

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur Et de La Recherche Scientifique

Université de Ghardaïa



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre  
Département de Biologie

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de  
MASTER**

**Domaine :** Sciences de la nature et de la vie  
**Filière :** Ecologie et environnement  
**Spécialité :** Sciences de l'environnement

**Par : HAIMOUD Ikram**

## **Thème**

Evaluation du pouvoir biocides de l'extrait aqueux de  
*Citrullus colocynthis* L. schard (*Cucurbitaceae*)

**Soutenu publiquement le : 18 /06/2014**

**Devant le jury :**

<b>Mr. HADJ SEYD.A</b>	Maître de conférence B	Univ. Ghardaïa	<b>Président</b>
<b>Mr. KEMASSI .A</b>	Maître de conférence B	Univ. Ghardaïa	<b>Encadreur</b>
<b>Mr. BEN SAMOUNE.Y</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Examinateur</b>
<b>M<sup>me</sup> HAMID OUDJANA .A</b>	Maître Assistant A	Univ. Ghardaïa	<b>Examinatrice</b>

**Année universitaire 2013/2014**

# *Dédicace*

*Je dédie ce travail à mes chers parents qui constituent  
après le dieu soutien à travers de ma vie HAIMOUD Sadek et  
OTMANI Salma*

*A Mon chère marié : BOUHAMIDA Ismail*

*Aux familles : HAIMOUD et OTMANI et BOUHAMIDA*

*A mes chers frères : Toumi ,Abdelmadjid ,Messoud,Abdelrazak  
et Mehdi*

*A tous mes tantes mes oncles.*

*HAIMOUD Ikram*



## **Remerciement**

*Avant tous nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir accordé la force .le courage et les moyense pour terminer ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier les personnes grâce â eux ce mémoire â pu voir le jour.*

*Notre promoteur .Monsieur **KEMASSI .A.** (Maître de conférence au département des Sciences de la nature et de la vie de l'université de Ghardaïa) ,qu'il nous soit permis de le remercier vivement et lui exprimé notre profonde gratitude pour son aide sans cesse afin de mener â terme ce travail et avec de plaisir .*

*Mes remerciements les plus aussi â tous les enseignants du departement des sciences de la nature et de vie de l'université de Ghardaïa)qu'ils recevez mes plus vifs remerciements pour d'avoir accepté de faire partie du jury.*

*Et toute l'équipe de laboratoire de chimie vont de l'université de Ghardaïa et enfin â tous qui ont contribuer â la réalisation et au bon déroulement de ce travail,qu'il trouvent ici mes profondes sympathies.*

# ***RÉSUMÉS***

# Evaluation du pouvoir biocides de l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis* schard (*Cucurbitaceae*)

## Résumé

Le présente de travail étude porte sur l'étude du pouvoir larvicide des extraits aqueux de *Citrullus colocynthis* (*Cucurbitaceae*) récoltée au Sahara septentrional Est algérien à la région de Metlili (Ghardaïa), vis-à-vis de moustique L3 de *Culex pipiens* (*Culicidae*).il est noté que chez les larves traitées à l'aide de l'extrait aqueux de *Citrullus Colocynthis* (*Cucurbitaceae*), un taux de mortalité qui varie en fonction de la concentration en extrait. Après cinq(5) jours Les larves traitées par les concentrations de 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40% et 30% présentent un taux de la mortalité maximal de 100%. Alors que chez les concentrations de 20%et 10% sont de l'ordre de 75 %; 70% et respectivement.

La concentration létale 50( $CL_{50}$ ) et la  $CL_{90}$  estimée pour les larves du troisième stade ( $L_3$ ) de *Culex pipiens*, ont montré que l'extrait est intéressant en termes de toxicité vu qu'il présente une  $CL_{50}$  et une  $CL_{90}$  exprimé en 0,0041g /ml et 0,0151g/ml respectivement.

L'évaluation des temps létaux Au vu des valeurs du  $TL_{50}$  et  $TL_{90}$  montre que l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis* à 100%,90%,80%,70%, 60%, 50%, 40% et 30% montré une rapidité d'action particulière vis -à-vis des larves  $L_3$  de *Culex pipiens*. Ces résultats bien qu'ils sont préliminaires, elles témoignent d'une bonne activité larvicide d'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis*.

**Mots clés** : Extrait aqueux, larvicide, *Citrullus Colocynthis*, moustique ; Sahara.

## **Evaluation biocides power of the aqueous extract of *Citrullus colocynthis* schard (*Cucurbitaceae*)**

### **Abstract**

This study focuses on the study of larvicide to aqueous extracts of *Citrullus colocynthis* (*Cucurbitaceae*) harvested in northern Sahara region in eastern Algeria Metlili (Ghardaia) vis-à-vis the L3 larvae of *Culex pipiens* (*Culicidae*) of moustique. It is noted that larvae treated with the aqueous extract of *Citrullus Colocynthis* (*Cucurbitaceae*), a mortality rate which varies with the concentration of extract. After five (5) days Larvae treated with concentrations of 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40% and 30% exhibit a maximum mortality rate of 100%. While in concentrations of 20% and 10% are of the order of 75%; And 70% respectively.

50 The lethal concentration (LC50) and the estimated third stage larvae (L3) of *Culex pipiens* LC90 showed that the extract is interesting in terms of toxicity since it has a LC50 and LC90 expressed as a 0,0041g / ml and 0.0151 g / ml, respectively.

The evaluation of the light of the lethal time values TL50 and TL90 shows that the aqueous extract *Citrullus colocynthis* to 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, 50%, 40% and 30% showed a rapid onset particular vis-à-vis the L3 larvae of *Culex pipiens*. Ces well what are preliminary results, they show a good larvicide activity of aqueous extract of *Citrullus colocynthis*.

Keywords: Aqueous extract, larvicide, *Citrullus Colocynthis*, mosquito; Sahara.

## تقييم قوة المستخلص المائي من نبات الحنظل (*Cucurbitaceae*) *Citrullus colocynthis* على اليرقات

### ملخص

يتركز هذا العمل على دراسة فعالية ابارة اليرقات لمستخلص مائي من الحنظل *Citrullus colocynthis* (*Cucurbitaceae*) في منطقة الصحراء الشمالية في شرق الجزائر (غرداية) L3 من *Culex pipiens* (البعوضيات). دلت نتائج الدراسة على أن معدل الوفيات يختلف مع اختلاف تركيز المستخلصات حيث تم تسجيل نسبة الحد الأقصى (100%). بعد خمسة (5) أيام في تراكيزات 100%، 90%، 80%، 70%، 60%، 50%، 40% و 30%. بينما في تراكيزات 20% و 10% هي 75%؛ و 70% على التوالي. التركيز المميت 50 (CL50) و90 (CL90) المقدر ليرقات الطور الثالث (L3) من *Culex pipiens* أن استخراج المثير للاهتمام من حيث السمية، حيث سجل LC50 LC90 بترتيب 0.0041 جم /مل و 0.0151 جم / مل، على التوالي. بين حساب زمن الوفاة (TL50) و (TL90) يدل على أن المستخلص المائي من *Citrullus colocynthis* الحنظل 100%، 90%، 80%، 70%، 60%، 50%، 40%، 30%. أظهرت ظهور خاص وفعال ضد يرقات البعوضة. ورغم ان هذه النتائج هي أولية، التي تظهر نشاطا حيويًا فعالًا للمستخلص المائي من الحنظل ضد اليرقات.

الكلمات الرئيسية: المستخلص المائي، يرقات، نبات الحنظل البعوض؛ الصحراء.

