

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Ghardaïa



جامعة غرداية

Faculté des sciences de la nature
et de la vie et des sciences de la terre
Département des sciences agronomiques

كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الأرض
قسم العلوم الفلاحية

Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de
Master académique en sciences agronomiques
Spécialité : Protection des végétaux

THEME

Evaluation du pouvoir larvicides d'extrait foliaire aqueux de
Pergularia tomentosa L (Asclepoidaceae).

Présenté par

- BOUREGA Fatiha

Membres du jury

Grade

- M.SADINE Salah Eddine
- M.OULED LHADJ.M.D
- M.KEMASSSLA
- M.BEN SAMOUN.Y

- M A A
- P R
- M A A
- M A A

Président
Examineur
Encadreur
Co encadreur

JUIN 2013

Dédicace

★ **A la mimore de ma très chère sœur
Naima .**

★ **A mes parents .**

★ **A mes sœurs et mon frère.**

★ **A mon très cher cousin Boubakar.**

★ ★ **Ce modest travail est dédié** ★ ★ ★

Fatiha.

Remerciement

Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donné, la force, le courage, et la patience afin de réaliser ce travail.

Mes premiers remerciements à M. OULED LHDJ Mohamed Didi, professeur au département des sciences de la nature et de la vie à la faculté des sciences de la nature et de la vie et science de la terre et de l'univers de l'université KASDI MERBAH Ouargla pour avoir accepté d'encadrer ce travail.

J'adresse mes sincères remerciements à M. KEMASSI Abdallah (maître-assistant à la faculté de science de la nature et de la vie et science de la terre université de Ghardaïa) pour leur aide et leur orientation et dirigée ce travail.

Mes remerciements exprimés au jury M. SADINE Salah Eddine (maître-assistant à la faculté de science de la nature et de la vie et science de la terre université de Ghardaïa) pour l'honneur d'avoir accepté de présider le jury.

M. BEN SAMOUNE Youcef (maître-assistant à la faculté de science de la nature et de la vie et science de la terre université de Ghardaïa) pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Mes vifs remerciements au M. KHENE Bachir (chef de département des sciences agronomiques faculté de science de la nature et de la vie et science de la terre université de Ghardaïa).

Mes vifs remerciements à tous les enseignants de la faculté de science de la nature et de la vie et science de la terre qu'ils m'ont suivis durant mes études.

Et à tous qui m'ont aidés de près ou de loin trouvez ici mes remerciements.

Liste des Figures

Figure	Titre	Page
01	Cycle de vie des Culicidés. (MARGOT, 2010).	10
02	Exemple des trois principaux genres d'espèces vectrices de paludisme.	11
03	Développement de la résistance aux pesticides chez les insectes, pathogènes de plantes (parasites et champignons) et mauvaises herbes (Holt et Lebaron, 1990).	21
04	Dispositif d'étude.	35
05	Effets de l'extrait foliaire aqueux de <i>Pergolaria tomentosa</i> sur la mortalité des larves.	37
06	Cinétique de la mortalité cumulée observée chez les larves de <i>Culex pipiens</i> témoins et traitées par de l'extrait foliaire aqueux de <i>pergolaria tomentosa</i> .	42
07	Droite de régression des Probits en fonction des logs doses.	44
08	Relation entre les larves et l'extrait de plante en fonction du temp.	47

Liste des Photos

Photos	Titre	Page
01	Œufs d' <i>Anophèles</i> .	13
02	Œufs de <i>Culex</i> .	13
03	Larve du <i>Culex</i> .	14
04	Nymphes du genre <i>Culex</i> .	15
05	Adulte du genre <i>Culex</i> au moment d'émergence.	17
06	<i>Pergularia tomentosa</i> en floraison A; en végétation B. Oued Metlili, région de Ghardaïa. Avril 2013.	28
07	Montage pour l'extraction aqueux.	30
08	Étapes suivies pour la préparation des extraits végétaux. A, B= poudre végétal C= extraction ; d= filtration ; e= évaporation de méthanol ; f= extrait pure.	31
09	Lots expérimentaux.	32
10	Préparation de concentration.	32
11	Extrait aqueux pur de <i>P.tomentosa</i> .	32

Liste des Tableaux

Tableau	Titre	Page
01	Récapitulatif du mode de vie du moustique (OMS, 2003).	17
02	Principales maladies transmises par moustiques Becker <i>et al.</i> , (2010).	18
03	taux de mortalité cumulée observé chez les larves (L ₃) de <i>culex pipiens</i> .	39
04	Mortalités corrigée et probits correspondants en fonction de la concentration de l'extrait appliquée.	44
05	Équation de droite de régression, coefficient de régression et les valeurs de CL ₅₀ et CL ₉₀ pour l'extrait testé.	45
06	Equation des droites de régression, et les valeurs de temps TL ₅₀ et TL ₉₀ évalué par l'extrait de <i>Pergolaria tomentosa</i> .	46

Résumé

Evaluation du pouvoir larvicide d'extrait foliaire aqueux de *Pergularia tomentosa* L

Résumé

L'objectif de ce travail consiste à évaluer dans des conditions de laboratoire, l'effet larvicide de l'extrait aqueux de *Pergularia tomentosa* L (Asclepadiaceae) sur les larves de troisième stade de *Culex pipiens* (Diptera-Culicidae). Huit doses successives sont choisies afin de déterminer la concentration d'efficacité 50 et 90 soit 100, 75, 50, 25, 15, 10, 5, 1 %. L'extrait aqueux de *Pergularia tomentosa* est révélé toxique sur les larves de *Culex pipiens*; le taux de mortalité cumulée est de 100%, 100%, 100%, 83,33%, 53,33%, 40%, 36,66% et 16,67% respectivement. La concentration létale CL₅₀ et CL₉₀ évaluées sont de 0,007mg/ml et 0,023mg/ml respectivement. Les temps létaux 50 évalués montrent la rapidité d'action de cet extrait sur les larves de 3^e stade de *Culex pipiens*, il est d'environ 3 heures pour l'extrait à forte concentration et de quelques jours pour l'extrait à faible concentration.

Mot clés : *Culex pipiens*, larvicide, *Pergularia tomentosa*, extrait aqueux.

Evaluation of the power larvicide of the aqueous extract of *Pergularia tomentosa L*

Abstract

The objective of this work is to evaluate the laboratory conditions, the larvicidal effect of the aqueous extract of *Pergularia tomentosa L* (Asclepidaeae) on third-stage larvae of *Culex pipiens* (Diptera-Culicidae). Eight successive doses are selected to determine the effectiveness of concentration 50 and 90 and 90 is 100,75, 50, 25, 15, 10, 5, 1%. The aqueous extract of *Pergularia tomentosa* was toxic to the larvae of *Culex pipiens*, the cumulative mortality rate is 100%, 100%, 100%, 83.33%, 53.33%, 40%, 36.66% and 16, 67% respectively. The lethal concentration LC50 and LC90 are evaluated 0.007 mg / ml and 0.023 mg / ml respectively. Lethal time 50 show the measured speed of action of this extract on the 3rd stage larvae of *Culex pipiens*, it is about 3 hours to extract a high concentration and a few days to extract low concentration.

Keyword: *Culex pipiens*, larvicide *Pergularia tomentosa* ,aqueous extract.

تقييم قدرة المبيد الحشري للمستخلص المائي لأوراق نبات القلثة

ملخص

الهدف من هذا العمل هو التقييم في الظروف المخبرية تأثير المبيد الحشري للمستخلص المائي لأوراق نبات القلثة علي يرقات المرحلة الثالثة من بعوض الكلكس و قد تم اختيار ثمانية جرعات متتالية من اجل تحديد التراكيز الفعالة 50 و90 وهي 100، 75، 50، 25، 15، 10، 5، 1٪. كان المستخلص المائي لهد النبات ساما علي اليرقات حيث كان معدل الوفيات التراكمي كالتالي 100٪، 100٪، 100٪، 83.33٪، 53.33٪، 40٪، 36.66٪، و 16.67٪ علي التوالي قيمة التراكيز القاتلة 50 و90 كانت بمعدل 0.007 ملغ / مل و 0.023 ملغ / مل على التوالي . الوقت القاتل 50 بين سرعة تأثير هذا المستخلص ليرقات المرحلة 3 من بعوض الكولكس والذي قدر بحوالي 3 ساعات بالنسبة للتراكيز القوية وبضعة ايام بالنسبة للتراكيز المنخفضة.

الكلمات الدالة: بعوض الكلكس ، يرقات ، المرحلة الثالثة ، مستخلص مائي، نبات القلثة.

Sommaire

Dédicace	
Remerciement	
Liste des figures	
Liste des photos	
Liste des tableaux	
Résumé	
Introduction	02
Chapitre I- Généralité sur les moustiques.	
I-Présentation des moustiques.....	05
I-1 Systématique	05
II-Biologie et écologie des moustiques	06
II-1 Ecologie	06
II-1.2 Intérêt dans l'écosystème.....	07
II-2 Cycle biologique des moustiques.....	07
II-3 Morphologie et biologies des moustiques	11
II-3.1.L'Œuf	11
II-3.2. Larve.....	13
II-3.3. Nymphes.....	15
II-3.4. L'imago	15
III- Pathologie des moustiques.....	18
III-1. Moustiques, sources de nuisances et vecteurs d'agents pathogènes.....	18
IV- Lutte contre les moustiques	20
IV -1.Lutte chimique	20
IV -1.1.Résistance aux pesticides.....	21
IV -2. Lutte biologique.....	22
IV -3. Méthode écologique.....	23
IV -4. Méthodes génétiques	23
Chapitre II- Matériel et méthodes.	
Introduction	26
II-1.Matériel d'étude.....	26
II-1.1 Matériel biologique.....	26
II-1.1.1 Choix de plante.....	27
II-1.1.2 <i>Pergolaria tomentosa</i>	27
II-1.3 Elvage des insectes	28
II. 2.- Matériel utilisé au laboratoire	28
II.3.-Méthodologie adopté	29
II.3.1.Préparation d'extrait aqueux	29
II.3.2.-Teste biologique.....	31
II.3.3.- Constitution des lots expérimentaux.....	32
II .4.- M méthode d'exploitation des résultats.....	33
II.4.1. Taux de mortalité.....	33

II.4.2.- Concentration d'efficacité (CE ₅₀).	33
II.4.3- Calcul de temps léthal 50 (TL ₅₀).	33
Chapitre III- Résultats et discussion.	
III-1.Effet de l'extrait foliaire aqueux de <i>pergolaria tomentosa</i> sur la mortalité.....	37
III-2. Cinétique de la mortalité cumulée observée chez les larves de <i>culex pipiens</i> témoins et traitées par de l'extrait foliaire aqueux de <i>pergolaria tomentosa</i>	40
III-3.Efficacité larvicide de l'extrait foliaire aqueux de <i>P.tomentosa</i> sur les larves <i>Culex pipiens</i>	43
III-4. Temps létaux 50 de l'extrait foliaire aqueux de <i>Pergolatia tomentosa</i> sur les larves de <i>culex pipiens</i>	45
IV.Conclusion	50
Références bibliographique	53

Introduction

Introduction

Dans la filière agricole beaucoup d'espèces de Diptères Nématocères peuvent s'attaquer aux végétaux cultivés et provoquer des diminutions de rendement lors des récoltes dans des proportions notables. C'est le cas de beaucoup d'espèces de Cecidomyiidae qui provoquent la formation de galles et de déformations foliaires. Les larves des Tipulidae, autre famille voisine, rongent les racines de diverses graminées et dévorent les semences et graines en voie de germination. Elles peuvent être nuisibles à l'égard des céréales comme le maïs, du chou et diverses autres cultures. (MATILE, 1993).

Animaux ravageurs, plantes parasites, micro-organismes pathogènes (bactéries, champignons, mycoplasmes, virus), insectes et nématodes sont responsables, chaque année, de la perte de 20 à 40% du rendement des cultures avant récolte (selon l'Organisation Mondiale de la Santé), et entre 1 et 20% après récolte aux USA (WOJCIEH et LISE 2002). Actuellement, ce sont essentiellement des pesticides de synthèse qui sont utilisés pour lutter contre ces agents ravageurs. Ces produits chimiques bien que efficaces, sont toxiques et présentent des conséquences néfastes sur les écosystèmes naturels ; l'accumulation de résidus et la pollution des sols, l'apparition et la généralisation des mécanismes de résistance chez les pathogènes, le déséquilibre écologique, dû au fait que beaucoup de ces composés de synthèse ont un large spectre d'action, détruisant non seulement les agents nuisibles, mais également les autres populations de l'écosystème (KOUASSI, 2001; THAKORE 2006).

Au regard de ces inconvénients, il est important de trouver des solutions alternatives qui permettront de continuer à lutter contre les phytopathogènes tout en diminuant l'emploi de produits chimiques. Celles-ci peuvent faire appel à la rationalisation des pratiques agricoles (fumigation-stérilisation en horticulture, désinfection des graines, rotation des cultures, contrôle du vecteur de la maladie...), à l'utilisation de variétés végétales résistantes (croisements sélectifs, insertion de gènes...) ou au développement des biopesticides. Ces biopesticides ou agents de lutte biologique, peuvent être définis comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un

organisme vivant ou l'un de ses dérivés. Ils peuvent donc être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes) ou de micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis d'agents phytopathogènes, mais aussi de substances d'origine naturelle telles que des extraits végétaux, phéromones, etc.... (THAKORE, 2006).

La présente étude comporte trois parties. Le premier chapitre est consacré à une généralité sur les moustiques de point de vue biologique, écologique, morphologique, et épidémiologique. Le second chapitre explique la méthodologie adoptée pour la partie expérimentale. Le troisième chapitre regroupe l'ensemble des résultats qui seront suivis d'une discussion et d'une conclusion et perspectives qui est un ensemble de réflexion achève ce travail.

Chapitre I

Généralité sur les moustiques

I. Présentation des moustiques

Les moustiques appartiennent à la classe des Insectes, l'ordre des Diptères, et à la famille des Culicidae. Qui est divisée en trois sous famille (ROTH, 1980). Les femelles sont en général hématophages. Les mâles, par contre se nourrissent de jus sucré de nectar. Les moustiques présentent au cours de leur développement une phase aquatique et une phase aérienne. Les moustiques se distinguent des autres diptères piqueurs par leur long corps grêle, leurs longues pattes et leurs pièces buccales en forme d'aiguille (OMS, 1999).

Les moustiques sont observées partout autour du globe, excepte dans les zones gelées en permanence. Nous référençons aujourd'hui plus de 3500 espèces (MARQUARDT *et al.*, 2005). Les moustiques sont capables de s'adapter à diverses conditions climatiques ou à des changements de conditions environnementales (CLEMENTS, 2000 ; BECKER *et al.*, 2010) et donc de coloniser des écosystèmes très variés. Ainsi, on trouve des moustiques depuis les tropiques jusqu'au cercle arctique, des basses altitudes jusqu'au sommet des montagnes et sur tous les continents à l'exception de l'Antarctique. Ils colonisent la plupart des habitats aquatiques. Les sites de ponte des moustiques peuvent être extrêmement variés. Ainsi, les larves de moustiques peuvent être présentes dans des étendues d'eau permanentes ou temporaires, fortement polluées ou pures, grandes ou petites; même les plus petites accumulations d'eau dans les seaux, vases, pneus, empreintes de pas sont des habitats potentiels pour les larves (CLEMENTS, 2000).

I.1. Systématique

La famille des Culicidae est divisée en trois sous-familles; les Culicinae, Anophelinae et les Toxorhynchetinae et en 37 genres. On dénombre environ 3200 espèces dans le monde (KNIGHT ET STONE, 1977).

