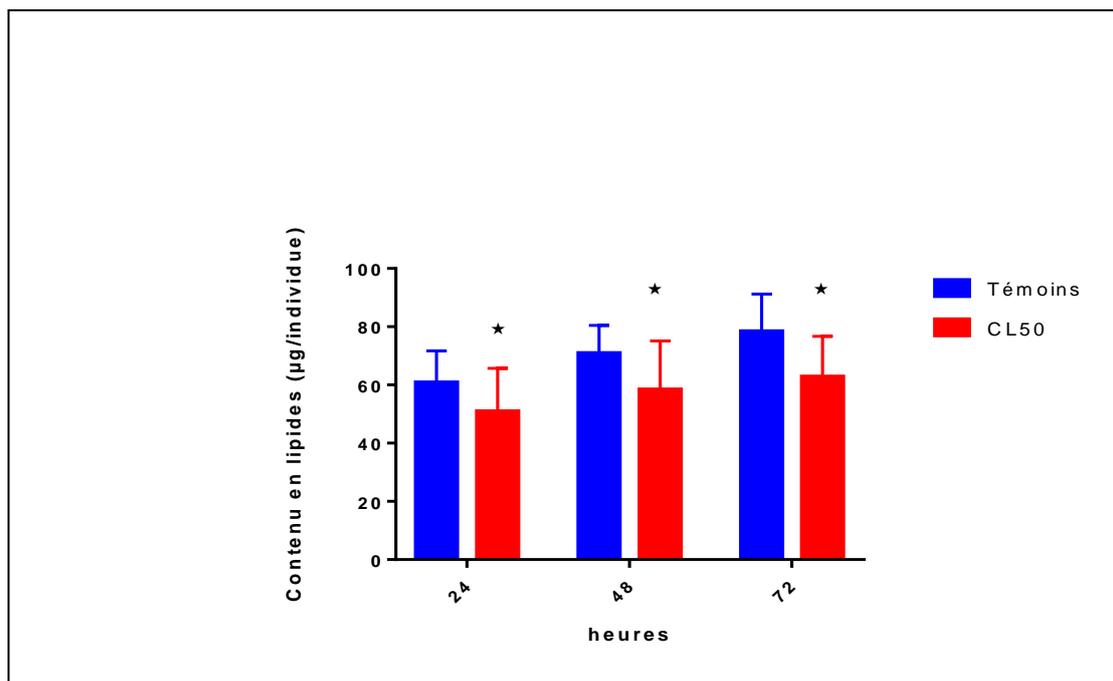


Figure 31: Effet des huiles essentielles de *Ruta graveolens* (CL50), sur le contenu en lipide (µg/individu) chez les pupes de *Cx pipiens* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative ($p < 0.05$).

Effet de l'huile essentielle de *Ruta graveolens* sur l'activité spécifique de la catalase

L'activité spécifique de la catalase a été estimée chez les séries témoins et traitées (DL50 et DL90) à différents périodes selon la technique de Claiborne (1985). Les résultats relatifs à l'activité spécifique de la catalase sont exprimés en micromoles par minutes et par milligramme de protéines (µM/min/mg de protéines). Les données du dosage sont représentées dans la **figure 32** Chez les séries témoins, les résultats obtenus montrent une augmentation non significative de l'activité spécifique de la catalase. Cependant, chez les séries traitées à la CL50, on note une augmentation significative ($p=0,032$, $p=0,022$ et $p=0,019$) de la catalase au cours de la période testée .