## Liste des tableaux

N°	Titres	page
1	Stades de vie des moustiques.	7
2	Taux de mortalité cumulé chez les larves de troisième stade (L <sub>3</sub> ) <i>Culex pipiens</i> traités par l'extrait aqueux de <i>Citrullus colocynthis</i>	20
3	Coefficients de régressions et les valeurs de TL <sub>50</sub> et TL <sub>90</sub> évaluées pour l'extrait de de <i>Citrullus colocynthis</i> .	26
4	Valeurs de CL <sub>50</sub> et CL <sub>90</sub> évaluées pour l'extrait de de <i>Citrullus colocynthis</i> .	27
5	Mortalités corrigée et probits correspondants en fonction de la concentration de l'extrait appliquée. évaluées pour l'extrait de <i>Citrullus colocynthis</i> .	27



## Liste des figures

N°	Titres	page
1	Schéma d'extraction par reflux de la poudre du <i>Citrullus colocynthis</i> .	13
2	Dispositif expérimental de l'étude.	18
3	effet de l'extrait aqueux de <i>Citrullus colocynthis</i> sur les larves de troisième <i>Culex pipiens</i> .	17
4	Cinétique de la mortalité journalière chez les larves du troisième ( <i>Culex pipiens</i> ) traité par l'extrait aqueux de <i>Citrullus colocynthis</i> .	22
5	Relation entre <i>Culex pipiens</i> et les différentes concentrations de l'extrait aqueux de <i>Citrullus colocynthis</i> en fonction de temps.	23-25
6	Relation concentration-activité larvicide de l'extrait aqueux de <i>Citrullus colocynthis</i> .	28

## Liste des photos

<b>N°</b>	<b>Titres</b>	<b>page</b>
<b>1</b>	Récipient utilisé pour l'élevage des moustiques(originale).	<b>8</b>
<b>2</b>	<i>Citrullus colocynthis</i> L. Schard, au stade fructification (Oued Metlili Région de Ghardaïa Mai 2013).	<b>10</b>
<b>3</b>	Dispositif d'extractions des principes actifs par reflux (originale).	<b>11</b>
<b>4</b>	Elimination de méthanol (originale).	<b>12</b>
<b>5</b>	Présentation des différents lots expérimentaux (originale).	<b>13</b>
<b>6</b>	Réalisation des tests biologiques.	<b>14</b>

# ***SOMMAIRE***

## Table des matières

N°	Titres	pages
	Dédicace	
	Remerciement	
	Liste de tableaux	
	Liste des figures	
	Liste des photos	
	Résumé	
	Introduction	2
<b>Chapitre I: MÉTHODOLOGIE DE TRAVAIL</b>		
I.1	Principe adopté	5
I.2	Matériels utilisés	6
I.2.1	Matériel biologique	6
I.2.1.1	Insecte test	6
I.2.1.1.1	Élevage de l'insecte	7
I.2.1.2	Choix de la plante	8
I.2.1.2.1	Citrullus colocynthis L. Schard	9
I.2.2	Matériels et produits utilisé au laboratoire	10
I.2.2.1	Matériels utilisé pour la préparation de l'extrait	10
I.3	Méthodologie du travail	11
I.3.1	Préparation des extraits aqueux	11
I.3.2	Constitution des lots expérimentaux	12
I.3.3	Test biologique	13
I.3.4	Exploitation des résultats	14
I.3.4.1	Taux de mortalité	14
I.3.4.2	Temps de mortalité	15

I.3.4.3	Concentration d'efficacité CE <sub>50</sub>	15
	<b>Chapitre II: RÉSULTATS ET DISCUSSIONS</b>	
II .1	Action sur la mortalité	18
II .2	Cinétique de la mortalité observée chez les larves de troisième stade (L <sub>3</sub> ) de <i>Culex pipiens témoins et traitées par l'extrait aqueux de Citrullus colocynthis</i>	21
II .3	Temps léthal 50 (TL <sub>50</sub> ) et 90 (TL <sub>90</sub> ) de l'extrait de <i>Citrullus colocynthis</i>	22
II .4	Concentration léthal 50 (CL <sub>50</sub> ) et 90 (CL <sub>90</sub> ) de l'extrait de <i>Citrullus colocynthis</i>	26
	Conclusion	30
	Référence bibliographique	

# ***INTRODUCTION***

## Introduction

Au cours des temps l'homme a dû faire face à une impérieuse nécessité de distinguer les plantes utiles de celles qui tuent. L'usage des plantes à des fins thérapeutique ou narcotique et leur ingestion accidentelle ou par confusion avec d'autres plantes comestibles, déterminent des accidents fréquents dans le monde. (BENOUADAH, 2009).

La végétation des zone arides et semi arides et en particulier celles du Sahara, et très clairsemée, à aspect en général nu et désolé, les arbres sont aussi rares voir dispersée et les herbes n'yapparaissent que pendant une période très brève de l'année notamment les conditions devenues favorables.(CHEHMA *et al.*,2005)

Plusieurs facteurs affectent activité biocide, notamment concentration, période de contact, le pH, la température, la présence de matériel interfère, et les types, les chiffres, l'emplacement et l'état de micro-organismes (RUSSELL, 2003).

Les moustiques ont toujours été considérés comme source de nuisance pour l'homme, principalement en raison du fait qu' ils peuvent être des vecteurs de maladies. Les femelles en période de reproduction ont besoin de sang pour le développement des œufs et certaines espèces ont une préférence marquée pour le sang humain. (AOUINTY *et al.*, 1999).

En Algérie, l'espèce *Culex pipiens* est sans doute la plus connue et la plus redoutée du fait du désagrément que constitue sa présence. Par conséquent, la lutte contre ce diptère doit devenir un des objectifs principaux des services municipaux de santé publique. Actuellement, les méthodes de lutte pratiquées sont d'une efficacité douteuse. Il apparaît notamment que les insecticides utilisés ne répondent pas à leur destination, soit du fait de leur activité insuffisante, soit du fait de la résistance des Culicidae à certains d'entre eux. (BERCHI et AMEL, 2010).

Au cours des dernières années, les efforts ont été dirigé vers l'utilisation d'extraits de plantes afin de fournir des alternatives aux insecticides synthétiques. Les plantes ont évolué chimique de nombreux mécanismes de défense contre les insectes. Comme le résultat d'interactions avec les insectes, les plantes synthétisent une large gamme de différents composés chimiques appelés métabolites secondaires, tels que les alcaloïdes, les polyphénols, terpenoids, des stéroïdes, des huiles essentielles , les lignanes, sucres, acides gras et, pour protéger les plantes insectes. La majorité des produits commercialement les insecticides

botaniques utilisent les effets des métabolites végétaux qu'ont toxicité aiguë ou chronique pour les insectes (LADHARI *et al.*, 2013).

Ce travail est divisé en deux parties la première partie concerne l'étude de l'effet larvicide des extraits de *Citrullus colocynthis*. La deuxième partie présente les résultats et la discussion. L'étude est achevée par une conclusion et des perspectives.



# *Chapitre I- Matériels et Méthodes*

## Chapitre I-Matériels et Méthodes

### I.1-Principe adopté

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 leurs agresseurs phytophages. Ces composés dits secondaires sont des substances qui se retrouvent de façon sporadique chez les plantes dans l'appareil souterrain et aérien (PHILOGENE, 1991). D'après FEENY (1975), il existe deux catégories de composés secondaires des plantes:

- Des composés à valeurs quantitatives agissant selon leurs concentrations, on cite les tannins, ce sont des substances phénoliques qui ont 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 répulsif lorsqu'elles empêchent l'approche des ravageurs ou bien toxique lorsqu'elles engendrent des perturbations profondes qui se traduisent par un désordre métabolique ou physiologique ou bien dans le cas extrême par la mort de l'individu.

Face à ce constat, la présente étude recherche, à partir d'extrait aqueux, à isoler les fruits de *Citrullus colocynthis*(*Cucurbitaceae*), une plante spontanée récoltée au Sahara septentrional Est algérien, d'évaluer le pouvoir biocide de l'extrait de cette plante toxique chez le troisième stade des larves de *Culex pipiens* (*Culicidae*). Les critères d'appréciation sont non seulement les taux de mortalité, mais aussi les effets en termes de perturbation de phénomène de l'exuviation chez ces insectes.