Règne	Animal
Embranchement	Arthropodes
Sous-embranchement	Antennates
Classe	Insectes
Sous-classe	Ptérygotes
Section	Oligonéoptères
Super ordre	Mécoptéroïdes
Ordre	Diptères
Sous-ordre	Nématocères
Famille	Culicidae

II. Biologie et écologie des moustiques

II.1.- Écologie

Les gîtes sont des collections d'eau plus ou moins calmes dans lesquelles les stades pré imaginaires des moustiques (œufs, larves et nymphes) peuvent se développer. On peut citer les milieux rizicoles, les marres d'eau, les caniveaux, les flaques d'eau, les marécages, les lagunes, les boîtes de conserves vides etc. Chaque espèce préfère une variété bien déterminée de surface aquatique pour déposer ses œufs. Les stades pré imaginaires des anophèles se développent par exemple dans les gîtes tels que flaques d'eau, ruisseaux, marres, étangs (MINAKAWA *et al.*, 1999; 2002). L'abondance des stades larvaires dans les gîtes est en fonction des facteurs physicochimiques tels que la température, la composition chimique de l'eau du gîte, les mouvements de l'eau et la pollution (HERREL *et al.*, 2001).

Le classement écologique des moustiques distingue 3 groupes, le groupe des moustiques domestiques: qui passent la plus grande partie de leur vie dans les habitations humaines ou les écuries, le groupe des moustiques sub-domestiques qui ne pénètrent dans les maisons que pour se nourrir et regagnent ensuite leurs gîtes extérieurs (trous d'arbres,

sous feuilles, roches...), enfin un groupe dit de moustiques sauvages qui ne pénètrent jamais dans les habitations. (HIMMI *et al.*, 1995).

II.1.2.- Intérêts dans l'écosystème

Le moustique représente un maillon essentiel dans le fonctionnement d'un Écosystème aquatique. En effet, par sa présence en grand nombre, il représente une biomasse importante dont se nourrissent de nombreux organismes (batraciens, poissons, insectes...). Ils sont ainsi un maillon important de la chaîne trophique des zones humides. De plus, de part leur régime alimentaire, les larves participent au processus de la destruction de la matière organique. Leur régime omnivore, avec l'ingestion de feuilles en décomposition par exemple, accélère la décomposition de la matière organique dans les écosystèmes aquatiques (SEBASTIEN, 2006).

Au stade adulte, il est indéniable que le rôle vecteur du moustique est prépondérant dans notre environnement. En effet il est à lui seul responsable de la transmission de plus de 100 types de microorganismes. Aujourd'hui, nous ne connaissons pas d'effets a priori positifs dans la transmission de ces microorganismes. Par contre, nous percevons plus facilement son rôle néfaste dans la transmission des maladies (SEBASTIEN, 2006).

II.2. Cycle biologique du moustique

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze (12) à vingt (20) jours et comprend quatre (4) stades successive: l'œuf, la larve, la nymphe (pupe) et l'adulte (ADISSO ET ALIA, 2005).

Cette métamorphose se déroule en deux phases, une phase aquatique et une phase aérienne. La phase aquatique débute quelques jours après la fécondation, suivant les espèces, les œufs de diverses formes (fusiformes, allongés, renflés dans leur milieu et parfois munis de minuscules flotteurs latéraux) sont pondus par la femelle dans différents

milieux. La ponte est souvent de l'ordre de 100 à 400 œufs et le stade ovulaire dure deux à trois jours selon les conditions de température du milieu (20° chez le genre *Culex*), pH de l'eau, nature et abondance de la végétation aquatique. La taille d'un œuf est d'environ 0,5 mm (RODHAIN ET PEREZ, 1985).

A maturité les œufs éclosent et donnent des larves de stade 1 (1 à 2mm) qui, jusqu'au stade 4 (1,5cm) (la stade larvaire dure de 1 semaine jusqu'à 1 mois selon la T^0 et la nourriture) se nourrissent de matières organiques, de microorganismes et même des proies vivantes (pour les espèces carnassières). Malgré leur évolution aquatique, les larves de moustiques ont une respiration aérienne qui se fait à l'aide de stigmates respiratoires ou d'un siphon. La larve de stade 4 est bien visible à l'œil nu par sa taille. Elle a une tête, qui porte latéralement des taches oculaires et deux antennes. Viennent ensuite le thorax et l'abdomen. (RODHAIN ET PEREZ, 1985).

Au bout de six (6) à dix (10) jours et plus, selon la température de l'eau et la disponibilité en nourriture, la quatrième mue donne naissance à une nymphe c'est la nymphose (GUILLAUMOT, 2006). Généralement sous forme de virgule ou d'un point d'interrogation, la nymphe, mobile, ne se nourrit pas durant tout le stade nymphal (phase de métamorphose) qui dure un (1) à cinq (5) jours. Elle remonte de temps à autre à la surface de l'eau pour respirer et plonge vers le fond, dès qu'elle est dérangée. A la fin de ce stade, la nymphe s'étire, son tégument se fend dorsalement et, très lentement, le moustique adulte (imago) s'extirpe de l'exuvie c'est l'émergence, qui dure environ quinze (15) minutes au cours desquelles l'insecte se trouve exposé sans défense face à de nombreux prédateurs de surface (RODHAIN ET PEREZ, 1985).

Pendant la phase aérienne les adultes des deux sexes s'accouplent en vol ou dans la végétation à une distance de vol de un à deux km. Grâce aux longs poils dressés sur leurs antennes, les mâles peuvent percevoir le bourdonnement produit par le battement rapide des ailes des femelles, qui s'approchent des essaims lors du vol nuptial. A ce moment, le mâle féconde la femelle en lui laissant un stock de sa semence (spermatozoïdes). La femelle conserve la semence du mâle dans une ampoule globulaire

ou vésicule d'entreposage (spermathèque), elle ne s'accouple donc qu'une seule fois (DARRIET, 1998).

Les adultes mâles et femelles se nourrissent de jus sucrés de nectars et d'autres sécrétions végétales. Pourtant, une fois fécondées, les femelles partent en quête d'un repas sanguin duquel, elles retirent les protéines nécessaires pour la maturation des œufs. Ce repas sanguin prélevé sur un vertébré (mammifère, amphibien, oiseau) (GUILLAUMOT, 2006).

Dès que la femelle est gravide, elle se met en quête d'un gîte de ponte adéquat pour le développement de ses larves. La ponte a lieu généralement au crépuscule, le gîte larvaire est une eau stagnante ou à faible courant, douce ou salée (AYITCHEDJI, 1990). Selon Iroko (1994), le sang, l'eau et une température d'au moins 18°C sont les trois conditions nécessaires, pour la reproduction et le développement de certains moustiques.

La femelle du moustique est généralement plus grosse que le mâle avec des antennes discrètes et ornées d'un petit nombre de soies. Celles du mâle sont plumeuses touffues et munies de soies longues. Les moustiques mâles pour la plupart du temps se déplacent moins du gîte larvaire, à l'opposé des femelles qui sont très mobiles vers les habitations (OMS, 2003).

L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau. Les moustiques comme beaucoup d'insectes, se nourrissent de pollen et de nectar, et ont de ce fait un rôle comme pollinisateurs dans les écosystèmes. 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. L'accouplement s'effectue quelques jours après l'émergence des adultes et les spermatozoïdes sont stockés par les femelles jusqu'à la ponte des œufs. C'est une fois fécondées que les femelles vont effectuer un repas de sang en piquant principalement des humains ou d'autres vertébrés. La fécondation des œufs se produit lors de la ponte, puis les embryons deviennent matures dans les œufs avant l'éclosion (MARGOT, 2010).

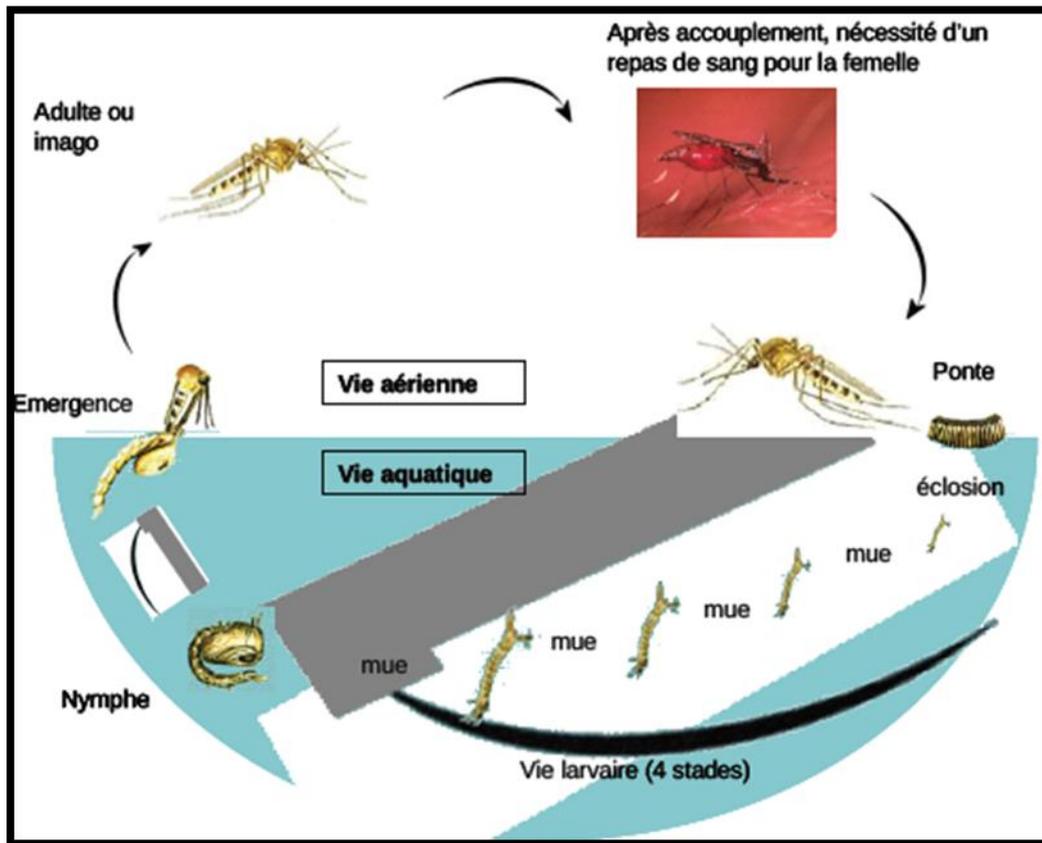


Figure 1 : Cycle de vie des Culicidés (MARGOT, 2010)

La vie du moustique est composée de 3 stades distincts: les stades larvaire, nymphal (tous deux aquatiques) et le stade adulte (aérien). Le stade larvaire est composé de 4 étapes différentes (nommées simplement stade 1, 2, 3 et 4), séparées par 4 mues. La durée du stade larvaire dépend essentiellement de la température et des ressources alimentaires. Le stade nymphal, après une mue de la larve de stade 4, se caractérise par le fait que l'organisme ne se nourrit pas. Enfin, l'éclosion de la nymphe conduit à l'imago (SEBASTIEN, 2006).

Toutes les espèces de moustiques sont des insectes à métamorphose complète (CLEMENTS, 2000), ou holométabole, c'est-à-dire que la larve ne ressemble pas à l'adulte. Ils ont au cours de leur cycle de vie une première vie aquatique (les stades immatures) puis après la métamorphose une vie aérienne (les adultes). Seules les femelles sont hémato-phages. Chez la plupart des espèces, la femelle a besoin d'un repas sanguin pour porter ses œufs à maturité. Les œufs deviennent des larves, puis des nymphes. L'émergence marque le passage de la vie aquatique à la vie aérienne.

Après l'émergence se déroule l'accouplement, puis les femelles effectuent le cycle trophogonique, puis la ponte des œufs. Les différents stades du cycle de vie des moustiques sont détaillés ci-après (Figure1). Ce cycle de vie est commun à toutes les espèces de moustique. Le comportement et la façon de transiter d'un état physiologique à l'autre dépendent du genre, voire de l'espèce, ainsi que de la localisation géographique. Les trois principaux genres vecteurs sont: *Aedes*, *Anopheles*, et *Culex* (CAILLY, 2011).



Figure 2-Exemple des trois principaux genres d'espèces vectrices.

Anopheles gambiae - paludisme (a) ; *Culex pipiens* - fièvre du Nil Occidental (b); *Aedes aegypti* - dengue (c).

(<http://phil.cdc.gov/phil/home.asp>)

II.3 Morphologie et biologie des Culicidae

II.3.1.L'Œuf

Généralement l'œuf des Culicidae est fusiforme, il mesure environ 1mm de long et il est blanchâtre au moment de la ponte (ANONYME, 2000). Dans les premières heures qui suivent la ponte, la coloration devient grise ou noire de jais, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque, au contact de l'eau ou de l'air (SINEGRE, 1974). Il est entouré d'une épaisse coquille pourvue au pôle antérieur d'un micropyle. Classiquement l'œuf de Culicidae comprend de l'intérieur vers l'extérieur: l'embryon, la membrane vitelline pellucide, l'endochorion épais l'exo-chorion plus ou moins pigmenté, gaufré ou aréolé (RIOUX, 1958).

Les œufs pondus à la surface de l'eau sont insubmersible grâce à des flotteurs (*Anopheles*) à une collerette (*Orthopodomyia*) ou à leur arrangement en nacelle (*Culex*) (ANONYME, 2000). Les œufs sont déposés sur le substrat humide (*Aedes*) ou à la surface de l'eau, soit isolément (genres *Aedes* et *Anopheles*) soit regroupés dans des masses ayant la forme d'une nacelle (genres de *Culex*, *Culiseta*, *Uranotaenia*, *Orthopodomyia* et *Mansonia*). Les deux types flottent grâce au phénomène de tension superficielle (*Aedes*, *Culex*) ou au système de « Flotteurs » latéraux (*Anopheles*) (HIMMI, 1995).

Les gîtes larvaires susceptibles de recevoir des pontes suivant les espèces. Une classification écologique des biotopes larvaires du littoral méditerranéen est proposée par Rioux (1958) et distingue les gîtes exigus dits sténotopes, des gîtes de vaste étendue dits eurytopes. Ces groupements comprennent des gîtes permanents et temporaires, que l'on différencie selon l'importance de leur couverture, en biotope ombragés (Sciaphiles) ou ensoleillés (Héliophiles), et selon les caractéristiques chimiques de l'eau douce (Dulçaquicole) ou salé (Halobiotique) (BERCHI, 2000).

Pour les moustiques, la nature de l'eau est un élément caractérisant le milieu dans lequel évoluent les stades pré-imaginaux. En effet, le gîte larvaire des Culicidae est lié aux caractéristiques physico-chimiques de l'eau qui reste déterminant dans la distribution et l'abondance des espèces à l'échelle du biotope. Par ailleurs, le rôle des caractéristiques pédologiques des gîtes larvaires intervient dans l'attraction ou la stimulation des femelles (BERCHI, 2000).

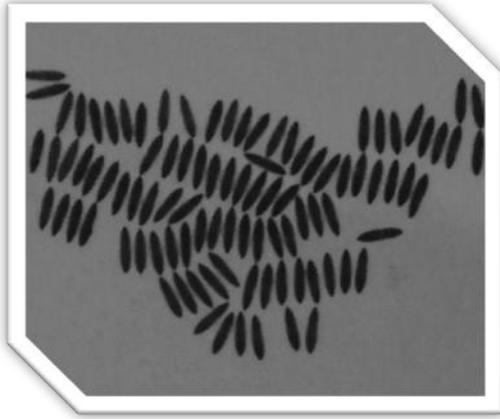


Photo 01- Oeufs d'*Anopheles*
(BEN HISSAN 2010).



Photo 02- Oeufs du *Culex*
(BEN HISSAN 2010).

II.3.2- Larve

Les larves des moustiques sont distinguées de la plupart des autres insectes aquatiques par la particularité de la forme de la tête, thorax et l'abdomen. Toutes les larves des moustiques ont besoin d'eau pour se développer, les larves des moustiques ne peuvent résister à la dessiccation. Les larves sont le plus souvent détritiphages mais certaines sont prédatrices ou même cannibales. Elles se déplacent par saccades et se nourrissent généralement par filtration, soit à la surface, soit au fond du gîte larvaire (HIMMI, 1995). Pour se nourrir, la larve agite rapidement et régulièrement ses brosses mandibulaires (palpes rotatoires) sous la forme de petites houppes (PAUL-ANDRE, 2001).