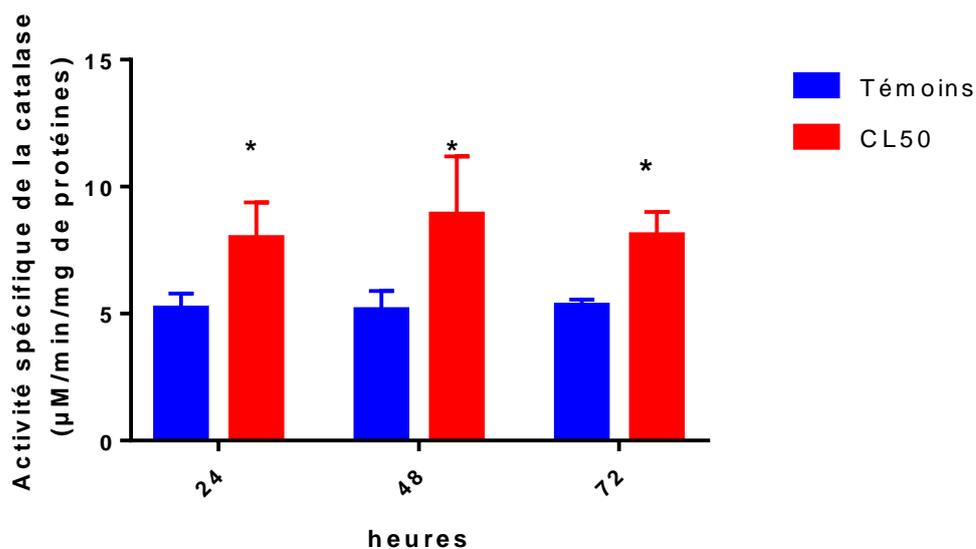


Figure 32: Effet des huiles essentielles de *Ruta graveolens* (CL50), sur l'activité spécifique de la catalase ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les pupes de *Cs longiareolata* ($m \pm SD$; $n = 3$ répétitions comportant chacune 10 individus), Différence significative ($p < 0.05$).

4.5. Anomalies morphologiques

L'examen des individus après traitement montre des aberrations morphologiques variées chez *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. On note un blocage de l'exuviation nymphale et imaginale qui se manifeste par une incapacité totale ou partielle des nymphes et des adultes à se dégager correctement des exuvies. De plus, d'autres malformations se manifestent, telles que la réduction de leur taille.



Figure33: Echec de la mue chez *Culex pipiens* (photo personnelle)



Figure34: réduction de leur taille des pupes (photo personnelle)



Discussion



5. Discussion

5.1. Rendement en huiles essentielles

L'extraction de l'huile essentielle à partir des parties aériennes de *Ruta graveolense* a été réalisée par hydrodistillation en utilisant un appareil type Clevenger. Sont couleur blanc avec une odeur agréable. Le rendement correspondant est de $1,440\pm 0,372\%$ par rapport à la plante sèche. (bouabida&dris 2020) et (Mannes & khediri 2018) obtiennent des teneurs en huile essentielle plus importante que celle obtenue au cours de ce travail $1,78\pm 0,07\%$ et $1,18\pm 0,055\%$ respectivement.

Le rendement des HE varie d'une plante à une autre et le fort taux est signalé chez l'*O. basilicum* avec une moyenne de $1,56\pm 0,15\%$, suivie de *M. piperita* ($1,46\pm 0,04\%$) et de *L. dentata* avec le plus faible rendement ($1,18\pm 0,05\%$) (Dris, 2018). Cette variation en huile essentielle, tant au niveau de leur composition, que rendement, peut s'expliquer par différents facteurs : d'origine intrinsèque, lié au bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de la croissance et du développement de la plante (Bouguerra, 2012). ce qui montre qu'il existe plusieurs facteurs influençant le rendement parmi eux on cite les facteurs géoclimatiques (la nature du sol, la température), la période de la récolte, la durée de séchage, le mode d'extraction et les parties de la plante utilisé (Fadil et al., 2015).

5.2. Toxicité des huiles essentielles extraites de *Ruta graveolens*

Notre étude a pour but de tester la toxicité des huiles essentielles extraites de *Ruta graveolens* à l'égard des pupes de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*, dont les résultats montrent une activité pupicide avec une relation dose – réponse.

L'activité pupicide de *Ruta graveolens* est d'une part, temps-dépendante du fait qu'il y'a une augmentation de mortalité en avançant dans le temps et, d'autre part, dose- dépendante du fait qu'il y'a une augmentation de mortalité avec l'augmentation des concentrations- tests

La CL25 a été calculée à 11,81 ppm (FL 95% = 6,885 à 18,1 ppm) et La CL50 était de 18.57ppm (FL 95% = 13,73 à 23,79 ppm) (Hill Slope = 2,429) de *Culiseta longiareolata* notre étude montre que l'huile essentielle de *Ruta graveolens* avait une DL50 de 24.99 (13,63 à 41,32) ppm et une DL25 de 13,17 (4,42 à 28,86) ppm un effet toxique contre pupes de *Culex pipiens* avec (Hill Slope = 1,716). Plusieurs travaux ont montré les propriétés larvicides de certaines huiles essentielles l'étude de (Bouabida & Dris, 2020) montre que le l'huile essentielle de *Ruta graveolens* avait une DL50 de 10.11ppm (8.64-11.72) ppm et une DL25 de 6.96 ppm (5.33-8.54) ppm un effet toxique contre larves de *Culiseta longiareolata*.