## I.2- Matériels utilisés

### I.2.1-Matériel biologique

Le matériel biologique se compose les fruits de *Citrullus colocynthis* récoltées d'oued Metlili (région de Ghardaïa Sahara septentrional Est algérien) et des larves de *Culex pipiens* de troisième stade.(04/2014)

#### I.2.1.1-Insecte test

*Culex pipiens* appartient à la famille des *Culicidae* (ROTH, 1980). Cette dernière est divisée en trois sous-familles; les *Culicinae*, *Anophelinae* et les *Toxorhynchetinae* et elle regroupe environ 3200 espèces réparties sur 37 genres (KNIGHT et al, 1977). Comme tous les moustiques, les femelles de *Culex pipiens* sont hématophages. Les mâles, par contre se nourrissent de jus sucré. Généralement les moustiques présentent au cours de leur développement une phase aquatique et une phase aérienne. Elles 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 capables de s'adapter à diverses conditions climatiques ou à des changements de conditions environnementales (CLÉMENTS, 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 larvaires potentiels (CLÉMENTS, 2000). La position systématique de *Culex pipiens* est comme suivant :

<b>Règne</b>	Animal
<b>Embranchement</b>	Arthropodes
<b>Sous-embranchement</b>	Antennates
<b>Classe</b>	Insectes
<b>Sous-classe</b>	Ptérygotes
<b>Section</b>	Oligonéoptères
<b>Super ordre</b>	Mécoptéroïdes
<b>Ordre</b>	Diptères

<b>Sous-ordre</b>	Nématocères
<b>Famille</b>	<i>Culicidae</i>
<b>Sous-famille</b>	<i>Anophelinae</i>
<b>Genre</b>	<i>Culex</i>
<b>Espèce</b>	<i>Culex pipiens L</i>

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 successives. La durée du stade larvaire dépend de conditions environnementales dont la température et les ressources alimentaires (tableau 1). Après une 4<sup>e</sup> mue larvaire, la larve de 4<sup>e</sup> stade donne naissance à une nymphe (Imago imparfait). Après quelques jours selon les conditions de l'environnement, une mue nymphale va avoir lieu et conduit à l'imago parfait aérien (BOYER, 2006).

**Tableau 1** - Stades de vie des moustiques

Formes	Milieu de vie	Déplacement	Durée de vie
œuf	Aquatique		24 heures à 36 heures
Larve	Aquatique	Mobile	huit à dix jours et plus
Nymphe ou Pupe	Aérienne	Mobile	2 à 3 jours
Adulte	Aérienne	en volant	3 à 4 semaines.

#### I.2.1.1.1-Élevage de l'insecte

L'élevage de l'insecte est maintenu dans les conditions naturelles de la commune de Ghardaïa. Dans des récipients de 5 litres de capacité remplis d'eau de robinet l'élevage est maintenu. La souche utilisée, c'est une souche locale commune à cette région.



**Photo 1** - Récipient utilisé pour l'élevage des moustiques ( photo originale).

Les récipients d'eau sont placés dans une palmeraie à côté d'un drain d'évacuation des eaux d'irrigation supplémentaire afin d'avoir une source de contamination par les moustiques (photo 1). D'une façon volontaire, les femelles vont déposer leurs œufs dans ces réceptions. La nourriture des larves est assurée par de la poudre de biscuit (source de sucres) et par de la levure du Bière (source de protéines et de vitamines). Pour avoir suffisamment des larves de moustique, 4 récipients sont préparés et déposés l'un à côté de l'autre avoisinant le drain. L'élevage en plein champs est commencé dès le mois de Janvier 2014 , Il est maintenu jusqu'à la fin des travaux expérimentaux.

#### **I.2.1.2-Choix de la plante**

La capacité que possèdent les plantes de se protéger a été réexaminée en détail depuis le début du siècle en vue d'être exploitée à des fins agronomiques et dans le domaine de la santé publique (VERSCHAFFCLT, 1910). Les propriétés insecticides des métabolites d'origine végétale comme la nicotine, la roténone et le pyrèthre sont connues. Certes, l'avènement des insecticides de synthèse a mis en veilleuse les recherches sur les produits naturels d'origine végétale. La lutte contre les insectes entre donc dans une

nouvelle phase puisque cette approche «botanique» fournit des moyens de lutte en meilleure harmonie avec l'environnement, moyen provenant des organismes à protéger eux-mêmes.

Selon SAXENA 1988, Les progrès notoires accomplis dans ce domaine sont dus en grande partie à la collaboration étroite des pyrotechniciens, des entomologistes, des chimistes et des toxicologues. A cet effet, en se basant sur la liste des plantes toxiques citée par BOUREGAA et BOUZIDE (2011), *Citrullus colocynthis*. est retenue par cette étude. Les fruits de *Citrullus colocynthis* ont été collectés d'Oued Metlili durant le mois de Mars 2014.

#### **I.2.1.2.1- *Citrullus colocynthis* Schard**

La coloquinte *Citrullus colocynthis* Schard. est une plante rampante herbacée, annuelle ou vivace. Les tiges sont angulaires, rugueuses, rampantes ou migrantes et rudes. Les feuilles de 5 à 10 cm de longueur, ont un limbe découpé en 5 à 7 lobes. Les fleurs jaunes verdâtres, monoïques à sexes séparés, solitaires, apparaissent entre le mois de Mai et Août à l'aisselle des feuilles. La corolle de couleur jaune comporte cinq lobes. Les fruits sphériques de 7 à 10 cm de diamètre, ressemblant à une petite pastèque, de couleur verte panachée de jaune clair, devient complètement jaune à maturité. La chair légère, spongieuse, de couleur jaune orangé. Une plante produit 15 à 30 fruits. Les graines de petite taille (6mm de longueur), ovoïdes et aplaties, lisse, de couleur variant de l'orange au brun noirâtre et ont une saveur amère (JOHN et CINCINNATI, 1898 ; DUKE, 1983).

La coloquinte, originaire des sols arides, est très fréquente dans les régions tropicales humides ou modérément sèches, elle est peu présente dans les zones tempérées (BRUNETON, 1996). Elle occupe une région très vaste qui s'étend du Nord-Africain, du Sahara, Egypte, Arabie Saoudite jusqu'en Inde, ainsi que la région méditerranéenne (sud européen) (BATANOUNY et *al.*, 1999).



**Photo 2-** *Citrullus colcoynthis* L. Schard, au stade fructification (Oued Metlili Région de Ghardaïa Mai 2013).originale.

## **I.2.2- Matériels et produits utilisés au laboratoire**

### **I.2.2.1- Matériels utilisés pour la préparation de l'extrait**

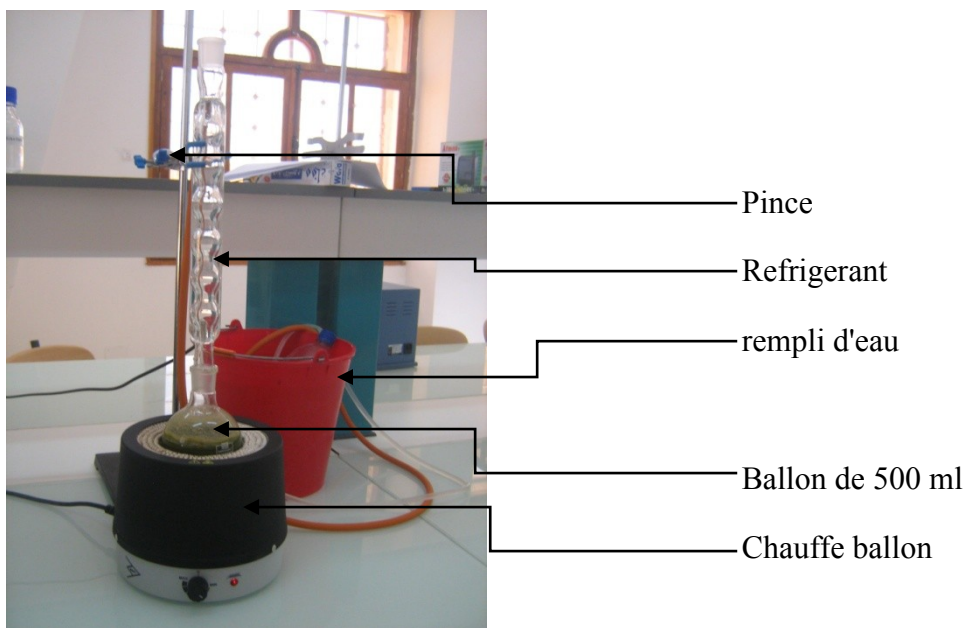
Afin de réaliser cette étude, plusieurs types d'appareillage a été utilisé, citant :

- Une balance de précision pour effectuer les pesées des poudres ;
- Bêchers de 500 ml utilisé pour l'extraction;
- Erlenmeyer de 1000 ml utilisé pour l'extraction;
- Papiers filtres pour la filtration des extraits d'échantillons de plantes;
- Ballons de 500 ml utilisé pour l'extraction;
- Chauffe ballon pour l'évaporation des solvants;
- Réfrigérant;
- Un coude pour la concentration des extraits par évaporation de méthanol utilisés pour l'extraction;
- Flacon en verre;
- Méthanol et l'eau distillée.