Les mues larvaires des Culicidés sont au nombre de quatre; les trois premiers stades présentent généralement des caractères chétotaxiques variables, ne permettant pas une identification sûre des espèces, en pratique, la morphologie larvaire la plus couramment décrite est celle de quatrième stade (HIMMI, 1995). Le corps de la larve est subdivisé en trois parties bien distinctes :

La Tête : se compose de trois plaques chitineuses, l'une dorsale impaire et médiane, le fronto-clypeus, les deux autres latérales et symétriques. La tête incluse dans une capsule

scélératinisée (ZAIDI ET AISSAOUI,2007). Les pièces buccales sont de type broyeur, avec des mandibules mobiles transversales, constituées de longues soies courbes, ayant un rôle préhensile. Les antennes, insérées sur les cotés, sont généralement longues et spéculées, elles portent une touffe de soies largement utilisée en systématique. (HIMMI, 1995).

Le Thorax : De forme trapue et dépourvus d'appendice, il est subdivisé théoriquement en pro, méso et métathorax. Il se présente comme une masse sphérique légèrement aplatie dorso-ventralement, la seule indication externe de la segmentation du thorax, est l'arrangement de certains groupes de soies pro, méso et métathoraciques, ces groupes des soies son raides et disposées en éventail. (HIMMI *et al*, 1998).

L'abdomen : Plus souple que le thorax, l'abdomen des larves des culicidés se compose de neuf segments. A la partie dorsale du huitième segment se situent les orifices stigmatiques : sessiles chez les *Anophelini*, ils s'ouvrent à l'extrémité d'un tube chitineuse ou siphon chez les *Culicini*. Le neuvième segment donne insertion au système complexe des soies anales ainsi qu'à deux d'appendices hyalins, les papilles encadrant elles-mêmes l'orifice anal. Le siphon plus ou mois allongé selon les espèces, facilite la respiration de la larve (ANONYME, 2000).



Photo 03- Larve du *Culex* (BEN HISSAN 2010).

II.3.3.- Nymphe

Les transformations qui permettent au moustique de passer du milieu aquatique au milieu terrestre débutent à la fin du développement larvaire par la lyse des muscles et se poursuivent chez la nymphe par l'élaboration d'un système totalement nouveau. Ce stade est de courte durée ne dépassant pas quatre jours. La nymphe a une forme de virgule. Elle ne se nourrit pas, elle puise dans les réserves stockées au stade larvaire. Elle respire par l'intermédiaire de deux trompettes situées sur le céphalo- thorax (HIMMI *et al.*, 1995).

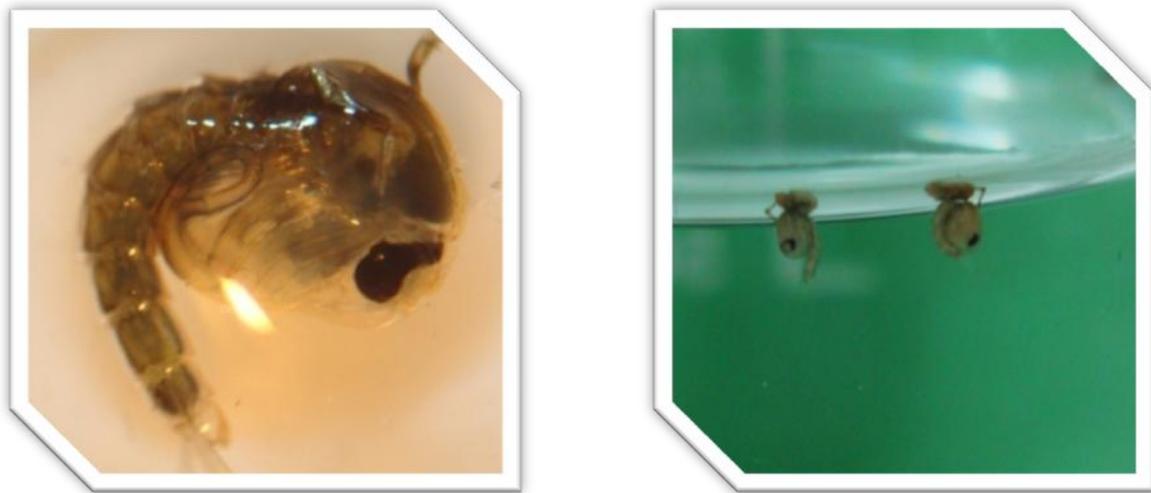


Photo 04- Nymphes du genre *Culex* (BEN HISSAN 2010).

II.3.4.- Imago

La morphologie de la femelle du moustique diffère largement de celle du mâle. Pour la plupart des espèces, l'antenne du mâle est beaucoup plus velue que celle de la femelle, elle est décrite souvent comme étant «plumeuse». La femelle est, quant à elle, dotée d'une antenne recouverte d'une quantité limitée de poils. Avant de s'accoupler, le mâle trouve une femelle de la même espèce en utilisant les battements d'ailes. Après l'accouplement, la femelle part à la recherche d'un repas sanguin afin d'utiliser les protéines sanguines pour assurer le développement de ses œufs. Elle se sert de ses

récepteurs qui se trouvent sur son antenne pour détecter l'odeur; la chaleur et même le son. Elle repère le dioxyde de carbone de l'air que nous expirons grâce à ces récepteurs qui se situent principalement sur ses palpes (la partie protubérante de la mandibule servant à toucher et sentir). Son antenne est dotée d'autres récepteurs pour capter les odeurs et la chaleur. L'adulte qui vient d'émerger est plus mou en générale avant de s'envoler, il reste à la surface jusqu'à ce que ses ailes et son corps sèche et durcissent. Les mâles émergent souvent avant les femelle, car il leur en faut d'avantage de temps pour développer leur glande sexuelle. En générale, la durée du cycle biologique des moustiques adultes varie d'une semaine à plus d'une trentaine de jours, certains individus ont vécu deux mois en élevage, les femelles vivent plus longtemps que les mâles qui meurent peu après l'accouplement (MERABET, 2010), Les trois parties du corps de l'adulte sont bien distinctes :

Tête : De forme générale globuleuse, elle porte des yeux à facette, volumineux et presque jointifs (séparés par une bande frontale étroite) souvent de couleur bleue ou vert métallique ; une partie d'antenne à quinze segments plumeuse chez le mâle, presque glabres chez la femelle (RUSSEL *et al.*, 1963).

Thorax : porte divers sclérites, a fait l'objet de nombreuses études ; parmi les principaux auteurs, il faut citer (HOWARD *et al.*, 1912) ; CHRISTOPHERS (1915 ;1933 ;1960). Le thorax des moustiques adultes assez globuleux, comportant trois segments soudés : pro-, méso et métathorax formé chacun d'une partie dorsale (tergum), et une partie ventrale (sternum), les pièces latérales étant les pleures. Sur chacun de ces segments s'insère une paire de pattes. D'autre part, le mésothorax, très développé, porte une paire de stigmates, une paire d'aile et un prolongement postérieur et dorsal : le scutellum. Le métathorax porte lui une paire de stigmates et une paire de balancier ou altère. Chaque patte comprend, de sa base à son extrémité distale, la hanche ou coxa, le trochanter indistinct, le fémur, le tibia, et un tarse de cinq articles, dont le dernier porte deux griffes et parfois un empodium et deux pulvilles. Les ailes comportent trois parties deux proximales et réduites une autre plus distale et beaucoup plus étendue (RIOUX, 1958; MATTINGLY, 1971).in (MERABET .2010).

Abdomen : est composé de neuf segments apparents, les sept premiers sont à peu près semblable, le huitième segment porte les organes respiratoires. Une partie de segment se situe au fond d'une cupule hydrofuge chez les *Anopheles*, ou siphon dorsale chez les genres *Culex* et *Aedes*, ce siphon porte chez le genre *Mansonia* de fortes dents destinées à perforer les plantes aquatiques pour y puiser l'oxygène pour les autres genres, il compte deux types de formations utiles en systématique : Le peigne et les soies siphonales. La face latérale du huitième segment présente une formation particulière appelée cadre ou peigne, constitué chez les *Culex* et *Aedes* d'écailles ou d'épines implantées séparément chez *Culex*, *Aedes*, *Culisita*, *Orthopodomyia*, et regroupé en plaque chitineuse chez *Uranotaenia*, et les *Anopheles*, il existe aussi une paire de plaques bordées distalement d'épine connue sous le nom de peigne, homologue aux *Culex* et *Aedes* (RODHAIN & PEREZ, 1985).



Photo 05- Adulte du genre *Culex* au moment d'émergence (BEN HISSAN 2010).

Tableau 1-Récapitulatif du mode de vie du moustique (OMS, 2003).

Formes	Milieu de vie	Alimentation	La taille	Durée de vie
œuf	aquatique	/	d'environ 0,5 mm	deux à trois jours
Larve	aquatique	matières organiques, de microorganismes	de stade 1 (1 à 2 mm) à stade 4 (1,5 cm)	six à dix jours et plus

Nymphe ou Pupe	aquatique	ne se nourrit pas	sous forme de virgule ou d'un point d'interrogation,	dure un à cinq jours
Adulte	aérienne	jus sucrés, de nectars et d'autres sécrétions végétales, les femelles partent en quête d'un repas sanguin pour la maturation des œufs	de 5 à 20 mm	3 à 4 semaines.

III. Pathologie des moustiques

III.1. Moustiques, sources de nuisances et vecteurs d'agents pathogènes

L'humanité subit des nuisances importantes et des maladies aux conséquences humaines et économiques désastreuses du fait des moustiques (TOLLE, 2009; BECKER *et al.*, 2010). D'une part, leurs piqûres peuvent causer de sévères irritations pour l'homme ou les animaux (TAKKEN et KNOLS, 2007; BECKER *et al.*, 2010). D'autre part, les moustiques sont responsables de la transmission de nombreux agents pathogènes d'importance médicale et vétérinaire (virus, bactéries, protozoaires ou nématodes) (BECKER *et al.*, 2010).

Dans certaines parties du monde, l'émergence massive et synchrone de quantités énormes de moustiques limite significativement les activités à l'extérieur des hommes et peut avoir de graves dommages économiques, comme par exemple dans le cadre de l'élevage de bétail (BECKER *et al.* 2010).

Tableau 2- Principales maladies transmises par des moustiques. (BECKER *et al.*, 2010).

Maladies	Vecteurs principaux	Zones géographiques
paludisme	<i>An.gambiae</i> , <i>An.funestus</i>	Afrique, Pacifique occidental, Asie sud-Est, Méditerranée, Amérique Centrale et

		Sud.
Dngue	<i>Ae.aegypti, Ae, albopictus</i>	Afrique, Asie, Amérique Nord.
Chikungunya	<i>Ae.aegypti, Ae, albopictus</i>	Afrique, Asie, Europe, Océan indien.
Fièvre de Nil Occidental	<i>Cx.pipens</i>	Afrique, Europe, Asie, Océanie, Amérique Nord.
Fièvre jaune	<i>Aedes aegypti</i>	Afrique, Amérique Centrale et Sud.
Fièvre de La Ross River	<i>Aedes</i>	Australie, Océanie.
Fièvre de La vallé de Rift	<i>Aedes, Culex,...</i>	Afrique, Moyen Orient.
Encéphalites équine américaines	<i>Aedes, Culex, Culiseta</i>	Amérique .
Encéphalites japonaise	<i>Cx. Tritaeniorhynchus</i>	Extreeme-Orient, Asie Sud Est.
Encéphalites de Saint Louis	<i>Culex</i>	Amérique Nord et Centrale .

Parmi les vecteurs de maladies figurent: Les *Anopheles*, moustiques qui sont les vecteurs exclusifs du plasmodium, le parasite responsable du paludisme. Quelques 30 espèces d'anophèles interviennent dans la transmission de la maladie, avec chacune leurs particularités biologiques et écologiques. (OMS, 1999).

Les Culicinae constituent un groupe qui comprend des espèces appartenant aux genres *Culex* et *Aedes*. Parmi les espèces du genre *Culex*, *C. quinquefasciatus* est l'une des mieux connues du voyageur, en raison de la nuisance qu'il occasionne. Comme il se reproduit dans les eaux polluées par des matières organiques, il est principalement présent en milieu urbain. Ce moustique transmet la filariose lymphatique et un certain nombre d'affections virales, notamment la fièvre à virus West Nile (OMS, 1999).

Les moustiques du genre *Aedes* sont les vecteurs des virus de la dengue et de la fièvre jaune (OMS, 1999). Contrairement aux anophèles et aux moustiques du genre *Culex*, les *Aedes* piquent principalement le jour, mais aussi la nuit. *A. aegypti* et *A. albopictus* se sont adaptés au milieu façonné par les établissements humains, et ils y prolifèrent dans les petites collections d'eau situées aux alentours et à l'intérieur des habitations. Les flambées de dengue et de fièvre jaune trouvent généralement un large écho dans les médias, et donnent lieu à des

opérations de brumisation organisées par les services municipaux de lutte antivectorielle. (OMS, 1999).

IV. Lutte contre les moustiques

IV.1.-Lutte chimique

Elles utilisent les propriétés de nombreuses substances végétales ou synthétiques permettant d'affecter, de repousser ou de tuer les vecteurs. Il existe un grand nombre de produits et de modes d'utilisation, mais le but recherché est toujours l'action efficace, rapide et persistante sur les vecteurs visés, tout en présentant le moins d'effets possibles sur l'homme et les organismes non-cibles (RODHAIN AND PEREZ, 1985). Les principaux composés synthétiques utilisés appartiennent aux groupes des organochlorés (DDT, **d**ichloro**d**iphenyl**t**richloroethane), dieldrine), des organophosphorés (malathion, fenitrothion, téméphos, chlorpyrifos), des carbamates (propoxur) et des pyréthrinoïdes (perméthrine, deltaméthrine, lambda-cyhalothrine, alpha-cyperméthrine, bifenthrine).

Ces produits peuvent être appliqués directement dans l'environnement (naturel comme domestique) sous différentes formulations (suspension, poudre mouillable, émulsion, tablette, microcapsule, etc...). En revanche, seuls les pyréthrinoïdes sont autorisés en imprégnation de moustiquaires (WHO, 2006).

Un autre type de substance, appelée synergiste, peut être utilisée en même temps qu'un insecticide dans le but d'augmenter son efficacité ou de potentialiser son action. C'est par exemple : le cas du pyperonyl butoxide (PBO) qui, bien que n'ayant aucune propriété insecticide propre, permet d'augmenter l'efficacité des pyréthrinoïdes en inhibant les enzymes de détoxification des insectes (MOORES and BINGHAM 2005). On peut également citer l'existence de régulateurs de croissance, protéines analogues d'hormones de mue ou de métamorphose, permettant d'empêcher le développement larvaire normal des insectes visés (RODHAIN and PEREZ 1985), bien qu'encore peu utilisés dans la lutte contre les vecteurs du paludisme. Des résultats intéressants ont pourtant démontré une bonne rémanence de molécules ecdyzoïdes, actives à faible

concentration, qui pourraient être utilisées dans des contextes particuliers en complément d'autres méthodes. (DARRIET 1987).

IV.1.1. Résistance aux pesticides

Le terme pesticide désigne les préparations contenant une ou plusieurs substances actives utilisées pour repousser ou éliminer les organismes nuisibles. Elles permettent de lutter entre autres contre les insectes (insecticides), champignons (fongicides) et mauvaises herbes (herbicides). Cependant, leur efficacité est menacée par l'augmentation globale de la résistance aux pesticides générant de nombreux problèmes au niveau sanitaire mais aussi agricole (augmentation des coûts et pertes de rendements) (Figure 03) (HOLT et LEBARON, 1990).