Dris et al., 2017 montrent que l'huile essentielle de *Lavandula dentata* L. (Lamiaceae) a un effet larvicide sur les larves de moustiques les valeurs de CL50 et CL90 par rapport aux larves du quatrième stade étaient de 77.09 et 104.45ppm pour *Cs. longiareolata* et 113,38 et 150,38 ppm pour *Cx. pipiens*. **Jonatas et al., 2015** montrent que l'huile essentielle des parties aériennes de *Rosmarinus officinalis* L, extraite par hydrodistillation possède un effet toxique contre *A. Aegypti*. Il a été observé que la nanoémulsion contenant de l'huile essentielle de *R. officinalis* a causé $80 \pm 10\%$ de mortalité après 24 h et $90 \pm 10\%$ de la mortalité après 48 heures. (**Soonwera & Phasomkusolsil, 2016**) montrent que l'huile de *Zanthoxylum limonella* a un effet toxique sur les moustiques. L'activité la plus élevée avec une mortalité adulte de 100% était trouvée en concentration de 10% contre les adultes d'*Ae. aegypti* et *Cx. quinquefasciatus* avec CL50 6,0% et 5,7% respectivement

5.3. Anomalies morphologiques

L'examen des individus après traitement montre des aberrations morphologiques variées chez *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*. On note un blocage de l'exuviation nymphale et imaginale qui se manifeste par une incapacité totale ou partielle des nymphes et des adultes à se dégager correctement des exuvies. De plus, d'autres malformations se manifestent, telles que la réduction de leur taille. Les mêmes résultats signalés chez les larves de *Cx. pipiens* dans les travaux de (Bouguerra & Boukoucha, 2021)

5.4. Effet d'HE de *Ruta graveolens* sur la composition biochimique du corps et de catalase

Dans les études physiologiques, la détermination des protéines totales et de nombreuses macromolécules chimiques, telles que les lipides et les glucides est important (**Yazdani et al., 2014**). Le dosage des principaux constituants réalisé sur le corps entier des pupes témoins et traités de *Cs longiareolata* et *Cx pipiens* révèle une modification des composants biochimiques comme les protéines les glucides et les lipides après traitement par les huiles essentielles de *Ruta graveolense* à différents temps 24, 48 et 72 heures

Au moment où l'insecte entre en contact avec l'insecticide, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint, plus ou moins rapidement, au niveau cellulaire, les protéines et les enzymes cibles dont il entrave le fonctionnement normal (**Haubruge & Amichot, 1998**).

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation, montrent que le traitement avec *Ruta graveolense* (CL50) chez *Cs longiareolata*, et *Cx pipiens* affecte le contenu en protéines, lipides et glucides.

Le traitement CL50 d'huile essentielle de *Ruta graveolens* provoque une réduction significative des taux de protéines, lipides et glucides observée à 24 h et 48 h et à 72 h par rapport à la série témoin.

Des travaux antérieurs ont montré une réduction significative du contenu en glucides chez les larves 4 et les pupes et une augmentation chez les adultes mâles et femelles des deux espèces traités avec les trois plantes *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* (Dris, 2018)

(Bouabida & Dris 2020) indique que l'exposition à la plante *Ruta graveolens* perturbe les constituants biochimiques en réduction, Des résultats similaires montrent que le traitement par *Petroselinum sativum* avec la CL25 et la CL50 chez *Cs longiareolata*, cause une variation non significative pour les larves 4, et affectent les larves 3 au cours de la période testée (Djellali, 2018). L'huile essentielle de *Ruta graveolens* provoque une augmentation chez les 2 espèces étudiées des résultats similaires a été observée par Dris, 2018 chez les larves de deux espèces de moustiques *Cs longiareolata* et *Cx pipiens*.



Conclusion



Conclusion

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

L'HE de *Ruta graveolens* présente un rendement de $1,440 \pm 0,372\%$ de la matière sèche de la partie aérienne.