### I.3-Méthodologie de travail

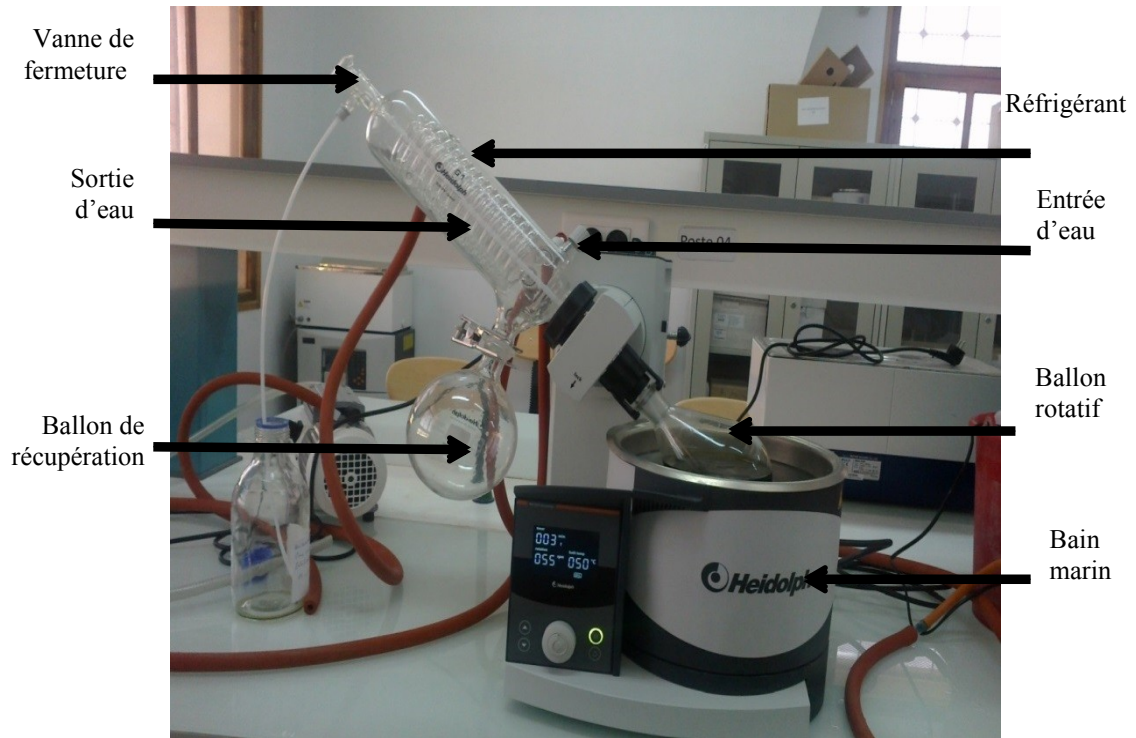
#### I.3.1-Préparation des extraits aqueux

Les extraits aqueux sont obtenus par solubilisation des fractions actives dans de l'eau distillée et de méthanol, le type d'extraction choisie c'est une extraction par reflux. Le fruit de la plantes testée est rincée à l'eau, est laissée séchée pendant quelques jours à l'air libre et dans la température ambiante. Une fois séchées, elles seront broyées et conservées dans des bocaux en verre hermétiquement fermés, portant une étiquette où le nom de l'espèce, la date et lieu de récolte sont mentionnés. 100 grammes de la poudre végétale est mise dans un ballon de 500ml de capacité avec suffisamment de la solution aqueuse de méthanol 2:1 (2/3 de méthanol et 1/3 d'eau distillée). Le ballon est surmonté par un réfrigérant permettant la condensation des fractions volatiles organiques lors de l'extraction. Le mélange est porté à ébullition à 50°C pendant 6 heures (photo 3). L'homogénat est refroidi et filtré à l'aide d'un papier filtre ordinaire. Pour éliminer le méthanol, le filtrat est soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un rotor vapor(photo 4). Le produit obtenu, est un extrait aqueux qui servira par la suite aux tests biologiques.



**Photo 3** - Dispositif d'extraction des principes actifs par reflux (originale).

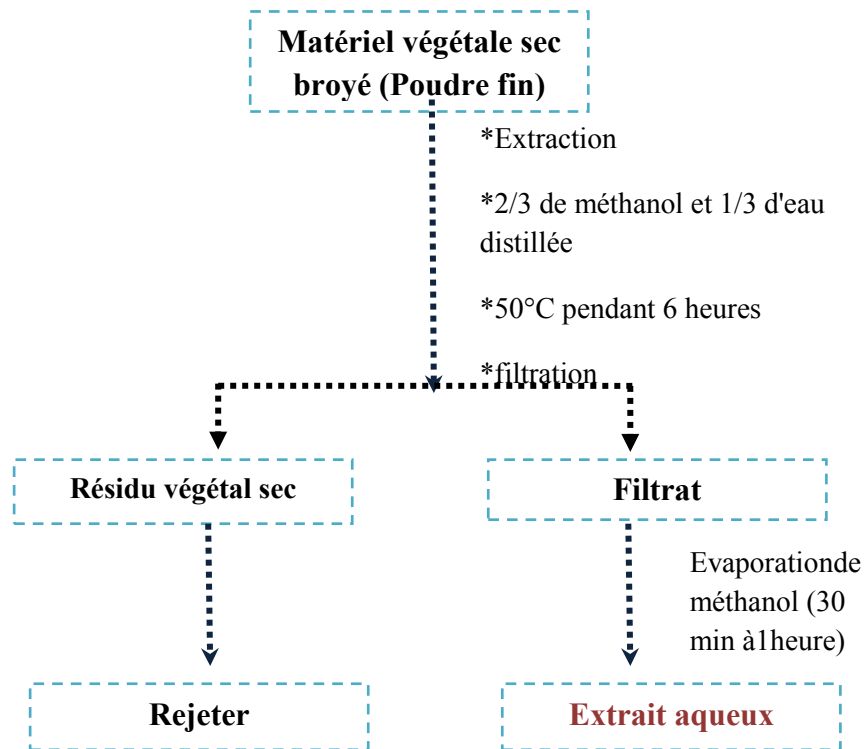




**Photo 4:** Elimination de méthanol (originale).

### I.3.2- Constitution des lots expérimentaux

Dans la présente étude, douze (12) lots sont constitués, dont un lot témoin et dix lots pour les traitements. Chaque lot constitué est caractérisé par une concentration en extrait végétal de *Citrullus coloncythis* Schard. définie dont l'extrait à 100%, à 90% à 80%, 70%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20% et à 10%. Pour chaque lot, trois répétitions sont réalisées (3 Gobelets) (figure 2).



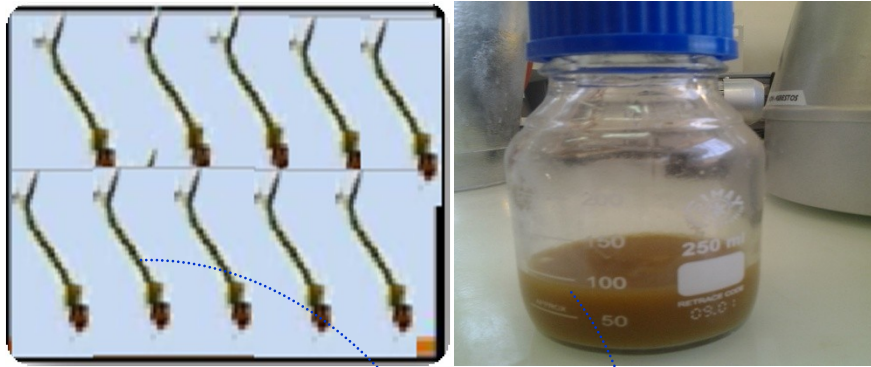
**Figure 1** -Schéma d'extraction par reflux de la poudre du *Citrullus coloncythis*.