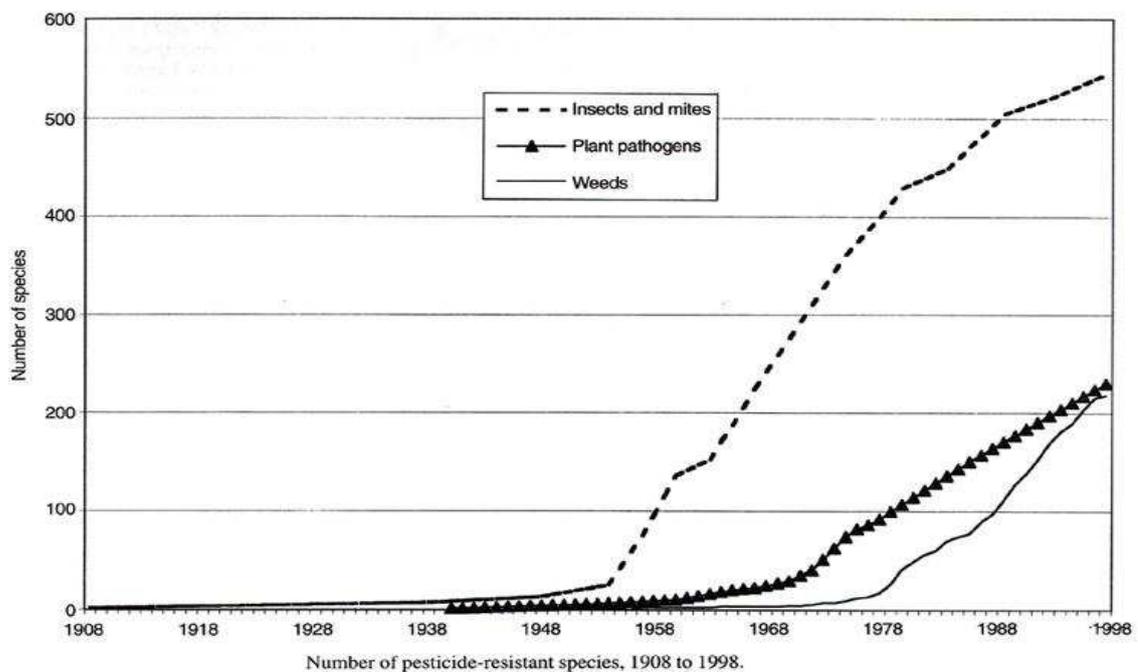


Figure 03 - Développement de la résistance aux pesticides chez les insectes, pathogènes de plantes (parasites et champignons) et mauvaises herbes (HOLT et LEBARON, 1990).

La résistance aux pesticides est une caractéristique héritable d'une espèce, permettant sa survie et sa reproduction à des doses de pesticides létales pour la plupart des individus de type sensible de cette même espèce. Les phénomènes de résistance aux pesticides sont très rapidement apparus après les premières applications d'insecticides

(LINDQUIST et WILSON, 1948) ou d'herbicides (RYAN, 1970). Ainsi, la résistance au DDT chez les moustiques est apparue en Floride dès 1947, seulement un an après les premières utilisations de cet insecticide organochloré (HEMINGWAY et RANSON, 2000). La résistance aux pesticides touche aujourd'hui toutes les catégories de pesticides et de nuisibles (Figure 3) majoritairement dans les pays où leur utilisation est intensive. D'un point de vue fondamental, ce phénomène offre aux scientifiques des exemples récents d'adaptations rapides à une forte pression de sélection. Ainsi, l'étude de la résistance aux pesticides permet une meilleure compréhension des processus adaptatifs et de l'évolution des populations sur des pas de temps très courts au regard du temps évolutif.

IV.2.- Lutte biologique

Les méthodes biologiques utilisent des organismes vivants et des virus capables d'affecter les populations d'arthropodes visés. Ce type de lutte a été envisagé dès la fin du XIX^{ème} siècle, puis délaissé avec l'apparition des insecticides synthétiques dans les années 1940 (LEGNER, 1995). Cependant, l'intérêt pour les méthodes de contrôle biologiques n'a pas la suite cessé de croître, d'abord avec l'apparition de la résistance des arthropodes aux insecticides, puis la prise de conscience environnementale globale (LEGNER, 1995). Un grand nombre d'organismes prédateurs ou pathogènes d'arthropodes sont connus, mais leur utilisation dans la lutte contre des vecteurs d'importance médicale est relativement réduite. Certaines espèces de poissons Culiciphages présentent un intérêt potentiel dans la lutte contre les larves d'anophèles (LEGNER, 1995; RODHAIN and PEREZ, 1985).

De manière générale, ce type de lutte ne doit être envisagé qu'après une étude précise des conditions et de la biodiversité locales. Concernant les agents pathogènes d'arthropodes, assez peu sont utilisés de manière opérationnelle, mais des recherches sont menées afin d'identifier d'autres possibilités de lutte à l'aide de champignons (FARENHORST *et al.*, 2009; HANCOCK 2009; SCHOLTE *et al.*, 2004), virus, bactéries ou protozoaires (LACEY and UNDEEN 1986; LEGNER, 1995). Les pathogènes présentent certains avantages par rapport aux prédateurs, principalement liés à leur

sélectivité, les possibilités de production de masse et de stockage facilitant leur utilisation (LACEY and UNDEEN, 1986). Les principaux organismes utilisés dans la lutte biologique opérationnelle contre les stades larvaires de *Culicidae* sont les bactéries *Bacillus sphaericus* et *Bacillus thuringiensis*, dont la variété *B.t. israelensis* (*Bti*) (BECKER, 1998). Des organismes pathogènes peuvent également permettre de lutter contre les populations de moustiques adultes. Les champignons *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* ont ainsi montré de bons résultats sur plusieurs espèces de *Culicidae*, dont le principal vecteur du paludisme en Afrique sub-Saharienne, *Anopheles gambiae* (FARENHORST *et al.* 2009; SCHOLTE *et al.* 2006; SCHOLTE *et al.*, 2005).

IV.3. -Méthode écologique

Les méthodes écologiques visent à aménager l'environnement de manière à le rendre défavorable au développement ou à la survie des vecteurs. Le principal moyen de lutte écologique contre les anophèles vecteurs consiste à supprimer les gîtes larvaires potentiels par drainage, comblement ou amélioration de l'évacuation des eaux de pluie (KEISER *et al.* 2005; RODHAIN and PEREZ, 1985).

Ce type d'opération peut être envisagé dans certains cas, par exemple en présence d'un gîte important et très productif dans un village, mais s'avère souvent difficile à réaliser en raison de la présence de nombreux gîtes naturels disséminés et temporaires (BOMBLIES *et al.* 2008; GILLIES and COETZEE, 1987). Cependant, il semble que la réduction des gîtes larvaires potentiels dans un périmètre relativement limité autour des habitations puisse avoir un effet important sur la transmission palustre locale (GU and NOVAK, 2009), du fait que la moindre disponibilité de sites de ponte entraîne probablement une augmentation de la durée du cycle trophogonique, accompagnée d'une baisse du taux de survie des vecteurs (GU *et al.* 2006; KILLEEN *et al.*, 2001).

IV.4. Méthodes génétiques

Les méthodes génétiques sont en développement et aucune n'est actuellement applicable à la lutte opérationnelle contre les vecteurs du paludisme. Les principales pistes envisagées concernent l'utilisation des mâles stériles entrant en compétition avec les mâles sauvages fertiles et permettant de réduire la fécondité des femelles sauvages, ainsi que la manipulation génétique de vecteurs dans le but de créer des souches réfractaires à l'infection (BOËTE and KOELLA, 2003) ou principalement zoophiles (LYIMO and FERGUSON, 2009). Le succès de l'emploi des moustiques génétiquement modifiés n'est qu'hypothétique et de nombreuses recherches sont nécessaires afin d'évaluer sa faisabilité (WHO, 1991).

Des recherches ont été menées à partir des années 1950 afin d'envisager le contrôle de culicidés d'importance médicale par cette technique, mais elles n'ont jamais abouti à leur mise en œuvre opérationnelle (DAME *et al.*, 2009). Elles pourraient cependant être applicables au contrôle de vecteurs de *Plasmodium* dans certaines situations, notamment des zones où la transmission est très localisée, tel que le long du Nil au Soudan (AGEEP *et al.*, 2009), dans le cadre de stratégies intégrées.

Chapitre II

Matériel et méthodes

Chapitre II- Matériels et Méthodes

Les végétaux font un usage constant de la lumière pour croître et se développer. Certaines espèces ont poussé l'exploitation de l'énergie photonique à l'extrême par l'élaboration au cours de leur métabolisme de toute une gamme de composés capables d'anéantir ou de limiter les dégâts causés par les phytophages. Ces composés dits secondaires sont des substances, qui se retrouvent de façon sporadique, chez les plantes dans l'appareil souterrain et aérienne (PHILOGENE, 1991). FEENY (1976) signale qu'il existe deux catégories de composés secondaires chez les plantes:

Des composés à valeurs quantitatives agissant selon leurs concentrations, comme les tannins, qui sont des substances phénoliques ayant la propriété de réduire la digestibilité des parties comestibles des plantes.

Des composés ayant une activité spécifique à des concentrations relativement faibles. Ces substances ont un effet anti-appétant, lorsqu'elles inhibent la prise de nourriture ou un effet toxique, lorsqu'elles empêchent l'approche des ravageurs.

A cet effet, la présente étude recherche à pour objectif d'obtenir un biopesticide à partir d'extraits aqueux isolés au niveau de la partie aérienne de l'espèce végétale spontanée *Pergularia tomentosa*, épargnée par les moustiques, leur influence sur le taux de mortalité et la mue chez les larves des moustiques. D'autre part pour éviter les risques associés aux produits chimiques, et leur effet néfaste sur la santé (cancer, dermatose...), l'environnement (la pollution de l'eau et l'atmosphère ...) et les êtres vivants telque les insectes par l'apparition de phénomène de résistance.

II.1. Matériel d'étude

II.1.1. Matériel biologique

Le matériel biologique se compose de larves du troisième stade (L₃) de *Culex pipiens* issus d'un élevage réalisé en plein d'air dans la région de Metlili ; wilaya de Ghardaia et *Pergularia tomentosa* (*Asclepiadaceae*) récoltés au Sahara Septentrional Est algérien.

II.1.2. Choix de plante

II.1.2.1 *Pergularia tomentosa*

Pergularia tomentosa L est un arbrisseau vivace de 1 m de long de la famille des *Asclepiadaceae*, elle possède des feuilles opposées en forme de cœur de couleur vert amande et aux jeunes rameaux volubiles s'enroulant autour des rameaux anciens. Toute la plante est recouverte de courts poils verdâtres. Les inflorescences en petites grappes sont de couleur blanc jaunâtre, vert-brunâtre, barbue sur les bords. Les fruits sont des follicules allongés portant de petites pointes. A maturité, les fruits s'ouvrent et laissent échapper des graines à aigrettes de poils blancs (photo 6).

Habitats : lits d'oueds et dépressions à fond rocheux (les oueds sablo/argileux) mais aussi sur les regs.

Les manifestations de la toxicité: L'utilisation des feuilles, qui touchent la tête, va causer la chute des cheveux (devient chauve), et elle est dangereuse pour les yeux. Partie toxique: les feuilles / le latex. (SAHKI. 2004).

Pergularia tomentosa L est utilisée par les indigènes du Sahara pour le tannage, écrasée et étalée sur les peaux. Elle fait tomber les poils rapidement. On dit que c'est l'arme du varon (gros lézard) contre la vipère, il entortillait la plante sur sa queue pour frapper la vipère. Cette plante produit un lait corrosif. Il ne faut pas la toucher, car sinon on risque de perdre la couleur de sa peau, le lait attaquant la peau. Il est également utilisé contre les morsures de serpent.



Photo 06- *Pergularia tomentosa* en floraison A; en végétation B.

Oued Metlili, région de Ghardaïa Avril 2013 (Original).

II.1.3.- Élevage des insectes

L'élevage de l'insecte est maintenu dans les conditions naturelles de la commune de Metlili. Dans des réceptions de 5 litres capacité remplis d'eau de robinier l'élevage est maintenu. La souche utilisée, c'est une souche locale commune à cette région. Les réceptions d'eau sont placées dans une palmeraie à côté d'un drain d'évacuation des eaux d'irrigation supplémentaire afin avoir une source de contamination des réceptions par les moustiques. D'une façon volontaire, les femelle vont déposer leurs œufs dans ces réceptions. La nourriture des larves est assurée par de la poudre de biscuit (source du sucres) et par de la levure du Bière (source de protéines et des vitamines). Pour avoir suffisamment des larves de moustique, 4 réceptions sont préparés et déposés l'un à côté de l'autre avoisinant le drain. L'élevage en pleine champs est commencé dès le mois de Novembre 2012 et est maintenu jusqu'à la fin des travaux expérimentaux.

II. 2.- Matériel utilisé au laboratoire

Une balance de précision pour effectuer les pesés de poudre végétale.

chauffe ballon et ballon de 500 ml pour faire l'extraction.

code pour évaporer le méthanol.

réfrigérant pour l'extraction.

Béchers de 500 ml utilisé pour l'extraction.

Erlenmeyer de 500 ml utilisé pour l'extraction.

Papiers filtres pour la filtration des extraits de plantes.

bocal de 250 ml pour l'extrait.

entonnoir pour la filtration..

papier aluminium pour protéger le bocal d'extrait de la lumière.

II.3.-Méthodologie adoptée

II.3.1.Préparation d'extrait aqueux

Les extraits aqueux sont obtenus par mélange de poudre végétale, l'eau distillée et de méthanol. La partie aérienne de la plante testée est rincée à l'eau, et laissée séchée pendant des jours sous l'ombre et à l'air libre, (la plante a été récoltée au niveau de la commune de Metlili le mois de décembre). Une fois séchées, elle sera broyée et conservée dans un bocal hermétique portant une étiquette où le nom de l'espèce.

50 grammes de la poudre végétale est mise dans un ballon de 500 ml capacité avec suffisamment de la solution aqueuse de méthanol (2/3 de méthanol, 1/3 de l'eau distillée). Dans notre expérience nous avons utilisé 160 grammes de poudre végétale. Le ballon est surmonté par un réfrigérant permettant la condensation des fractions volatiles. La condensation des fractions volatiles organiques lors de l'extraction.

Le mélange est porté à ébullition à 50°C pendant 6 heures (photo 7), L'homogénéat est refroidi et filtré à l'aide d'un papier filtre. Pour éliminer le méthanol, le filtrat est soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un code, le produit obtenu est un extrait aqueux qui servira par la suite aux tests biologiques.