Cette HE a été testée sur les pupes de deux espèces de moustiques d'un intérêt médical (*Culex pipiens*) et d'importance vétérinaire *Culiseta longiareolata*. Leur action a été évaluée sur plusieurs aspects : Toxicologique, biochimiques et l'effet sur un biomarqueur la catalase. Les essais toxicologiques ont permis de déterminer les concentrations létales (CL25, CL50 et CL90) des huiles extraites de *Ruta graveolens* des pupes nouvellement exuvies de *C. longiareolata* et *C. pipiens*. Elles révèlent que *C. pipiens* est l'espèce la plus résistante aux traitements appliqués comparativement à *C. longiareolata*.

L'HE extraite de *Ruta graveolens*, affecte les réserves énergétiques des pupes. Les résultats révèlent une diminution significative du contenu en protéines, glucides et lipides chez les individus de deux espèces étudiées.

La catalase a été également affectée par l'application d'HE extraite de *Ruta graveolens* en les augmentant chez les 2 espèces étudiées, suggérant une induction des processus de détoxification.

L'huile essentielle de *Ruta graveolens* présente donc des propriétés intéressantes. Ce résultat ouvre des perspectives intéressantes pour son application dans la production du biopesticide. L'HE montre une activité insecticide avec une relation concentration – réponse. Nous envisageons de poursuivre cette étude afin de préciser la nature des composés responsables de cette activité par fractionnement mené en parallèle avec les tests biologiques. La voie reste donc ouverte vers la découverte de nouvelles plantes et par la suite de nouvelles molécules à effet phytosanitaire. Il serait très important d'étendre les investigations à d'autres espèces de plantes pour voir l'effet de ces biopesticides sur d'autres insectes nuisibles.



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Auday ., Anbagi ., Mahdawi ., Mustafa,** (2021) .The Effect of Some Nanoparticles Fertilizers on the Chemical Characteristics of Growing *Ruta graveolens* L. Plant in invivo
- **Alcalay Y., Tsurim I., Ovadia,** (2019). Multi- scale oviposition site selection in Two mosquito species. *Ecological Entomology*, 44(3), 347-356.
- **Abagli Ayaba ., Thiery B., Calavo,** (2020). Potentialités insectifuges du gros baume, *Hyptis suaveolens* Poit. (Lamiaceae) : Perspectives pour la lutte contre les moustiques en zones tropicales. *Journal of Applied Biosciences* 149: 15330 – 15337
- **Azzouz Soumia ., Halib Samia,**(2017). Inventaire de la faune culcidiene dans les palmeraies de la région de Bou Saâda, des essais de lutte. Mémoire Du diplôme de Master Académique , Departement: science de la Nature et de la Vie, Universite Mohamed Boudiaf - M'Sila
- **Aitken., T. H. G,** (1954) . The culicidae of Sardinia and Corsica (Diptera). *Bull. Ent. Res.*, 45(3): 437-494
- **Amrutha Chacko., Priscilla Helen Christy., Kavya KS ,**(2015). Study on larvicidal activity of crude extracts of *Ruta graveolens* against *Aedes aegypti* and *Anopheles stephensi*. *International Journal of Mosquito Research* 2(4): 01-06. ISSN: 2348-5906
- **Benhissen S., Habbachi W., Rebbas K ., Masna F,** (2019). Bioactivite des extraits foliaires de *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) sur la mortalite des larves de *Culiseta longiareolata* (Diptera , Culicidae).*Vol. 20, No. 1 .1-10 p*
- **Bouabida Hayette., Dris Djemaa,**(2020). Effect of rue (*Ruta graveolens*) essential oil on mortality, development, biochemical and biomarkers of *Culiseta longiareolata*. *South African Journal of Botany* 133: 139 143
- **Bouderhem Aida,**(2014). Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*) . Mémoire de Master. Département de Biologie Cellulaire et Moléculaire. Université Echahid Hamma Lakhdar D'el-Oued
- **Bouabida Hayette,**(2014). Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiromesifène sur la reproduction de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* : aspects écologique et biochimique. Thèse de Doctorat, Departement de Biologie .Université Badji Mokhtar – Annaba

-
- **Boubendir Hayem .,Ladjal Sakhria,(2020).** Etude et valorisation de la composition chimique des huiles essentielles d'une plante médicinale de la wilaya de Jijel. Mémoire de Master en Chimie .Département de chimie.Université Mohammed Seddik Ben Yahia- Jijel

 - **Bachir Nassima,(2019).**Contribution à l'étude des propriétés des huiles essentielles extraites à partir des plantes médicinales utilisées contre l'anémie. Université Mohamed Khider de Biskra. Mémoire de Master . .Domaine des Sciences de la Matière Filière de Chimie