### I.3.3. Test biologique

L'étude de la toxicité concerne l'extrait aqueux de *Citrullus coloncythis*, récolté au Sahara septentrional Est algérien sur les larves de 3<sup>ème</sup> stade du moustique *Culex pipiens*. Dix (10) larves de 3<sup>ème</sup> stade sont mises dans un gobelet avec 4ml de la solution de milieu de culture, pour lequel on rajoute 4ml d'extrait végétal ou témoin (figure 2). L'expérimentation est suivie durant 5 jours en notant quotidiennement le nombre des larves qui meurent et toutes observations jugées utiles et distinctives.



**Photo 5** : Présentation des différents lots expérimentaux (originale).



10 larves dans 100 ml de milieu de culture

4 ml pour chaque concentration



**Photo 6** - Réalisation des tests biologiques.

### **I.3.4.-Exploitation des résultats**

Pour notre étude, trois paramètres sont étudiés dont: le taux de mortalité, le temps de mortalité 50 (TL<sub>50</sub>) et les concentrations d'efficacité CE<sub>50</sub> et CE<sub>90</sub>.

#### **I.3.4.1. 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<sup>e</sup> stade témoins et traités, est estimé en appliquant la formule suivante:

$$\text{Mortalité observée} = [\text{Nombre de morts}/\text{Nombre total des individus}] \times 100$$

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

#### **I.3.4.2. Temps de mortalité**

Le temps léthal 50 (TL<sub>50</sub>), 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 de traitement.

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 (KEMASSI *et al.*, 2013).

#### **I.3.4.3. Concentration d'efficacité CE<sub>50</sub>**

Les lettres CE désignent la «concentration d'efficacité» ; la CE<sub>50</sub> est la quantité d'une matière, administrée en une seule fois, qui cause la mort de 50% (la moitié) d'un groupe traité. La CE<sub>50</sub> est une façon de mesurer le potentiel toxique à court terme (toxicité aiguë) d'une matière. Pour les tests avec dilutions, le pourcentage de mortalité pour l'ensemble des larves de chacune des concentrations est utilisé pour le calcul de la CE<sub>50</sub>. La CE<sub>50</sub> est estimée selon la méthode des Probits.

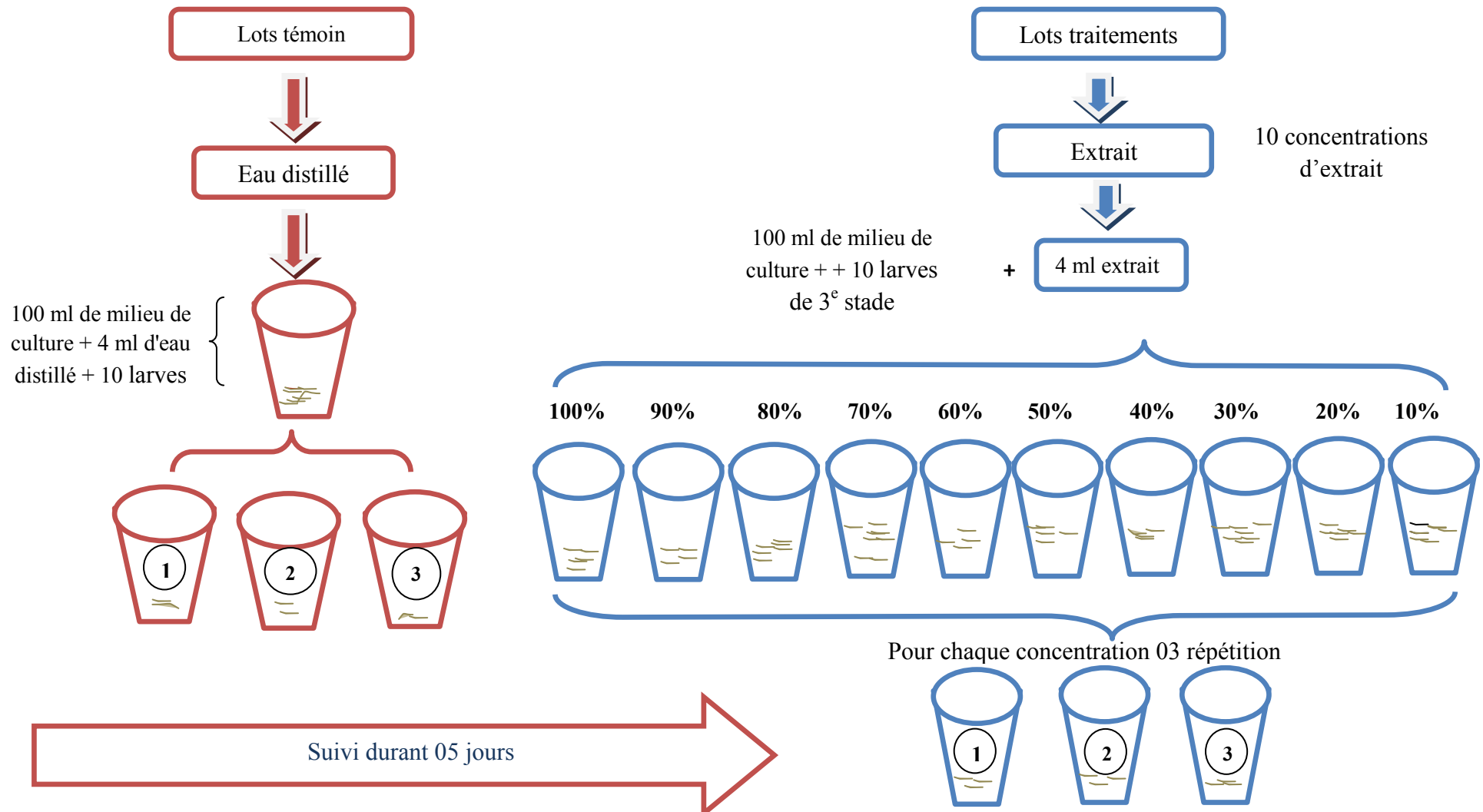


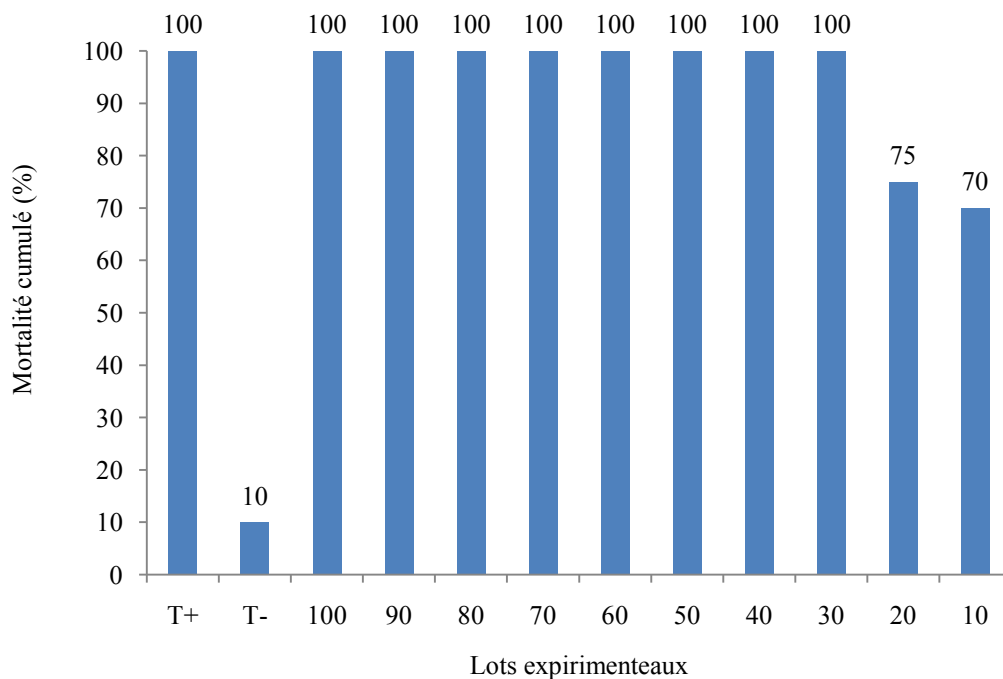
Figure 2 : Dispositif expérimental de l'étude.