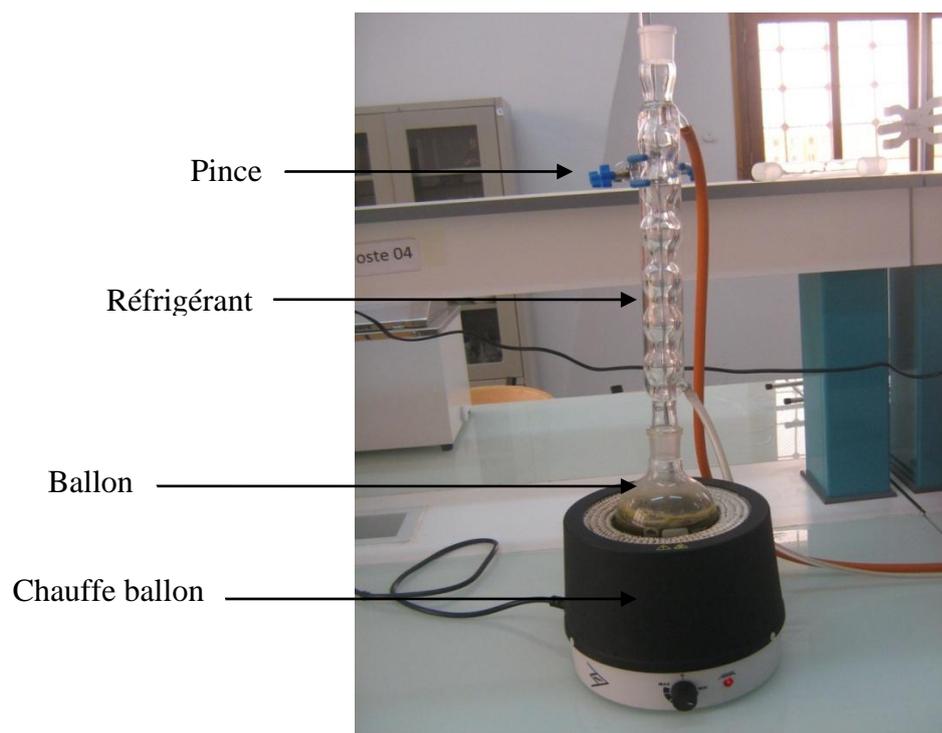


Photo 7- Montage d'extraction par reflux





Photo 08- Étape suivie pour la préparation des extraits végétaux. A, B= poudre végétal
C= extraction ; d= filtration ; e= évaporation de méthanol ; f= extrait pure

II.3.2.-Teste biologique

Afin d'évaluer le pouvoir insecticide de l'extrait aqueux de *Pergularia tomentosa* récolté de la région de Metlili (Sahara septentrional Est algérien) sur les larves de moustique .Les larves sont mis en contact direct avec l'extrait végétal, de ce fait 10 larves de l'espèce *culex pipiens* sont déposées dans une tube à essai avec une solution des milieux de culture de 6 ml et 1ml d'extrait (de déférente concentration photo 10), et 1 ml d'eaux distillée pour le lot de témoin, chaque lot contient 03 tubes à essai. La suivie se fait quotidiennement et durant 10 jours en notant chaque 24 heures le nombre des larves mortes et en remarquant la transformation morphologique des larves dans les déférentes lots expérimentaux.

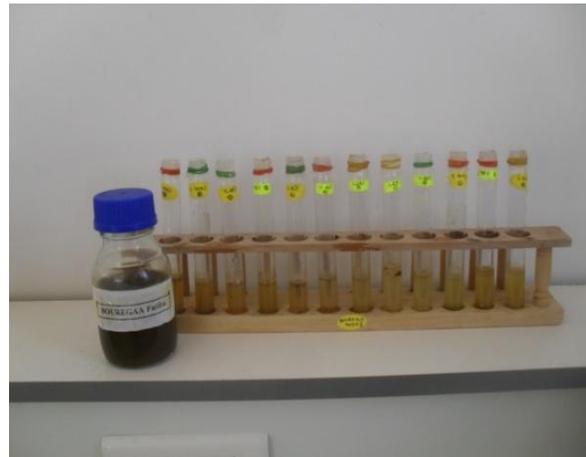


Photo 09- Lots expérimentaux

II.3.3.- Constitution des lots expérimentaux

Pour la présente étude, neuf (09) lots expérimentaux sont constitués, dont un lot témoin et huit lots pour les traitements. Chaque lot constitué est caractérisé par une concentration en extrait végétal définie. Pour chaque lot, trois répétitions sont réalisées (3 tubes à essai) (photo 09). Pour chaque lot qui est défini concentration en extrait aqueux de *Pergularia tomentosa*, soit l'extrait à 100%, à 75% à 50%, 25%, 15%, 10%, 5%, et à 1%.

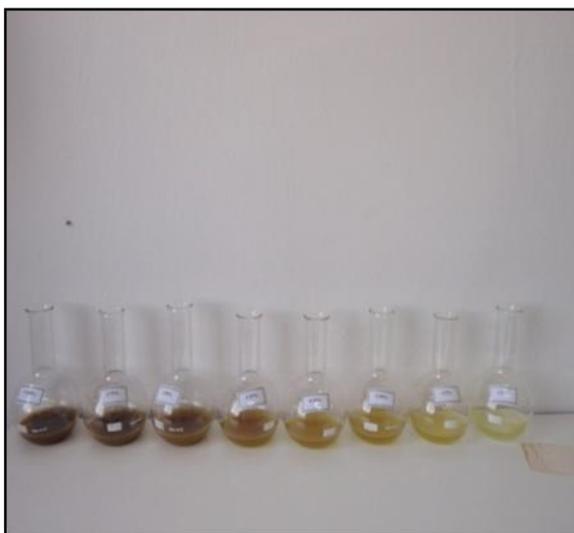


Photo 10- préparation de concentration



Photo 11- Extrait aqueux pur de *P.tomentosa*

II.4.- Méthode d'exploitation des résultats

Pour notre étude, trois paramètres sont étudiés dont: le taux de la mortalité, le temps de mortalité 50 (TL₅₀) et les concentrations d'efficacité CE₅₀ et CE₉₀.

II.4.1. Taux de mortalité

La mortalité est le premier critère de jugement de l'efficacité d'un traitement chimique ou biologique. Le pourcentage de la mortalité observée chez les larves de 3^e stade témoins et traités, est estimé en appliquant la formule suivante:

Mortalité observée = [Nombre de morts/Nombre total des individus] × 100

(OULD EL HADJ *et al.*, 2006)

II.4.2.- Concentration d'efficacité CE₅₀

Les lettres CE désignent la «concentration d'efficacité» ; la CE₅₀ est la quantité d'une matière, administrée en une seule fois, qui cause la mort de 50% (la moitié) d'un groupe traité. La CE₅₀ est une façon de mesurer le potentiel toxique à court terme (toxicité aiguë) d'une matière. Pour la présentes étude la méthode des probits et suivie .

II.4.3- Calcul de temps léthal 50 (TL₅₀)

Le temps léthal 50 (TL₅₀), correspond au temps nécessaire pour que 50% des individus d'une population morte suite à un traitement par une substance quelconque. Il est calculé à partir de la droite de régression des probits correspondants au pourcentage de la mortalité corrigée en fonction des logarithmes du temps du traitement. On utilise la formule de SCHNEIDER et la table des probits.

Formule de SCHNEIDER :

$$MC = [M2-M1 / 100-M1] \times 100$$

- MC :% de mortalité corrigée;
- M2 : % de mortalité dans la population traitée;
- M1 : % de mortalité dans la population témoin.

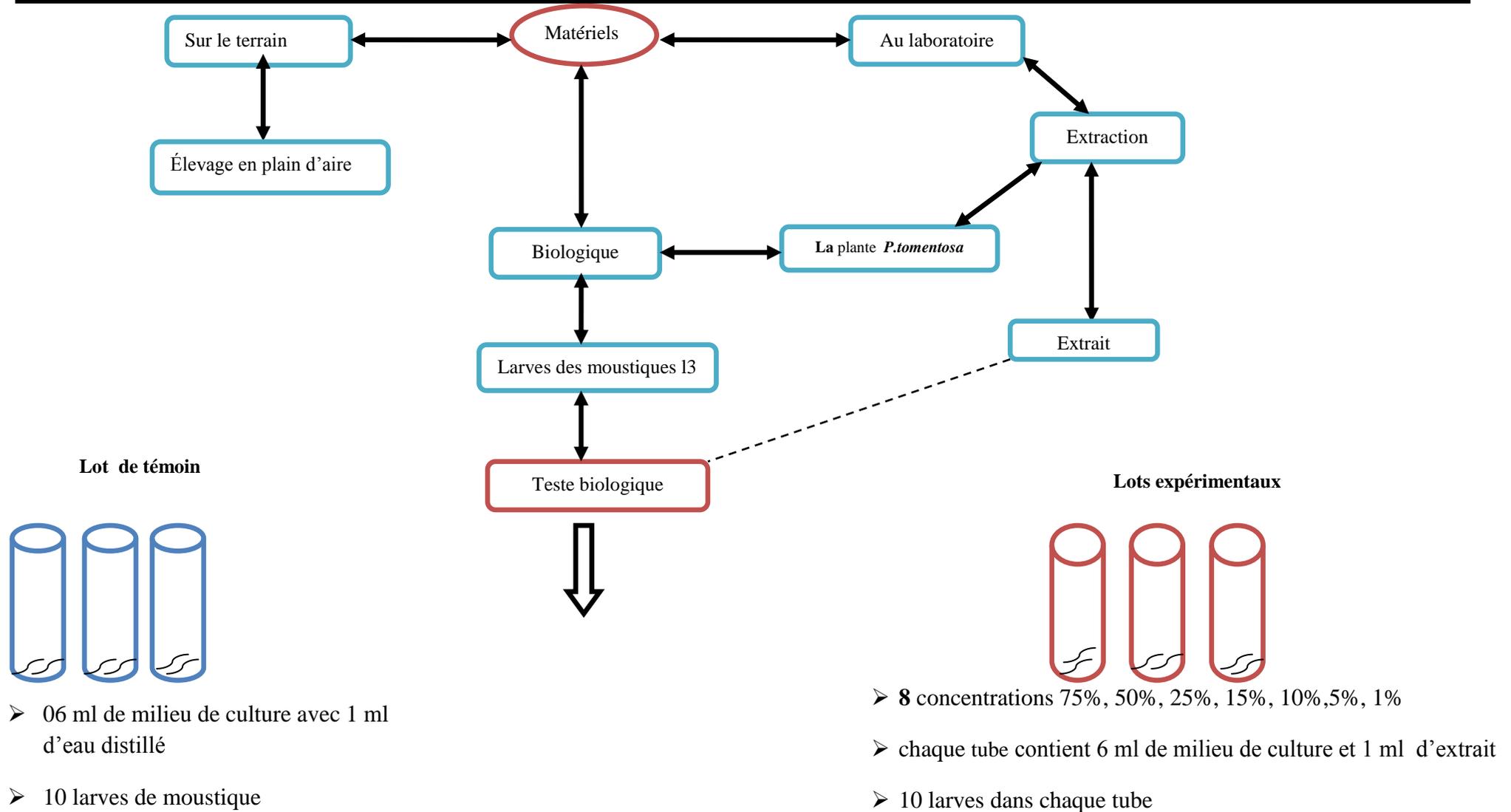


Figure-4 dispositif d'étude

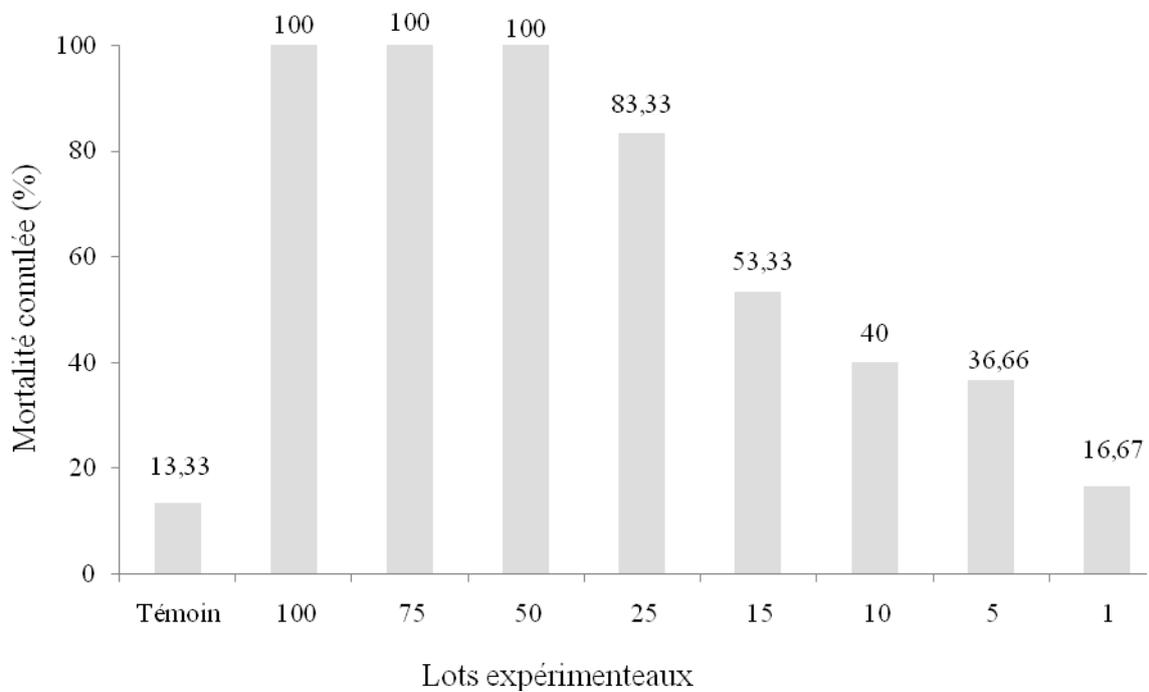
Chapitre III

Résultats et discussion

Chapitre III- Résultats et Discussions

III.1.-Effet de l'extrait foliaire aqueux de *Pergularia tomentosa* sur la mortalité chez les larves L₃ de *Culex pipiens*

Dans les études toxicologiques, la mortalité est le paramètre le plus important pour vérifier l'efficacité biocide d'une substance ou préparation expérimentée. Le pourcentage de mortalité noté dans les différents lots témoins et traités par l'extrait aqueux de *P.tomentosa* à différentes concentrations sont regroupés dans le tableau 3.



Fig

re 5- Effets de l'extrait foliaire aqueux de *Pergularia tomentosa* sur la mortalité des larves.

Au vu des résultats de pourcentage de la mortalité noté pour les larves de culex traitées varie selon la concentration appliquée. Un pourcentage de mortalité maximal est rapporté pour les larves traitées par l'extrait végétal concentré à 100%, 75% et 50% où les larves meurent dans les premières heures qui suivent le traitement. Parallèlement des

pourcentages de mortalité de l'ordre de 83,33% est noté pour les larves traitées par l'extrait à 25%, suivi par les traitées par l'extrait à 15%, 10%, 5% et 1% où des taux de mortalité de l'ordre de 53,33%, 40%, 36,66%, 16,67% respectivement sont enregistrés.

D'après ANITHA *et al.*, (2011), les extraits à l'éther de pétrole de *Lantana camara L* (*Verbenaceae*) *Tridax L.* (*Asteraceae*), et *Datura stromunium L* (*solanaceae*) montre une mortalité de 100% après 24h d'incubation chez *Aedes aegypti* (Diptère, *Culicidae*). En outre, AOUINTY *et al.*, (2006), mentionnent qu'après exposition des larves du stade L₄ de l'espèce *C. pipiens* aux différentes concentrations de 5 extraits aqueux pendant 24h, le taux de mortalité varie selon les concentrations, Pour tous les extraits, à l'exception de celui du *Nerium oleander* (*Apocynaceae*), la mortalité des larves atteint un taux de 100 % à partir d'une concentration de 4 %. Cependant, dans l'extrait du *Ricinus communis L* (*Euphorbiaceae*), la mortalité est plafonnée à 100 % dès la concentration de 1 %.

CHETAN *et al.*, (2010), ont étudié le potentiel larvicide de l'extrait aqueux des feuilles de *Cestrum nocturnum L* (*Solanaceae*) sur *A.aegypti* (Diptère, *Culicidae*). Les résultats ont prouvé que l'extrait aqueux des feuilles de *Cestrum nocturnum L* (*Solanaceae*) engendre la mortalité larvaire de 100% en 24 heures une fois examiné dans la concentration de 45µg/ml et 25 µg/ml (percolation). JU-HYUN *et al.*, (2005), a rapporté que les huiles essentielles extraites à partir des feuilles et des fruits des *Trema orientalis L* (*Ulmaceae*) à 400 ppm ont montré une mortalité de 100 et 71,6% contre *Aedes aegypti*, 100 et 53,1% contre *Culex pipiens* (Diptère, *Culicidae*).

AOUINTY *et al.*, (2006), étudiaient l'effet de l'extrait aqueux du bois du *Tetraclinis articulata Vahl* (*Cupressaceae*) et des feuilles du *Ricinus communis L* (*Euphorbiaceae*) sur les larves du *Culex pipiens* (Diptère, *Culicidae*), rapportent qu'au bout de 24 heures une mortalité de 100% est atteinte.