 - Belazizia Nedjoua .,Askri Mebarka,(2019).** Etude des activités antioxydante et antibactérienne de la plante *Ruta montana* L. Mémoire de Master. Département de Sciences de la Nature et de la Vie. Université El Arbi Ben M'Hidi-Oum El Bouaghi

 - Belghalem Asma, (2019).** Intérêt des huiles essentielles de *Romarinus Officinalis* dans la conservation de la mobilité des spermatozoïdes des mammifères et oiseaux .Mémoire de Master. Département de Sciences de la nature et de la vie. Université El Arbi Ben M'Hidi-Oum El Bouaghi

 - Bouderhem A, (2014)** .Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta Longiarealata*)

 - **Bouguerra Nadia., fouzia tine-djebbar.,noureddine soltani,(2018).**effect of *Thymus vulgaris*1.(Lamiales:Lamiaceae)essential oil on energy reserves and biomarkers in *Culex pipiens* 1(Dipteral:Culicidae) from Tébessa (Algeria), journal of essential oil bearing plants

 - **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.

 - **Bouguerra Nadia & Boukoucha Mourad,(2021).** GC–MS and GC-FID analyses, antimicrobial and insecticidal activities of *Origanum glandulosum* essential oil and their effect on biochemical content of *Cx pipiens* larvae. International Journal of Tropical Insect Science.

 - **Chahed Soumeya., Brahmi Karima., Djouaher Thinhinane,(2021).** Étude sur la faune Culicidienne (Diptera: Culicidae) de la région de Tizi-Ouzou (Nord d'Algérie) : Biodiversité, abondance et répartition. *Faunistic Entomology* -74.12p

- **Coraline Bichet**,(2012).Ecologie évolutive de la malaria aviaire : effets des caractéristiques de l'hôte et de l'environnement. Sciences agricoles . Université de Bourgogne. Français.
- **Césaire., Cabiéc**,(2018). Manifestations oculaires des arboviroses émergentes : dengue, chikungunya, infection à virus Zika, fièvre du Nil occidental et fièvre jaune.journal français d'ophtalmologie 41.659-668.
- **Charik Safia.,Kadri Yamina**,(2019). Criblage phytochimique et extraction des huiles essentielles de l'espèce *lavandula officinalis* .Mémoire de Master Académique .Département de chimie. Université Mohamed Boudiaf – M'Sila
- **Cristiane F. Lisboa, Evandro C. Melo, Antonio J. Demuner, Luis C. da Silva, Antonio P.S. Carneiro, Ana Paula F. Coelho.** (2020).Chemical composition of *Lippiaoriganoideskunt.* And *Ocimumgratissimum L.* essential oils stored at -20°C . Industrialo Corps & Products.
- **Claiborne, A.** (1985) Catalase activity. In: Greenwald RA (eds)*Handbook of Methods for Oxygen Radical Research* Boca Raton, FL: CRC 283–284 p.
- **Dris., Tine-Djebbar., Soltani**,(2017). *Lavandula dentata* essential oils: chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) Vol. 25, No. 2, 387–394p
- **Duchateau, G. & Florkin, M**,(1959). Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem.*, **67**: 306-314.
- **Dahchar Zineb., Fatiha Bendali-Saoudi., Noureddine Soltani**,(2016). Larvicidal activity of some plant extracts against two mosquito species *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. 4(4): 346-350p
- **Dris, (2018)**. Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes : *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). Thèse du Doctorat en sciences. Université Badji Mokhtar – Annaba
- **Dahchar Zineb**,(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. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Badji Mokhtar Annaba