# *Chapitre II- Résultats et Discussion*

## Chapitre II- Résultats et Discussion

### II .1-Action sur la mortalité

Histogramme (La figure 3) représente le taux de la mortalité cumulée en fonction des différentes concentration testés soit 100% ,90%, 80%, 70% ,60%,50%,40%, 30%,20%et10% par rapport au témoin positif(insecticide) et témoin négatif(eau distillé) .



**Figure 3-** Effet de l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis* sur les larves de troisième stade *Culex pipiens*

Les résultats laissent apparaître que la toxicité chez les larves de troisième stade *Culex pipiens*, de l'extrait aqueux de fruit *Citrullus colocynthis*. On remarque par tout les concentrations enregistrer un taux de la mortalité maximal de 100% après 120 heures. Par contre le taux de mortalité 75% pour concentration 20% et 70% pour concentration 10%.

Selon de (BENDEKEN, 2013),Les résultats obtenus par L'extrait de *Cleome arabica L. (Capparidaceae)* ont montrés que la molécule entraine une mortalité significative des larves dans la série traitée par rapport à la série témoin.l'extrait engendre un taux de mortalité de 100% pendant 24h .

Selon les travaux de (BOUDJELIDA, 2011), les résultats montrent que l'extrait saponosidique de graine de plusieurs plantes notamment la saponaire, la graine de Cannélie (thé), la lavande, la tomate, pomme de terre ont une activité insecticide à l'égard des larves du stade 3 et 4 des moustiques *Culex pipiens*. Le traitement a été effectué pendant 24 heures selon les recommandations de l'OMS.

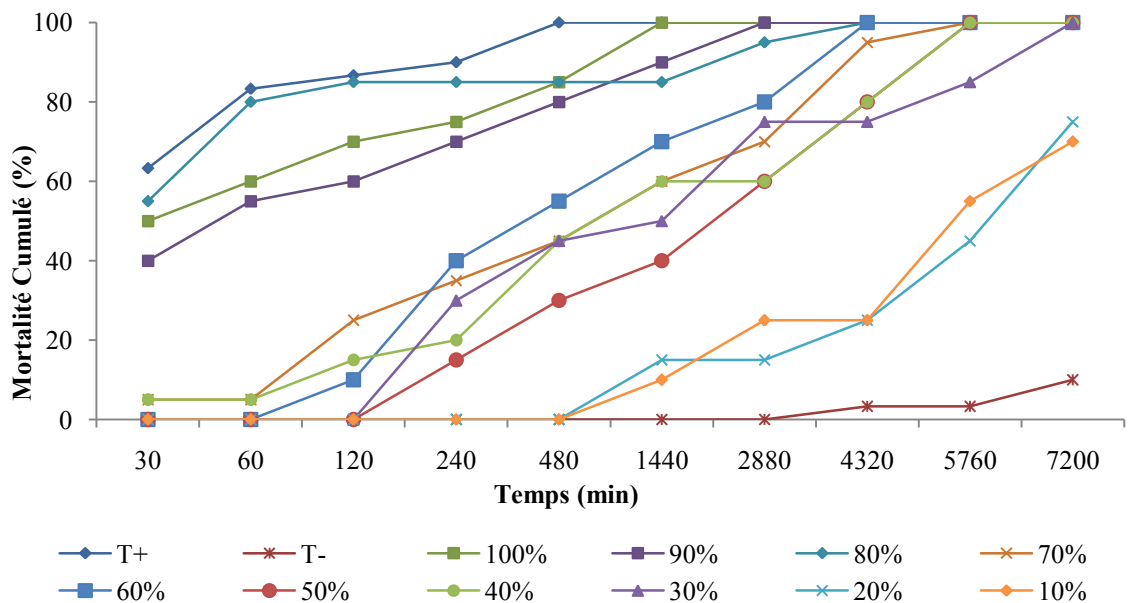


**Tableau 2-** Taux de mortalité cumulé chez les larves de troisième stade (L<sub>3</sub>) *Culex pipiens* traités par l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis*

Temps (h)	Témoins		Extrait (%)									
	T+	T-	100	90	80	70	60	50	40	30	20	10
0.5h	65	0	50	40	55	5	0	0	5	0	0	0
1h	80	0	60	55	80	5	0	0	5	0	0	0
2H	85	0	70	60	85	25	10	0	15	0	0	0
4H	90	0	75	70	85	35	40	15	20	30	0	0
8H	100	0	85	80	85	45	55	30	45	45	0	0
24h	100	0	100	90	85	60	70	40	60	50	15	10
48h	100	0	100	100	95	70	80	60	60	75	15	25
72h	100	5	100	100	100	95	100	80	80	75	25	25
96h	100	5	100	100	100	100	100	100	100	85	45	55
120h	100	10	100	100	100	100	100	100	100	100	75	70

## II.2- Cinétique de la mortalité observée chez les larves de troisième stade ( $L_3$ ) de *Culex pipiens* témoins et traitées par l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis*

La figure 4 représente le taux de la mortalité en fonction de temps. L'étude a été réalisée dans les conditions naturelles, où 12 lots sont choisis avec une période de suivi de Cinq jours (120 h).



**Figure 4** - Cinétique de la mortalité journalière chez les larves du troisième stade (*Culex pipiens*) traité par l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis*.

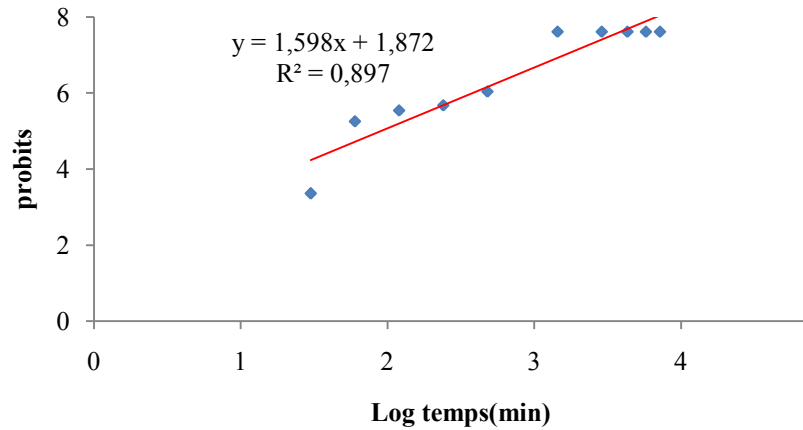
Commencé dès la 0.5 heure qu'ont suivie le traitement. Les résultats montrent un taux de mortalité élevé noté au niveau des lots traités par l'extrait à concentration 100% et 90% et 80% est notée 50%, 40%, 55.5% respectivement., 70% et 40% est 5%. Par contre les concentrations 60%, 50%, 30%, 20%, 10% est enregistré par des concentrations nulles. Après 24 heures les taux de mortalité à la concentration 100% est noté 100%, et pour les concentration de 90% et 80% après 72 heures est notée 100%. Pour les concentrations des 70%, 60%, 50%, 40%, 30% après 96 heures est les taux de mortalité est notée 100%. Par contre les concentrations 20%, 10% n'arrive pas à 100% Après 120 heures. A la fin de cette expérience (5 jours après le traitement).

En 1979, l'étude de (RAGEAU et al) sur l'effet des extraits alcoolique de plante entier de *Cuscuta epithimum* (*Cuscutoidae*), les résultats obtenus donnent un taux de mortalité de 50% durant 3 jours après traitement, ce taux augmente avec le temps pour arriver à 100% après 7 jours.