Tableau 3-Mortalité cumulée (%) observée chez les larves du troisième stade (L₃) de *Culex pipienstémoin* et traitées par l'extrait aqueux de feuilles de *Pergulariatomentosa l.*

Temps (jours)	Lots expérimentaux								
	Témoin	<i>Culex pipien</i> traitées par l'extrait de <i>Pergulariatomentosa</i> à concentration (%)							
		100	75	50	25	15	10	5	1
0,083	0	100± 0	100± 0	46,67±6	6,67±29	0±0	0±0	0±0	0±0
0,16	0	100± 0	100± 0	46,67±6	6,67±29	0±0	0±0	0±0	0±0
0,25	0	100± 0	100± 0	50±0	6,67±29	0±0	0±0	0±0	0±0
0,33	0	100± 0	100± 0	67,66±21	6,67±29	0±0	0±0	0±0	0±0
0,41	0	100± 0	100± 0	83,33±21	6,67±29	3,33±23	0±0	0±0	0±0
0,5	0	100± 0	100± 0	86,66±23	6,67±29	3,34±23	0±0	0±0	0±0
1	0	100± 0	100± 0	90± 17	10±10	13,33±11,55	6,67±5,77	6,67±5,77	6,67±5,77
2	0	100± 0	100± 0	100± 0	13,33±5,77	13,33±11,55	6,67±5,77	6,67±5,77	6,67±5,77
3	0	100± 0	100± 0	100± 0	30±0	13,33±11,55	6,67±5,77	6,67±5,77	6,67±5,77
4	6,67±6	100± 0	100± 0	100± 0	46,66±25,17	16,67±5,77	16,67±5,77	13,33±5,77	13,33±11,55
5	6,67± 6	100± 0	100± 0	100± 0	60±36,06	20±10	16,67±5,77	13,33±5,77	13,33±11,55
6	6,67± 6	100± 0	100± 0	100± 0	63,33±30,55	23,33±11,55	20±0	16,67±11,55	13,33±11,55
7	6,67± 6	100± 0	100± 0	100± 0	66,66±35,12	26,66±5,77	20±0	16,67±11,55	13,33±11,55
8	6,67± 6	100± 0	100± 0	100± 0	70±36,06	30±10	23,33±15,28	16,67±11,55	13,33±11,55
9	6,67± 6	100± 0	100± 0	100± 0	76,66±25,17	43,33±5,77	30±20	30±0	16,67±15,28
10	13,33± 6	100± 0	100± 0	100± 0	83,33±20,82	53,33±5,77	40±17,32	36,66±5,77	16,67±15,28

III.2.- Cinétique de la mortalité cumulée observée chez les larves de *Culex pipiens* témoins et traitées par de l'extrait foliaire aqueux de *Pergularia tomentosa*

L'évolution de taux de mortalité cumulée a été enregistrée à partir de 2 premières heures jusqu'à les dixièmes jours (figure 6). Les résultats montrent une mortalité totale des larves durant 2 heures après le traitement dans la concentration de 100% et 75%. Après 24h un taux de mortalité de 90%, 10%, 13,33%, 6,67%, 6,67%, 6,67% a été enregistré successivement dans les lots traités par l'extrait de concentration 50%, 25%, 15%, 10%, 5%, 1% respectivement.

La mortalité est d'autant plus importante que la dose est plus élevée. En effet la mortalité augmente progressivement avec le temps, jusqu'à atteint un taux de mortalité maximal après 10 jours, il est de l'ordre de 100%, 83.33%, 53.33% 40% 36.66%, 16.67% pour les lots traités par l'extrait végétal à 100% , 75%, 50%, 25%, 15%, 10% , 5%, 1% de concentration respectivement.

JEAN *et al.*, (1985) dans leur étude sur l'évaluation en milieu naturel de l'activité larvicide de la souche 1593-4 de *Bacillus sphaericus* Neide, dans des gîtes larvaires à *Culex quinquefasciatus* (Diptera-Culucideae) en Afrique de l'Ouest, dans le premier contrôle 48 heures après le traitement montre que la mortalité larvaire est totale dans tous les puisards traités, même à la plus faible dose. BENZARA (2011) note que les graines de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) sur les larves L₅ de *Locustanigratoria cinerascens* (Orthoptera:Oedipodinae) montre que le taux de mortalité est identique dans les trois doses qu'il suit : (0.031 g/ml, 0.062 g/ml et 0.125 g/ml) si bien que celles-ci provoquent des taux de mortalité équivalent de 20%. Elle augmente légèrement pour les doses (0.125g/ml et 0.25g/ml) avec des mortalités respectives 40% et 60%. Après 10 jours de traitement, la mortalité n'augmente pas significativement dans la mesure où elle ne dépasse pas 20% pour les doses (0.125g/ml et 0.25g/ml). Cette mortalité reste en deçà de 20%, non seulement par la dose 0.031 g/ml, mais aussi pour la dose 0,062 g/ml.

Des changements de comportement ont été observés dans le mouvement des larves au cours des testes biologiques, Ces effets peuvent être dû à la présence des composés neurotoxiques dans les extraits de plantes, peuvent agir sur la croissance (inhibent les hormones régulateurs de croissance) des insectes (EICH *et al.*,2008). Divers auteurs ont évalué l'activité larvicide des espèces de *Cestrum nocturnum L (solanaceae)* sur les moustiques, ou ils ont trouvé des composés bioactifs responsables de l'activité des moustiques (GHOSH and CHANDRA, 2006;GHOSHET *et al.*, 2008).

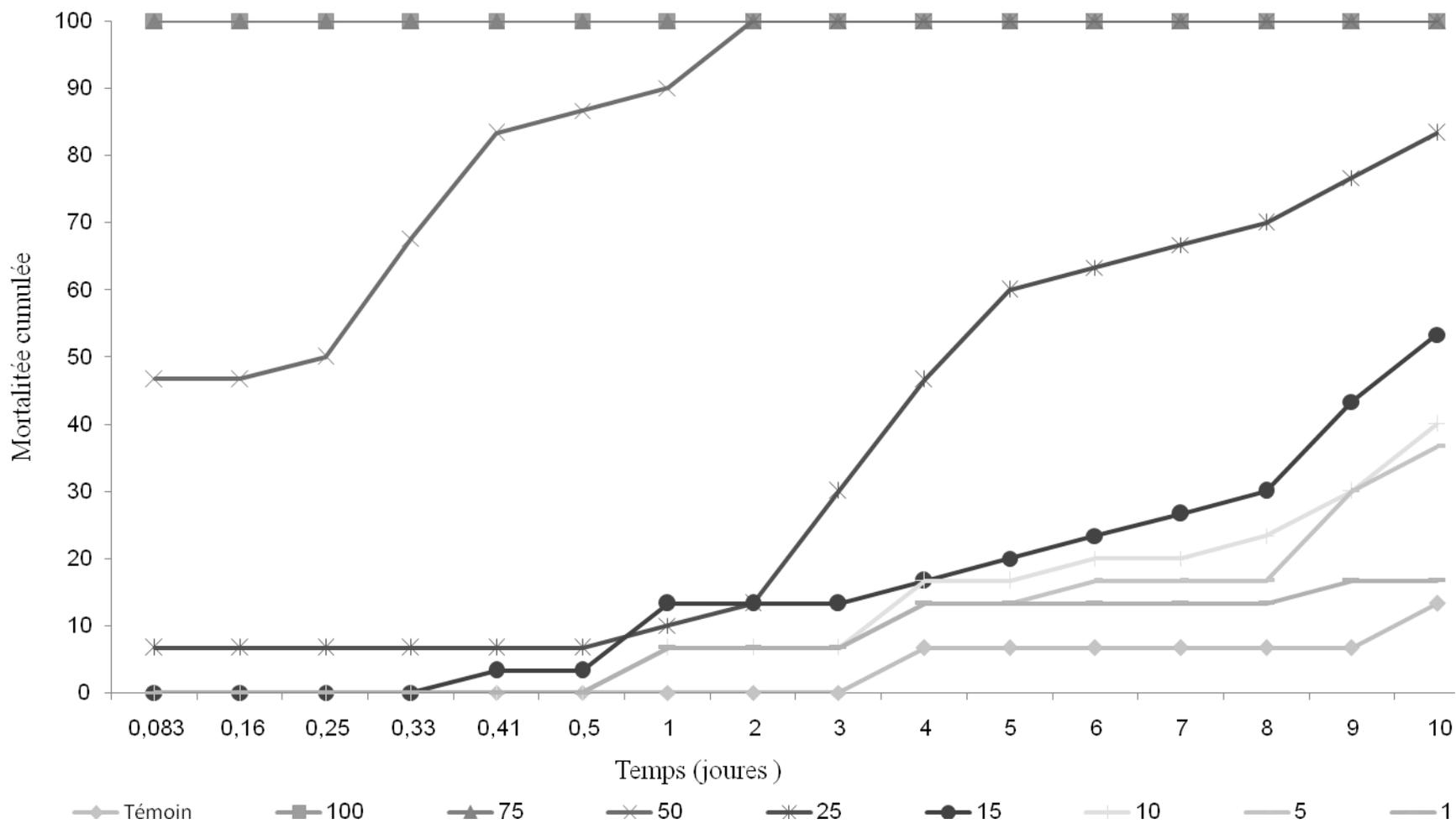


Figure 6- Cinétique de la mortalité cumulée observée chez les larves de *Culex pipiens* témoins et traitées par de l'extrait foliaire aqueux de *Pergularia tomentosa*.

II.3.- Efficacité larvicide de l'extrait foliaire aqueux de *P.tomentosa* sur les larves *Culex pipiens*

Les CL_{50} calculées pour des larves du troisième stade (L_3) de l'espèce *Culex pipiens* (Tableau 5), montre que la concentration d'efficacité 50 est de 0,007 mg/ml et une CL_{90} = 0,023 mg/ml. AOUINTY *et al.*, (2006) notent chez les larves L_3 du *Culex pipiens* (*Diptera-Culicidae*) des CE_{50} de l'ordre de 0,53 mg/ml et de 0,6 mg/ml pour l'extrait aqueux du bois du *Tetraclinis articulata* Vahl (*Cupressaceae*), et des feuilles du *Ricinus communis* L (*Euphorbiaceae*) respectivement. FRANÇOIS *et al.*, (2009) rapporte l'activité larvicide sur *Anopheles gambiae* (*Diptère, Culicidae*), et la composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun sur les larve de quatrième stade d'*Anopheles gambiae*, a montré que les concentrations létales en ppm (CL_{50} et CL_{80}) des huiles essentielles de *Cymbopogon citratus* (*Poaceae*), *Ocimum canum* (*Lamiaceae*), *Ocimum gratissimum* (*Lamiaceae*) et *Thymus vulgaris* (*Lamiaceae*) sont comme suit : (18,25) , (201,300) , (180,270), (119,147) ppm respectivement. Un essai larvicide de 14 espèces d'extraits de plantes sur *A. egypti* à montrer une toxicité élevée avec un plus de 50% de taux de mortalité au quatrième stade larvaire dans une concentration de 100 pg/ml après 48h après le traitement. Ces extraits ont montré une activité larvicide élevé, leur CL_{90} après 48 heures est de 13,9 pg/ml à 56,2 pg/ml, par contre six autres espèces de plantes médicinales, *Strychnos nux-vomical* (*loganiaceae*), *Knema glbularia*, Lamk (*Myrisististaceae*), *Stemonatur berosa* Lour (*Stromonaceae*), *Samane saman* Merre (*mimosacaceae*) , *Anoona muriicata* L (*anonaceae*) , *Abutilon indicum* Link (*Malvaceae*), à une concentration de 100 pg/ml a montré un pourcentage de mortalité modérée des larves d'*Aedes aegypti* (*Diptère, Culicidae*) (93%, 88%, 80%, 78%, 69% et 57%, respectivement) leur CL_{90} après 48 heures est inférieur à 200 pg/ml, 82,6 à 13,03pg/ml (SUWANNEE *et al.*, 2006).

ANITHA *et al.*, (2012) dans leurs études sur l'extraits à l'éther de pétrole de *Lantana camara* L (*Verbenaceae*), *Tridax procumbens* L (*Asteraceae*) et *Datura stramonium* L (*Solanacées*) sur les larves de troisièmes stade de *Culex pipiens* (*Diptère-Culicidae*) montrent des CE_{50} de l'ordre de 25 ug/ml, 288 ug/ml et 220 ug/ml pour les extraits des trois plantes respectivement.

Le rapport de l'Organisation mondiale de la Santé montre que les extraits des plante présentent un CL₅₀ inférieur à 40 ppm (0,04%; 0,4 pg/ml) un certain potentiel pour être appliqué comme molluscicides ou larvicides (WHO, 1993).

Tableau 04 - Mortalités corrigée et probits correspondants en fonction de la concentration de l'extrait appliquée.

Concentration			Mortalité corrigée	
Pourcentage	(mg/ml)	Log [mg/ml]	pourcentage	Probits
100	0,0804	-1,09	100	7,614
75	0,0603	-1,21	100	7,614
50	0,0402	-1,39	100	7,614
25	0,0201	-1,69	80,76	5,869
15	0,012	-1,92	46,15	4,901
10	0,008	-2,09	30,77	4,497
5	0,004	-2,39	26,91	4,384
1	0,0008	-3,09	3,85	3,222

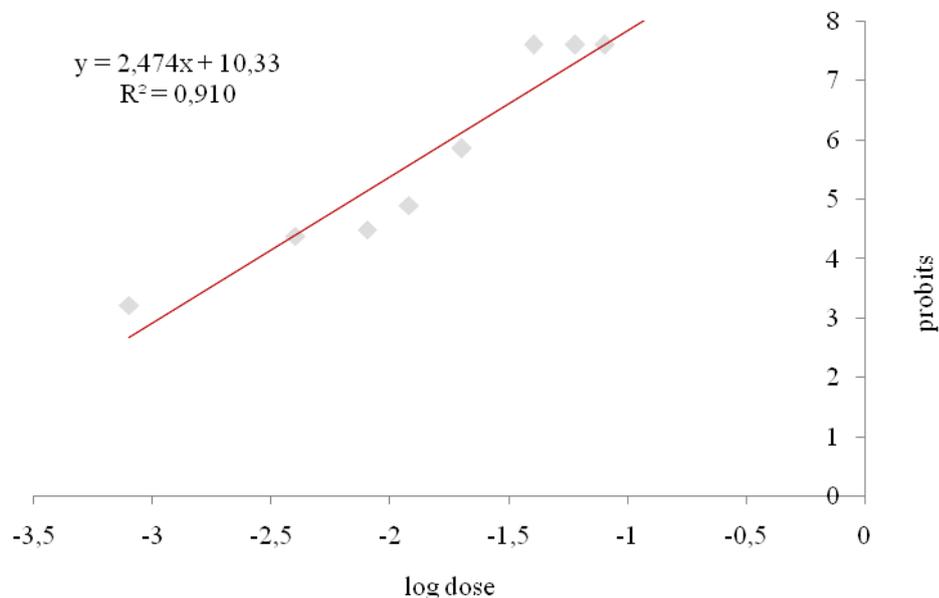


Figure 7- Droite de régression des Probits en fonction des logarithmes de dose.

Tableaux 5- Équation de droite de régression, coefficient de régression et les valeurs de CE 50et90 pour l'extrait testé.

Concentration d'efficacité (CE)	Équation	Coefficient de régression	Valeur
50	$y=2,474x+10,33$	$R^2 = 0,910$	0 ,007 mg/ml
90			0,023 mg/ml

III.4.- Temps létaux 50 de l'extrait foliaire aqueux de *Pergularia tomentosa* sur les larves de *Culex pipiens*.