- **Dahmani Amira., Nouioua Sara,**(2019). Inventaire de la faune culicidienne dans la région du Hodna. Mémoire de Master Académique. Département des sciences de la nature et de la vie. Université Mohamed Boudiaf – M'sila
- **Djellab Nour El Houda .,Fellah Fatma Zohra.,Merzoug Djahida ,(2019).** Effet antibactérien des huiles essentielles d'*Ammi visnaga* sur quelques espèces bactériennes. Département Biologie. Université Jilali Bounama
- **Eman A., Mahmoud., Hosam O., Elansary., Diao O., El Ansary et Fahed A., Al Mana,**(2020).Elevated Bioactivity of *Ruta graveolens* against Cancer Cells and Microbes Using Seaweeds.15p
- **Frouhat Z., Lahcini B.,** (2013), Biological control by the essential oil of *Rosmarinus officinalis*. Master's thesis, Kasdi Merbah Ouargla University.
- **França Orlanda., Nascimento ,(2015).** Chemical composition and antibacterial activity of *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) volatile oils, from São Luís, Maranhão, Brazil. J.F. South African Journal of Botany 99 :103–106
- **Fouzia Tine – Djebbar., Hayett Bouabida et Nourredine Soltani ,(2011).**Caractérisation Morphométrique et Biochimique de certaines espèces de moustiques inventoriées dans la région de tébessa , *Bull. Soc. Zool. Fr.*, 136(1-4) :177-185
- **Francis Schaffner ., Bruno Mathieu ,(2020).** Identifier un moustique : morphologie classique et nouvelles techniques moléculaires associées pour une taxonomie intégrée. N° 524. 25- 33 p
- Foster WoodbridgeA., Edward D.,Walker.**(2019).Mosquitoes(Culicidae).Medical and Veterinary Entomology.261-335p
- **Guemini Halima ., Zerdezi Djihane,**(2020). Inventaire systématique et diversité biologique des Culicidae (*Diptera : Nematocera*) dans la région de Meskiana (Nord est algérien). Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en Filière Ecologie et environnement, Université L'arbi Ben M'hidi-Oum El Bouaghi.93p
- **Guermi Asma ., Rhaim fatima zohra ,(2018).** Contribution à l'étude de la toxicité de deux plantes médicinales (*Rosmarinus officinalis* et *Artemisia herba alba*) sur les larves de culicidées dans la région de Oued souf. MEMOIRE de Master Académique en Sciences biologiques. Département de biologie. Université Echahid Hamma Lakhdar El –OUED

- **Goldsworthy, A. C., Mordue, W. et Guthkelch, J. (1972).** Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **18**: 306-314.
- **Helimi K., Zoghalmi H., (2017).** Etude préliminaire de l'activité insecticide de l'huile essentielle extraite à partir du *Petroselinum sativum* à l'égard des larves et des adultes d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* , (Doctoral dissertation).
- **Hatem.,Ibrahim , S.G. Sawires ., A.F. Hamza,(2018).** Morphological characterization and distribution of antennal sensilla of irradiated female mosquito, *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). with gamma radiation. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences xxx.* (1à8p)
- **Hadjadj Imane., Sersab Amina,(2018).** Diversité des espèces de Culicidés dans des gîtes hydriques à Ain Oussera (Djelfa). En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Parasitologie. Université Ziane Achour –Djelfa.80p
- **Hamaidia Houda.,Selima Berchi ,(2018).** Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Souk-Ahras (Algérie) – *Faunistic Entomology* 71.8p
- **Hammiche v., Azzouz M,(2013).** Les rues : ethnobotanique, phytopharmacologie et toxicité1. *Phytothérapie* 11:22-30
- **Houam Abderrahim .,Achouri Kaouther,(2019) .**Evaluation du potentiel larvicide d'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire de master. Université de Tébessa.
- **Jeanne Arline Rajaonarivelo., Marie-Jeanne Raherilalao ., Aristide Andrianarimisa., et Steven M. Goodman , (2019).** Répartition Verticale des arthropodes dans les forêt sèches occidentales malgaches.N° 144(1).P 3-39
- **Jonatas L., Duartea ., Jesús R., Amadoa., Anna E. Oliveiraa, Rodrigo S. Cruzb, Adriana. M., Ferreiraa, Raimundo N.P., Soutoc, Deborah Q., Falcãod, José C.T., Carvalho, Caio P., Fernandes, (2015) :**Evaluation of larvicidal activity of a nanoemulsion of *Rosmarinus officinalis* essential oil.
- JANET FANG. (2010).** Imagine un monde sans moustiques, Courrier international, numéro 1049, article traduit en français depuis un article publié en anglais dans la revue Nature,

466,432-434 (2010) : en Ecology : A world with out mosquitoes. **Jihane Amdouni , Federica Monaco , Ottavio Portanti ,Soufien**

- **Khalfaoui Laarem ., Belhaddad Khawla,(2019).** Caractérisation des habitats des moustiques (*Diptera, Culicidae*) dans la région de Bordj Bou Arreridj. Mémoire de Master . Département des Sciences Biologiques. Université Mohammed El Bachir El Ibrahimi B.B.A