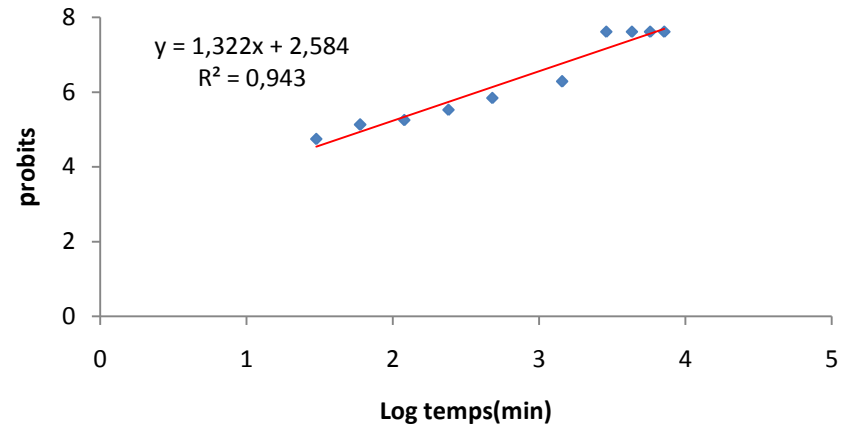
### **II .3.-Temps létal 50 (TL<sub>50</sub>) et 90 (TL<sub>90</sub>) de l'extrait de *Citrullus colocynthis***

Au vu des valeurs du TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub> (tableau3) de chaque concentration de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* et le droite de régression des probits en fonction du logarithme du durées de traitement(Figure 5) la concentration de T+ il est noté que la valeur plus courte de TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub> (0.106 et 2.31 heure), (100%,90%,80%,70%,60%,50%,et 40%) avec une durée supérieur de (plus de 0.279 à 25.277 heure) pour (TL<sub>50</sub>) et (plus de 7.176 à 67.092 heure) pour (TL<sub>90</sub>) . suivi par la concentration de (20% et 10 %) la plus élevée (136.338 et 123.461 heure) respectivement avec (TL<sub>50</sub>) et (434.862 et 382.742 heure) respectivement pour (TL<sub>90</sub>).

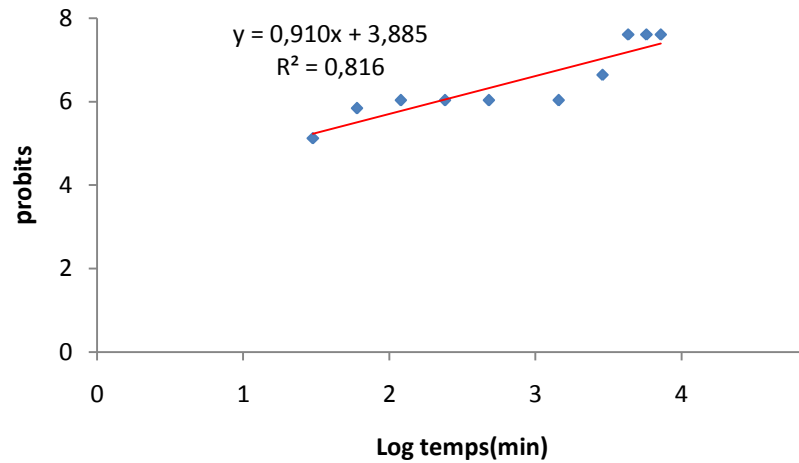
En 2010 , (BECHROUCH et al),L'activité larvicides d'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* (*Anacardaceae*) sur *Ectomyelois ceratoniae* Zeller et *Ephestia kuehnilla* Zeller (*Lepidoptera-Pyralidae*) .Le TL<sub>50</sub> rapporté varie de 37,4 h par la dose la plus faible (23ml/l d'air) à 13,3 h pour le plus élevé (68ml/l d'air)sur *E. kuehnilla* ,alors que *ceratoniae*, il varie de 75,3 à 34,3 heures par les doses les plus faibles et les plus élevés ,respectivement.



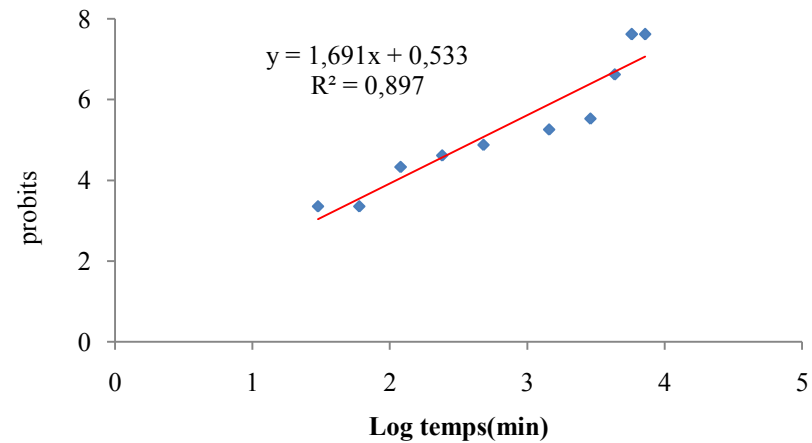
Action de l'extrait (100%) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub>*Culex pipiens*.



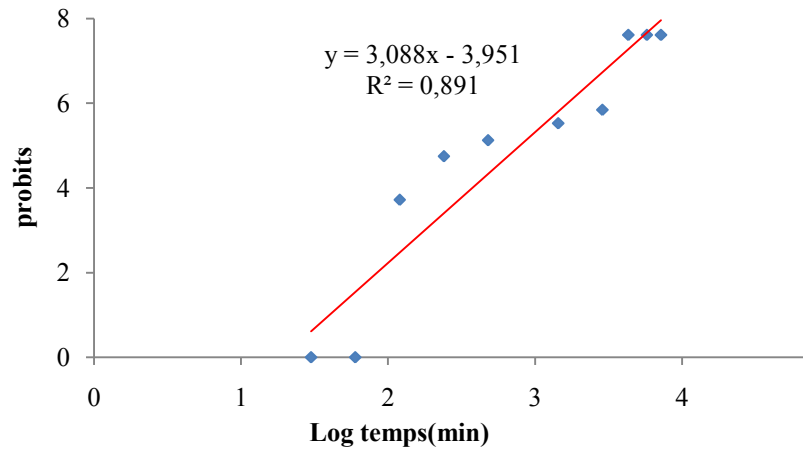
Action de l'extrait (90%) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub>*Culex pipiens*.



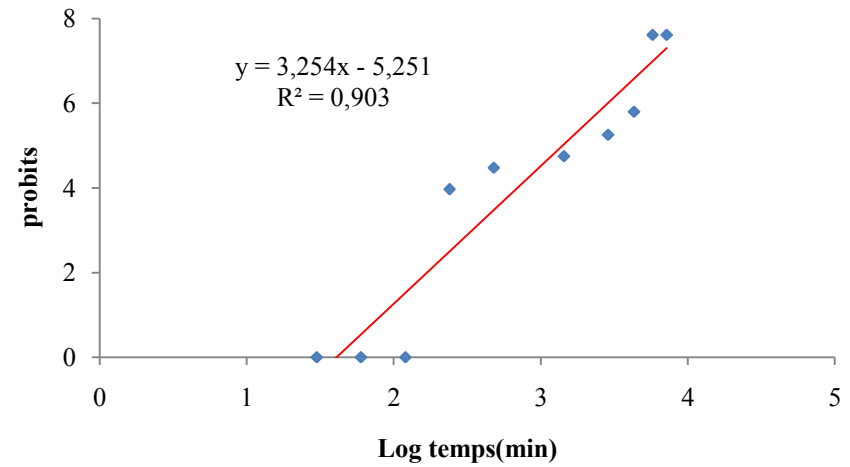
Action de l'extrait (80%) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub>*Culex pipiens*.