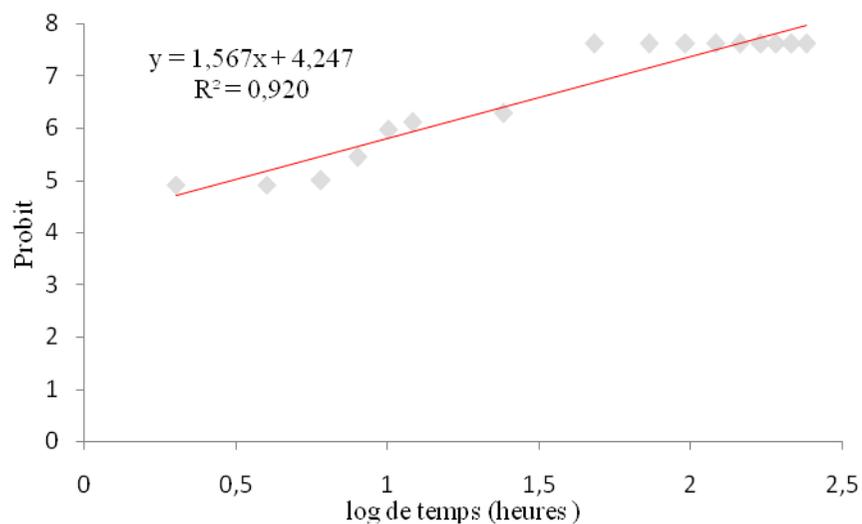
Les calculs de temps létaux 50% (TL_{50}) ont été effectués en dressant la droite de régression des probits correspondants aux pourcentages des mortalités corrigées en fonction des logarithmes des temps de traitement. Les données sont groupées en classe de temps, dans cette étude en heures. Les méthodes d'analyse de survie permettent d'associer la fréquence et le délai de survie de l'événement étudié qui est la mort des larves. Le temps qui s'écoule entre le début du traitement et la date de la dernière observation est étudiée.

A vu des valeurs de la TL_{50} et de TL_{90} (tableau6), de chaque extrait végétal testé et la droite de régression des probits en fonction du logarithme des durées de traitement (Figure8- A, B, C, D, E, F), montre que l'extrait de *P.tomentosa* à 100%, 75%, 50% sont plus toxiques, avec un TL_{50} et TL_{90} calculé à (3h , 19.49 h) pour la concentration de 50 %. Quant aux autres concentrations, il est de l'ordre des (107,89 / 1148,15) heures pour 25%, suivi de 15% avec (257,03 / 912,01) heures, et de 10% avec (346,873 / 1047,12) heures (409,26 / 1312,2) et (620,86 / 2264,64) heures pour 5% et 1%. Cette variabilité du TL_{50} constatée, entre la différente concentration d'extraits est probablement due aux variations de pourcentage de mortalité cumulée enregistrée.

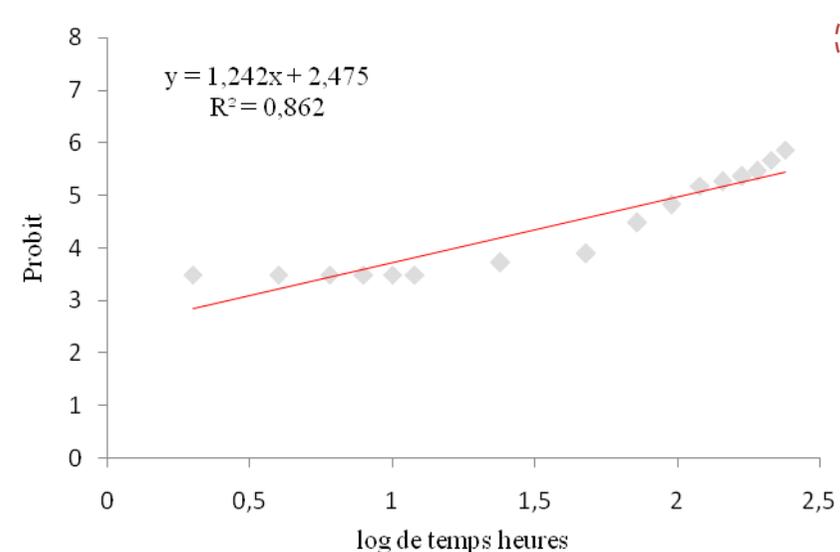
En 2010, BACHROUCH *et al.*, ont montré l'activité larvicide d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus L. (Anacardiaceae)* sur *Ectomyelois ceratoniae* Zeller et *Ephestia kuehniella* Zeller (*Lepidoptera-Pyralidae*). Le TL_{50} rapporté varie de 37,4 h pour la dose la plus faible (23 ml/l d'air) à 13,3h pour le plus élevé (68 ml/l d'air) sur *E.kuehniella*, alors que pour *E. ceratoniae*, il varie de 75,3 à 34,3heures pour les plus faibles et les doses les plus élevées respectivement.

Tableau 06- Equation des droites de régression, et les valeurs de temps TL_{50} et TL_{90} évalué par l'extrait de *Pergularia tomentosa*.

Concentration	Équation de régression	Coefficient de régression	TL_{50}	TL_{90}
100%	$Y = 6,714$	$R^2 = -4E-1$	/	/
75 %	$Y = 6,714$	$R^2 = -4E-1$	/	/
50 %	$Y = 1,567x + 4,247$	$R^2 = 0,920$	03,02	19,49
25 %	$Y = 1,242x + 2,475$	$R^2 = 0,862$	107,89	1148,15
15 %	$Y = 2,354x - 0,685$	$R^2 = 0,793$	257,03	912,01
10 %	$Y = 2,636x - 1,70$	$R^2 = 0,88$	346,73	1047,12
5 %	$Y = 2,532x + 1,614$	$R^2 = 0,866$	409,26	1312,2
1 %	$Y = 2,281x + 1,372$	$R^2 = 0,815$	620,86	2264.64



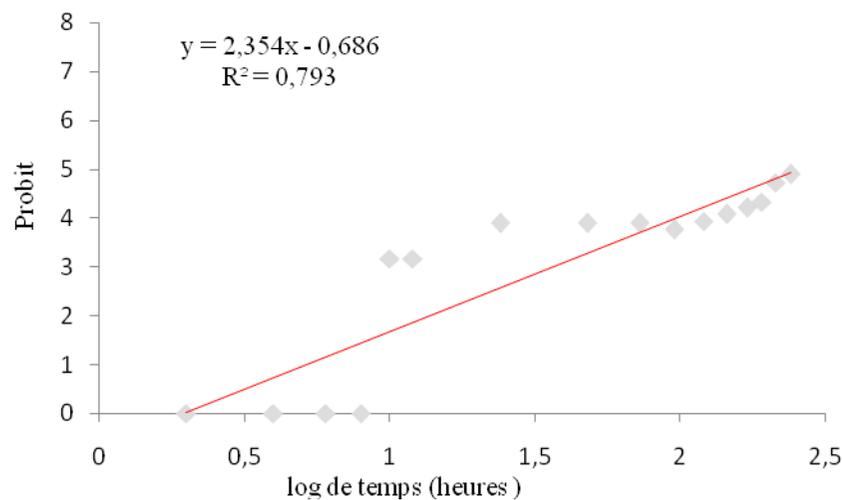
A



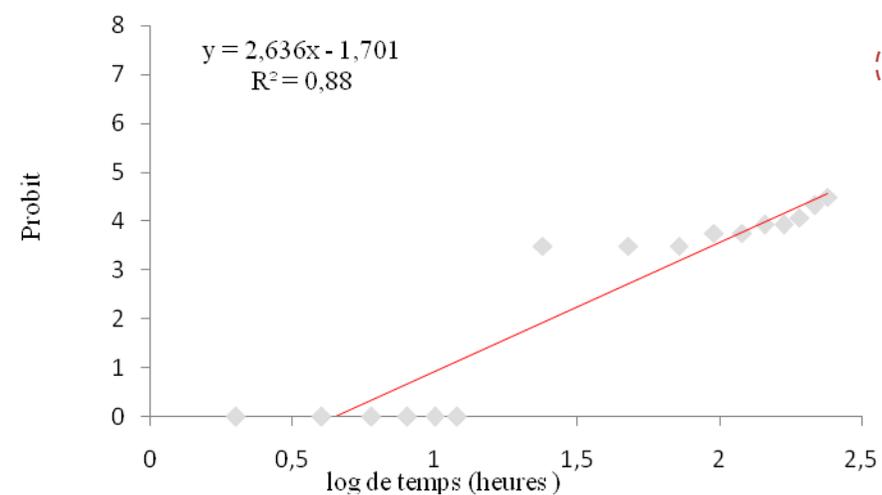
B

Action de l'extrait de *perguaria tomentosa* sur le temps (75%).

Action de l'extrait de *perguaria tomentosa* sur le temps (50%).



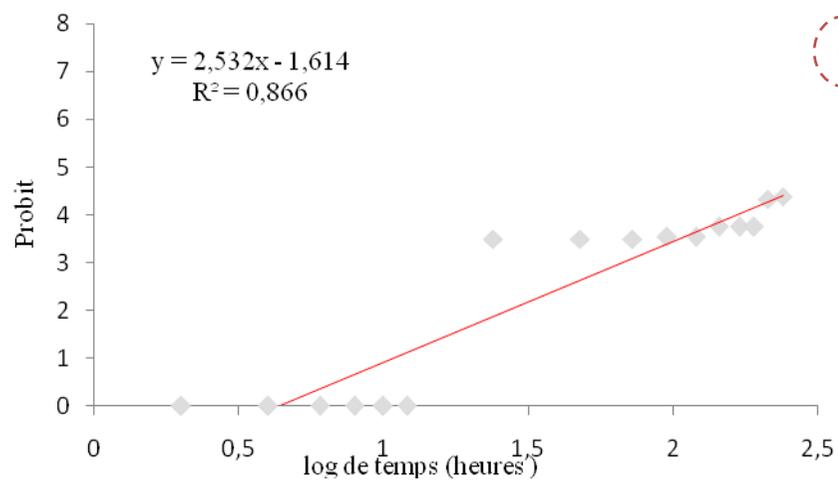
C



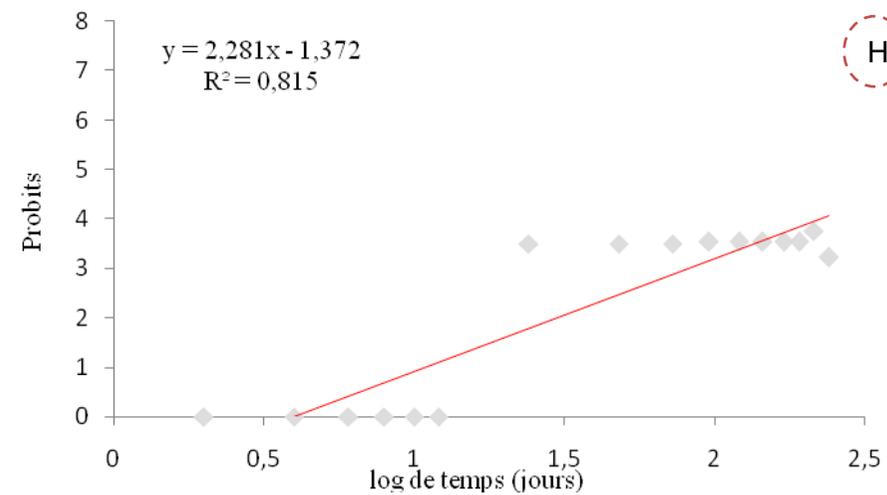
D

Action de l'extrait de *perguaria tomentosa* sur le temps (25%).

Action de l'extrait de *perguaria tomentosa* sur le temps (15%).



Action de l'extrait de *perguaria tomentosa* sur le temps (5%).



Action de l'extrait de *perguaria tomentosa* sur le temps (1%).

Figure-8: A-B-C-D-E-F-G-H action de l'extrait de *perguaria tomentosa* sur le temps.

Conclusion et perspectives

Conclusion

Il est admis communément que les interventions phytosanitaires chimiques présentent des effets néfastes sur l'environnement et favorisent le développement de souches résistantes aux matières actives utilisées dans la lutte contre les insectes ravageurs des cultures. Face à ces problèmes et à l'attitude des consommateurs sensibilisés aux problèmes de santé liés aux pesticides et aux résidus des pesticides dans les denrées alimentaires et exigeants des produits de qualité, des nouvelles stratégies de protection vis-à-vis les parasites de cultures, basés sur l'utilisation de bio pesticide tente d'émerger et vise à assurer une rentabilité pour l'agriculture et éviter les effets néfastes sur l'environnement.

Dans la présente étude nous avons étudiés le pouvoir larvicide des extraits foliaires aqueux de *Pergularia tomentosa* L. (Aslepiadaceae) sur le troisième stade larvaire de *Culex pipiens* (Diptera-Culicidae). Les résultats ont montré une pouvoir biocide exceptionnelle avec une rapidité d'action très marquée vis-à-vis des larves de *Culex pipiens*. Des pourcentages de la mortalité important sont notés même à des doses d'application relativement faibles. L'évaluation des concentrations létales 50 et 90 ont expliqué le degré d'efficacité de ces produits biologiques contre les larves de *Culex pipiens* et la sensibilité de ces dernières au produit testé. En outre; des temps létaux restreint sont rapportés pour l'extrait concentré, témoignant ainsi la rapidité d'action de ces extraits végétaux sur les larves de *Culex pipiens*.

En outre, quelques instantes suite à l'application de l'extrait sur les larves de 3^e stade de *Culex pipiens*, un blocage de mue est observé; au niveau des individus des lots traités par l'extrait à 25% et 15% de concentration, les larves ont pas pu achevées leurs 3^e mue larvaire, et les larves survivantes de ces lots reste en 3^e stade jusqu'à la fin de l'expérimentation, ce phénomène témoigne l'effet juvénilisant de cet extrait vis-à-vis des larves de *Culex pipiens*.

Généralement, l'extrait foliaire de *P. tomentosa* a un effet toxique sur les larves du moustique *Culex pipiens*. Donc l'extrait de cette plante contient des composés chimiques bioactifs, à activité larvicide sur les larves *Culex pipiens*. Pour cela, l'identification des principes actifs impliqués et leur mode d'action et des essais sur le terrain sont généralement nécessaires pour suggérer une éventuelle utilisation comme insecticide larvicide biologique ou soit à l'origine d'une nouvelle matière active pourrait être utilisée pour combattre et protéger les cultures contre les insectes phytopathogène dans un programme de contrôle et lutte contre les insectes vecteurs des zoonoses.

Références bibliographique

ADISSO.D. N., ALIA. A. R., 2005. - Impact des fréquences de lavage sur l'efficacité et la durabilité des moustiquaires à longue durée d'action de types Olyset Net et Permanet dans les conditions de terrain. Mémoire de fin de formation en. ABM-DITEPAC-UAC, Cotonou. 79p.

AGEEP .T. B., J. COX., M. M. HASSAN., B. G .KNOLS., M. Q .BENEDICT *et al.*, 2009.- Spatial and temporal distribution of the malaria mosquito *Anopheles arabiensis* in northern Sudan: influence of environmental factors and implications for vector control. *Malar J.* Pp 8-23.

ANITHA.R., GEETHAPRIYA D., 2012.- Larvicidal activity of plant extracts on *Aedes Aegypti* L. Journal homepage: www.elsevier.com/locate/apjtb . S 1578-S1582.

ANONYME., 2000.- Etude écologique des moustiques (Diptère, Culicidés) vecteurs potentiels d'Arboviroses dans la région RHONE-ALPES. Disponible sur [www-timc.imag.fr/IMG/pdf/publis-TIMC05-08.pdf](http://www.timc.imag.fr/IMG/pdf/publis-TIMC05-08.pdf). 87p.

AOUNTY. B., OUFARA. S., MELLOUKI. F., MAHARI .S., 2006.-Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* Pp 10 (2), 67 – 71.

AYITCHEDJI. A .M .,1990.- Bio écologie de *Anophèles melas* et de *Anophèles gambiae* s.s. Comportement des adultes vis-à-vis de la transmission du paludisme en zone côtière lagunaire, République du Bénin. Mémoire de fin de formation en TLM-DETS-CPU-UNB, Cotonou. 76p.