- **Khaligh Fereshteh Ghahvechi., Abdollah Naghian., Shadiyeh Soltanbeiglou et Saber Gholizadeh ,(2020).** Autogeny in *Culiseta longiareolata* (Culicidae: Diptera) mosquitoes in laboratory conditions in Iran BMC Res Notes.1-16p

- **Linné c, (1758) .**systema naturae per regna fria naturae , edition 10 .holmia 1 :82

- **Laurent Julia,(2017).** Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine. These de Docteur en Pharmacie . Universite Paul Sabatier Toulouse III

- **Malik Aabid Hussain, Varsha Nitin Nathar.(2020) .**In Vitro Method of High-Frequency Plant 46 Regeneration Through Internodal Callusof *Ruta graveolens* L. **S. Malik (ed.)**. Essential Oil Research Trends in Biosynthesis, Analytics. Industrial Applications and Biotechnological Production .Brazil.

- **Merabti ., Boumaaza., Lebbouz., Ouakid,(2020) .** First record of the avian malaria vector *Cs. longiareolata* (Diptera: Culicidae) for the Southeast of Algeria. Journal of Applied Biosciences 154 p 15842 - 15861

- **Mena Fatima., Aissi Rima , (2019).** Contribution à l'étude de la biodiversité et l'écologie des moustiques dans les steppes, essais de lutte. Mémoire Du diplôme de Master Académique, Departement : science de la Nature et de la Vie, Universite Mohamed Boudiaf – M'sila

- **Mouna Ben Hadj Fredj ., Belsem Marzouk., Imed Chraief ., Kamel Boukef et Zohra Marzouk,(2007) .** Analysis of Tunisian *Ruta graveolens* L. oils from Jemmel. Journal of Food, Agriculture & Environment Vol.5 (1) : 52-55.

- **Mecheri Fatiha., Akdif Nardjesse,(2017).** Contribution à l'étude de l'effet des huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* et de *Ruta graveolens* sur la croissance des quelques microorganismes pathogènes. Mémoire de Master II en Biologie . Universite M'hamed Bougara de Boumerdes . Biotechnologie Microbienne

- **Merlea H., Donnioa A.,Jean-Charles A., Guyomarcha j ., Hagea R., Najjiullahb., Peach D. A.H., Poirier L.M,(2020).** New distribution records and range extensions of

mosquitoes (Diptera: Culicidae) in British Columbia and the Yukon Territory. J. Entomol. Soc. Brit. Columbia 117:69-47p

- **Mawussi, G,** (2008). Bilan environnemental de l'utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures de coton, café et cacao au Togo et recherche d'alternatives par l'évaluation du pouvoir insecticide d'extraits de plantes locales contre le scolyte du café (*Hypothenemus hampei* Ferrari). . Thèse de Doctorat. Université de Toulouse. 187 p.

-**Mayura Soonwera., Siriporn Phasomkusolsil,**(2016). Adulticidal, larvicidal, pupicidal and oviposition deterrent activities of essential oil from *Zanthoxylum limonella* Alston (Rutaceae) against *Aedes aegypt* (L.) and *Culex quinquefasciatus* (Say), Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine 2017; 7(11): 967–978

- **Nia Fatima zohra ., Nia Meriem,** (2019).Etude des insectes nuisibles (moustiques) dans la region de M'Sila avec des essais de lutte .Mémoire du Diplome de Master Académique , Département : Science de la Nature et de la Vie , Universite Mohamed Boudiaf – M'Sila

- **Nadia Tadjeddinea , Aicha Lassouanib,c & Ahmed Benabdallah Keddarid ,**(2021).Anti-microbial study of *Schinus molle* L. fruit essential oil western Algerian region Université Mustapha Stambouli, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, 29000 BP 375 Mascara, Algérie. ,RHAZES: Green and Applied Chemistry, Vol. 11, 2, 108~117

- **Parray Shabir Ahmad, , Jalal udin Bhat , Ghufan Ahmad , Najeeb Jahan , G Sofi , S M Faisal Iqbal.**(2012). *Ruta graveolens*: from Traditional System of Medicine to Modern Pharmacology: an Overview.American Journal of Pharmtech Research ;2(2) ISSN :2249-3387