BACHROUCH .O ., MEDIOUNI.B., WANESS. W., TALOU .T ., MARZOUK.B ., ABDERRABA .M.,2010.- Composition and insecticidal activity of essential oil from *Pistacia lentiscus* L. against *Ectomyelois ceratoniae* Zeller and *Ephestia kuehniella* Zeller (Lepidoptera: Pyralidae) *Journal of Stored Products Research* 46 (2010) 242-247.

BECKER. N, *et al.*, 2010.- Mosquitoes and Their Control, Second edition (Springer; 2nd ed.edition) .

BECKER. N., 1998.- The use of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* (Bti) against mosquitoes, with special emphasis on the ecological impact. *Israel J Entomol.* Pp 32,63-69.

BEN HISSAN .S., 2010.- Inventaire de la faune Culicidienne dans un écosystème Aride (Ouled-Djellal) et dans un écosystème semi-aride (Souk-Ahras) université de BADJI MOKHTAR – Annaba. Mémoire de Master en écophysiologie Animale .80p.

BENZARA .A. , 2011- Effet des extraits aqueux des graines de *Pisganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) sur les larves de 5^e stade de *Locusta migratoria cinerascens* (Orthoptera :Oedipodinae). Ecole Nationale Supérieure Agronomique, El Harrach, Alger.

BERCHI. S., 2000.- Bio écologie du *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) dans la région de Constantine et respectives de lutte – Thèse de Doctorat es sciences, option Entomologie. Univ. Constantine. 133 p.

BOËTE.C., and J. C. KOELLA., 2003.- Evolutionary ideas about genetically manipulated mosquitoes and malaria control. Trends Parasitol.Pp 19.32-38.

BOMBLIES .A., J. B. DUCHEMIN., and E. A. ELTAHIR., 2008.- Hydrology of malaria: Model development and application to a Sahelian village. Water Resour Res. 44:W12445.

CAILLY.P. , 2011.- Modélisation de la dynamique spatio-temporelle d'une population de moustiques, sources de nuisances et vecteurs d'agents pathogènes.these de doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire Agroalimentaire et de l'Alimentation Nantes Atlantique (Oniris).Pp 21 ,22-151.

CHETAN. J., RAMBHAU.K AND LAXMIKANT D., 2010.- Larvicidal activity of *Cestrum nocturnum* on *Aedes aegypti*. A Journal of the Bangladesh Pharmacological Society (BDPS). P 39 -40.

CHRISTOPHERS .G.M ., 1915.-The mole genitalia of Anopheles .India j .med .Res . Pp 3 -371.

CHRISTOPHERS. S.R ., 1933.- The fauna of british India , including Ceylon and Burma .Diptera 4. Culicidae. Tribe Anophelini, illus .Lond.371p.

CHRISTOPHERS. S.R., 1960.- *Ades agepti* (L.) , the yellow fever mostiquios. Its life history , Bionomics and structure . Cambridge Univ. Press.739p.

CLEMENTS. A. N., 2000.- The biology of mosquitoes development, nutrition and reproduction. (CABI Publishing, Eastbourne).

DAME.D. A., C. F. CURTIS., M. Q .BENEDICT., A. S. ROBINSON., and B. G. J. KNOL., 2009.- Historical applicationsof induced sterilisation in field populations of mosquitoes. Malar J 8(suppl 2):S2.

DARRIET, F. 1998. La lutte contre les moustiques nuisants et vecteurs de maladies, Khartala- orstom, Paris. 91p.

DARRIETF., 1987.- Evaluation sur le terrain de trois inhibiteurs de croissance, deux ecdysoïdes et un juvénioïde, dans la lutte contre Anopheles gambiae. Cahiers ORSTOM ser Ent. med.et Parasitol. numéro spécial.Pp 113-119.

EICH E. SOLANACEAE AND CONVULVULACEAE., 2008.- Secondary Metabolites: Biosynthesis, Chemotaxonomy, Biological and Economic Significance (A Handbook). (Springer-Verlag, Berlin Heidelberg).

FARENHORST.M., J. C. MOUATCHO., C. K. KIKANKIE., B. D. BROOKE., R. H. HUNT et al., 2009.- Fungal infection counters insecticide resistance in African malaria mosquitoes. Proc Natl Acad Sci U S A. 106:17443-17447.

FEENY P. P., 1976.- Plant appetency and chemical defense. Ed. Plenum Press, New York. P 140.

GHOSH .A., CHOWDHURY. N., CHANDRA. G., 2008.- Laboratory evaluation of phytosteroid compound of mature leaves of Day Jasmine (Solanaceae: Solanales) against larvae of *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae) and nontarget organisms. Parasitol Res. 103: 271 77. doi:10.1007/ s00436-008-0963-y PMid:18409075.

- GHOSH.A., CHANDRA., G. BIOCONTROL., 2006.-** efficacy of *Cestrum diurnum*L. (*Solanaceae*) against the larval forms of *Anopheles stephensi*. Nat Prod Res. 2006; 20: 371-79. doi:10.1080/14786410600661575PMid:16644532.
- GILLIES.M. T., and M.COETZEE.,1987 .-** A supplement to the Anophelinae of Africa south of the Sahara (Afrotropical Region). Publ S Afr Inst Med Res. Pp 1.55-143.
- GU. W., and R. J. NOVAK., 2009 .-** Agent-based modelling of mosquito foraging behaviour for malaria control. Trans R Soc Trop Med Hyg . Pp 103.1105-1112.
- GU. W., J. L .REGENS., J. C.BEIER.,and R. J. NOVAK.,2006.-** Source reduction of mosquito larval habitats has unexpected consequences on malaria transmission. Proc Natl Acad Sci U S A . 103:17560-17563.
- GUILLAUMOT .L 2006.-** Les moustiques et la dengue. Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie. 15 p. Article. Site: Institut Pasteur. Date de consultation : 04.07.2008.Hyperlien (url) :http://www.institutpasteur.nc/article.php3?id_article=78.
- HANCOCK.P. A., 2009.-** Combining Fungal Biopesticides and Insecticide-Treated Bednets to Enhance Malaria Control. PLoS Comput Biol 5:e1000525.
- HEMINGWAY. J., and HRANSON., 2000.-** Insecticide resistance in insect vectors of human disease. Annual Review of Entomology.Pp 45,371-391.
- HERREL .N. A ., MERASINGHE. F.P., ENSINK. J., MUKHTAR. M., VAN DER HOEK. W., KONRADSEN. F., 2001.-** Breeding of *Anopheles* mosquitoes in irrigated areas of south Punjab, Pakistan. Medical and Veterinary Entomology .Pp 15,236-248.
- HIMMI .O., DAKKIM., BOUCHRA T et ., EL AGBANI M.A.,1995.** Les Culicidés du Maroc : Clés d'identification, avec données biologiques et écologiques, Travaux de l'Institut Scientifique .série Zoologie N°44, Rab.50p.
- HIMMI. O., DAKKIM., BOUCHRA. T., et EL AGBANI.M.A., 1995.-** Les Culicidés du Maroc : Clés d'identification, avec données biologiques et écologiques, Travaux de l'Institut Scientifique .série Zoologie N°44, Rab.50p.
- HOLT .J. S., and., LEBARON. H. M., 1990.-** Significance and distribution of herbicide resistance. Weed Technology. Pp 4,141-149.
- HOWARD .L O., DAYAR. H.G., et KNABF., 1912.-** The mosquitoes of the North and Central America and the West Indies .Vol .I . A generale considération of mosquitoes. Pp 75-172.
- JEAN.H.,KOHOJNG.G.,GUILLET.P.,DOANNIO.J.,DUVAL.J.,ESCAFVRE.H.,1985.**
- Évaluation en milieu naturel de l'activité larvicide de *Bacillus s@iaericus* Neide, 1904 souche 1593-4 dans des gîtes larvaires à *Culex quinquefasciatus* Say, 1823 en Afrique de l'Ouest .no 1, 1985 : 35-44.
- JU-HYUN.J., SANG.H., MOO-KEY .K ., HOLS., 2005.-** Larvicidal Activity of *Chamaecyparis obtusa* and *Thuja orientalis* .Leaf Oils against Two Mosquito Species Agric. Chem. Biotechnol. 48 (1), 26-28 (2005).
- KEISER J., B. H .SINGER ., and J. UTZINGER., 2005.-** Reducing the burden of malaria in différent eco-epidemiological settings with environmental management: a systematic review. Lancet Infect Dis.Pp 5.695-708.

- KILLEEN .G. F., F. E .MCKENZIE., B. D. FOY., C. BOGH .,and J. C BEIER., 2001.-** The availability of potential hosts as a determinant of feeding behaviours and malaria transmission by African mosquito populations. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* Pp 95,469-476.
- KNIGHT .K. L, et STONE. A., 1977.-** A catalogue of the mosquitoes of the world (Diptera: Culicidae), 2^{ème} édition. Thomas Say Foundation. Pp 6-611.
- KOUASSI M. ,(2001).-** La lutte biologique: une alternative viable à l'utilisation des pesticides? *VertigO.* 2(2).
- LACEY. L.A and A. H. UNDEEN., 1986.-** Microbial control of black flies and mosquitoes. *Annu Rev Entomol.* Pp 31,265-296.
- LEGNER.E.F.,1995.-** Biological control of Diptera of medical and veterinary importance. *J Vector Ecol .*Pp 20,59-120.
- LINDQUIST.A. W., and,WILSON. H. G., 1948.-** Développement of a strain of houseflies resistant to DDT. *Science.* Pp 107-267.
- LYIMO.I. N., and H. M .FERGUSON. 2009.-** Ecological and evolutionary determinants of host species choice in mosquito vectors. *Trends Parasitol.*Pp 25.189-196.
- MARGOT. P., 2010.-** Evolution de la résistance au bactério-insecticide *Bti* chez les moustiques. These de doctorat université Joseph Fourier – GRENOBLE. Pp 10-237.
- MARQUARDT. W. C., BLACK.W. C., HIGGS. S., FREIER.J. E., HAGEDORN. H. H., KONDRATIEFF. B., HEMINGWAY.J, et MOORE. C. G., 2005.-** BIOLOGY of Disease Vectors. Second Edition, Elsevier Academic Press.
- MATILE L., (1993).-** Diptères d'Europe occidentale. Ed. Boubée, Paris, T. I, 439 p.
- MERABET .N.N.,2011.-** Étude Bioécologique et Épidmiologique des Culicidae dans la région Annaba et Skikda.université de BADJI MOKHTAR – Annaba. mmoire de magistar .114p.
- MINAKAWA .N., MUTERO .C. M., GITHURE. J., BEIER. J., and YAN. G., 1999.-** Spatial distribution and habitat characterization of anopheline mosquito larvae in western Kenya. *Am J Trop Med. Hyg .*Pp 61,1010-1016.
- MINAKAWA .N., SEDA. P., and YAN. G., 2002.-** Influence of larval habitat distribution on the abundance of African malaria vectors in western Kenya. *Am J. Trop Med. Hyg.* Pp 32, 38-67.
- MINAKAWA.N., MUTERO.C.M., GITHURE. J., BEIER. J., and YAN.G. ,1999.-** Spatial distribution and habitat characterization of anopheline mosquito larvae in western Kenya. *Am J Trop Med. Hyg .*Pp 61.1010-1016.
- MOORES.G, and G. BINGHAM., 2005.-** Use of "temporal synergism" to overcome insecticide resistance. *Outlook on Pest Management .*Pp.16:7-9.
- OMS 1999.-** La lutte antivectorielle, méthode à usage individuel et communautaire. 449p.

- OMS 2003.-** Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs: Guide du stagiaire. Provisoire, OMS, Genève. 102 p.
- OMS., 1999.-**La lutte antivectorielle, méthode à usage individuel et communautaire. 449p.
- OULD EL HADJ M. D., TANKARI DAN-BADJO A., HALOUANE F. et DOUMANDJI S., 2006-** Toxicité comparée des extraits de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera Cyrtacanthacridinae). Sécheresse, vol.. 17(3): 407-414.
- PAUL. A 2001.-** Les Insectes. Editeur Delachaux & Niestle, Edition mise jour par Jacque d'Aguilar .4^{ème} édition. Février 2001.461p. ISBN : 9782603012246.
- PHILOGENE B. J. R., 1991.-** l'utilisation des produits naturels dans la lutte contre les insectes: problèmes et perspectives. La lutte antiacridienne. Ed. AUPEL-UREF, Paris: 269-278. Provisoire, OMS, Genève. 102 p.
- RIOUX .J .A. 1958.-** Les Culicidae du « Midi » méditerranéen.Etude systématique et écologique, Ed.Paullechevalier, Paris .301 p.
- RODHAIN. F ., et PEREZ. C., 1985.-** Précis d'entomologie médical et vétérinaire. Notion d'épidémiologie des maladies à vecteurs. Maloine s. d. Editeur, Paris .458p.
- RODHAIN. F., et PEREZ. C., 1985.-** Précis d'entomologie médical et vétérinaire. Notion d'épidémiologie des maladies à vecteurs. Maloine s. d. Editeur, Paris .458p.
- RUSSEL P.F., WEST L.S. , 1963. -**Paratical malariology . Press 750 P.
- RYAN. G. F., 1970.-** Resistance of common groundsel to Simazine and Atrazine. Weed Science .Pp 18-614.
- SAHKIA, et R., 2004.-** Le Hoggar promenade botanique. Ed Atelier Esop-Lyon/Tamanrasset, Algérie.310 p.
- SCHOLTE .E .J., K. NG'HABI, J. KIHONDA., W.TAKKEN., K. PAAIJMANS et al., 2005.-** An entomopathogenic fungus for control of adult African malaria mosquitoes.Science.Pp 308,1641-1642.
- SCHOLTE E. J., B. G. KNOLS., R. A. SAMSONAND., W. TAKKEN., 2004.-** Entomopathogenic fungi for mosquito control: a review. J Insect Sci .Pp 4-19.
- SCHOLTE.E. J., B. G. KNOLS and ., W. TAKKEN., 2006.-** Infection of the malaria mosquito *Anopheles gambiae* with the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* reduces blood feeding and fecundity. J Invertebr Pathol.Pp 91,43-49.
- SEBASTIEN. B., 2006.-** résistance métabolique des larves des moustiques aux insecticides universités joseph Fourier. Pp 8-78.
- SINEGRE G., 1974.-** Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (O) caspius (pallas,1771)* (*Nematocera-Culcidae*).Ecllosion, dormance, développement, fertilité. Thèse és-Sciences, Uni..sci.Tech.Languedoc, 285p.

SUWANNEE .P., AMARA N., MALEEYA. K., USAVADEE .T.,2006.- Evaluations of larvicidal activity of medicinal plant extracts to *Aedes aegypti*(Diptera: Culicidae) and other effects on a non target fish.Pp13, 179-188.

TAKKEN. W., KNOLS. B.G.J.,2007.- Emerging pests and vector-borne diseases in Europe. Wageningen Academic Publishers edn. Wageningen, the Netherlands.p.

THAKORE Y., 2006.- The biopesticide market for global agricultural use. Industrial Biotechnology. 294p

TOLLE .M., 2009.- Mosquito-borne diseases. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* .Pp 39, 97-140.

WHO 1993. Tropical Disease Research. Geneva: World Health Organization.

WHO., 1991.- Prospects for malaria control by genetic manipulation of its vectors. TDR/BCV/MAL-ENT/91.3, World Health Organization, Geneva.

WHO., 2006.- Pesticides and their application for the control of vectors and pests of publichealth importance, Sixth edition. WHO/CDS/NTD/WHOPES/GCDPP/2006.1, Geneva.

WOJCIEH J. J. AND LISE K., 2002.- -Biological control of postharvest diseases of fruits. *Annu. Rev. Phytopatol.* Pp 40-411.441.

ZAIDI et AISSAOUI L.,2007.-Etude Systématique et lutte Biologique Avec *Bacillus Thuringiensis*Vectobac (D.W.G) contre les moustiques.Mim de Magistére.Uni de Tebessa. 116p.