-**Randrianjatovo Manambina Nomentsoa,**(2019). Utilization de la spectrometrie de masse maldi-tof pour la determination de l'age des moustiques vecteurs de maladie . Mémoire de Master II en GDINS. Departement d'Entomologie .Universite d'Antananarivo

- **Rajaa S., Abbas., Ibtisam K., Abd Ali., Israa A., Abdulwahab., Thekra A.,Ibrahim,**(2020). Evaluation the Effect of Alcoholic Extract of *Ruta graveolens* Plant on the Histological Structure of Lungs in the Rabbit. IJDDT, Volume 10 Issue 4 .612-616 p

- **Romain Pigeault., Danaé Bataillard.,Olivier Glaizot and Philippe Christe,**(2021). Effect of Neonicotinoid Exposure on the Life History Traits and Susceptibility to Plasmodium Infection on the Major Avian Malaria Vector *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). Parasitologia, 1, 20–33.

- **Souadkia Radhia , Boudraa Hafida** ,2019 . Révision sur la super-famille des Apoïdes (Arthropode, Insecte) dans quatre régions de l'Algérie (Batna, M'sila, Skikda et Tizi-Ouzou) (Mémoire de maîtrise, Ecologie des zones arides et semi aride, 77p
- Shahid Akbar.2020.** *Ruta graveolens* L. (Rutaceae) Handbook of 200 Medicinal Plants pp1567-1576
- Shamal Badhusha , Rupesh Kumar, Angitha Ajay, Blainy Baby, Abhishek, Sanjay K Gowda, B Ramesh.2020.** Traditional uses, Phytochemistry and Ethanopharmacology of *Ruta graveolens* Linn: A review. International Journal of Pharmaceutics and Drug Analysis. Vol: 8, Issue: 3, 1-4. ISSN: 2348:8948
- Tam T. Tran, Khuong Dinh Van, Lizanne Janssens et Robby Stoks (2019).** The effect of warming on pesticide toxicity is reversed between developmental stages in the mosquito *Culex pipiens*. Journal Pre-proofs
- **Trar Bouchra**, (2017).Les moustiques (insectes , diptères) du Maroc: Atlas de répartition et études épidémiologiques. Thèse de doctorat d'état. Université Mohammed Faculté des Sciences Rabat. N° d'ordre : 2970
- Tabti Fayza.(2015)** . Contribution à l'étude de la biodiversité et l'écologie des Culicides(Diptera, Culicidae) dans la région de Mghnia (Tlemcen) . mémoire de Master En Ecologie et environnement . Département d'Ecologie et Environnement. Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen
- Tchoumboungang, F., Dongmo, P.M.J., Sameza, M.L., Mbanjo, E.G.N., Fotso, G.B. T., Zello, P.H.A. & Menut, C. (2009).** Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 13 (1): 77-84.
- Tine-Djebbar, F., Bouabida, H., & Soltani, N. (2016).** Répartition spatio-temporelle des *Culicidés* dans la région de Tébessa: Inventaire des *Culicidés* dans la région de Tébessa(Nord-Est Algérien). Éditions universitaires européennes.
- **WIART C.(2006).** Medicinal Plants of the Asia – Pacific: Drugs for the future. . Ed: WORLD SCIENTIFIC . . p: 401 - 416.

- **William Noundou . (2020).**SURVEILLANCE OF CULEX AND AEADES MOSQUITOES IN LINCOLN, LANCASTER COUNTY, NEBRASKA, Dissertations and Student Research in Entomology.1-63p
- **Yaser Sharifi, ValiollahGhasemiOmran, Toktam Sadat Tavabe Ghavami, Gorban Ali NematzadehGharakhili4, , Mohammad Ali Ebrahimzadeh.** (2019).Effect of Salicylic acid on Phenols and flavonoids content and DPPH scavenging activity in cell suspension culture of Iranian sodab (*Ruta graveolens*). *Tabari Biomed Stu Res J.* 1(4):18-21.
- **Yazdani, E., Sendi, J.J., Aliakbar, A.R. & Senthil Nathan, S.** (2014). Effect of *Lavandula angustifolia* essential oil against lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker(Lep: Pyralidae) and identification of its major derivatives. *Pesticide Biochemistry Physiology* 107: 250-257.
- **Zaiadi I,** (2017),Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait hydroalcoolique d'*Artemisia herba-alba* à l'égard de *Culex pipiens*.Mémoire de master. Université de Tébessa.