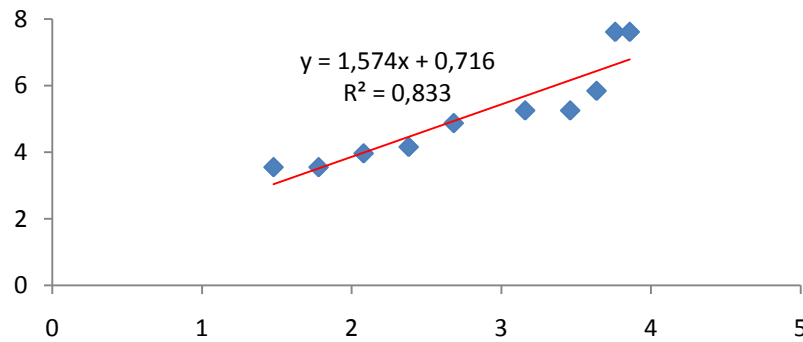
Action de l'extrait (70%) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub>*Culex pipiens*.



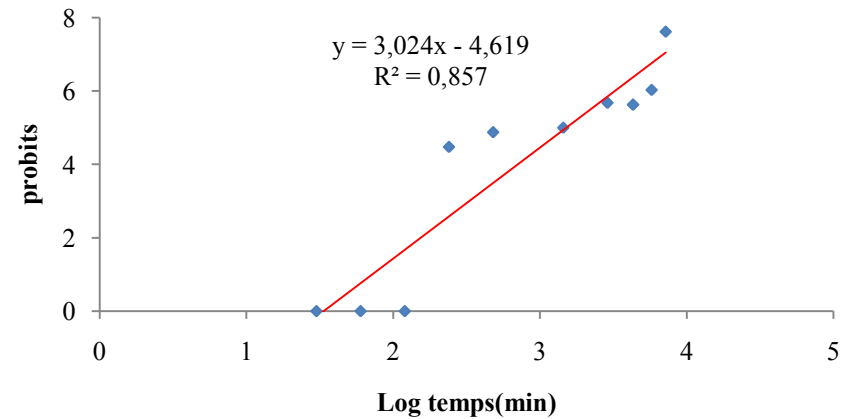
Action de l'extrait (60%) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub> de *Culex pipiens*.



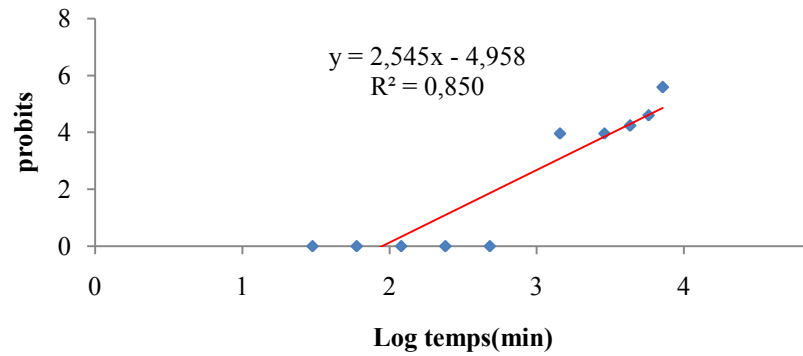
Action de l'extrait (50%) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub> de *Culex pipiens*.



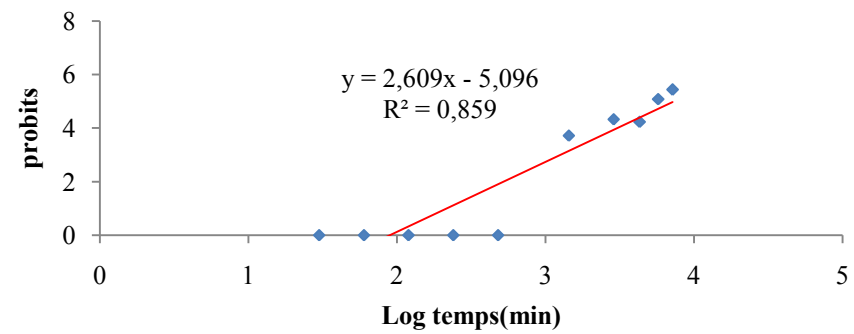
Action de l'extrait (40%) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub> de *Culex pipiens*.



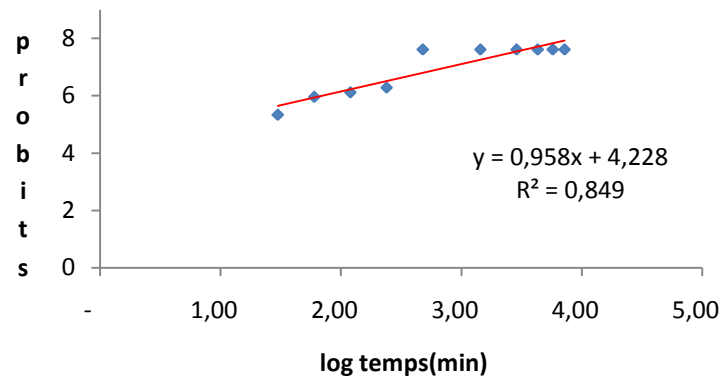
Action de l'extrait (30%) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub> de *Culex pipiens*.



Action de l'extrait (20%) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub> de *Culex pipiens*.



Action de l'extrait (10%) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub> de *Culex pipiens*.



Action de l'extrait (T+) de *Citrullus colocynthis* dans le temps sur les larves L<sub>3</sub> de *Culex pipien* .

**Figure 5-** Relation entre *Culex pipiens* et les différentes concentrations de l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis* en fonction de temps.

**Tableau 3** - Coefficients de régressions et les valeurs de TL<sub>50</sub> et TL<sub>90</sub> évaluées pour l'extrait de de *Citrullus colocynthis*.

Concentration	Équation de régression	Coefficient de régression	Temps létaux(heur)	
			TL <sub>50</sub>	TL <sub>90</sub>
T+	$y = 0,958x + 4,228$	$R^2 = 0,849$	0,106	2,311
100%	$y = 1,598x + 1,872$	$R^2 = 0,897$	1,511	9,584
90%	$y = 1,322x + 2,584$	$R^2 = 0,943$	1,120	10,450
80%	$y = 0,910x + 3,885$	$R^2 = 0,816$	0,279	7,176
70%	$y = 1,691x + 0,533$	$R^2 = 0,897$	7,302	41,841
60%	$y = 3,088x - 3,951$	$R^2 = 0,891$	13,197	34,327
50%	$y = 3,254x - 5,251$	$R^2 = 0,903$	23,557	58,358
40%	$y = 1,638x + 0,493$	$R^2 = 0,849$	8,781	13,265
30%	$y = 3,024x - 4,619$	$R^2 = 0,857$	25,277	67,092
20%	$y = 2,545x - 4,958$	$R^2 = 0,850$	136,338	434,862
10%	$y = 2,609x - 5,096$	$R^2 = 0,859$	123,461	382,742

#### II .4- Concentrations létales 50 (CL<sub>50</sub>) et 90 (CL<sub>90</sub>) de l'extrait de *Citrullus colocynthis*

Dans le but de donner une signification plus logique aux quantités de matière végétale solubles dans les extraits aqueux, ces derniers ont été concentrés par évaporation dans une étuve portée à 40 °C pendant 48 h, jusqu'à l'obtention d'un résidu sec dont la quantité est exprimée en mg. Cela permet d'exprimer les concentrations létales.

Les résultats de CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> sont répertoriés dans le tableau 4 et sont déterminés à partir du graphe (figure 6).

**Tableau 4** - les valeurs de CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> évaluées pour l'extrait de *Citrullus colocynthis*

Concentration létal (g /ml)	
CL <sub>50</sub>	CL <sub>90</sub>
0,0041	0,0151

Les CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> calculées pour des larves du troisième stade (L<sub>3</sub>) de l'espèce *Culex pipiens* ; ont montré que une dose de 0,0041g /ml admet un taux de mortalité de 50% des larves de même espèce et une quantité de 0,0151g/ml réalisée un taux de 90%.

Selon BEN DEKKEN, 2013.Les CL<sub>50</sub> et CL<sub>90</sub> calculées pour des larves du troisième stade (L<sub>3</sub>) de l'espèce *Culex pipiens* ; ont montré qu'une dose de 0,190 mg /l admet un taux de mortalité de 50% des larves de même espèce et une quantité de 2 mg/l réalisé un taux de 90% évalués par l'extrait de *Cleome arabica* .

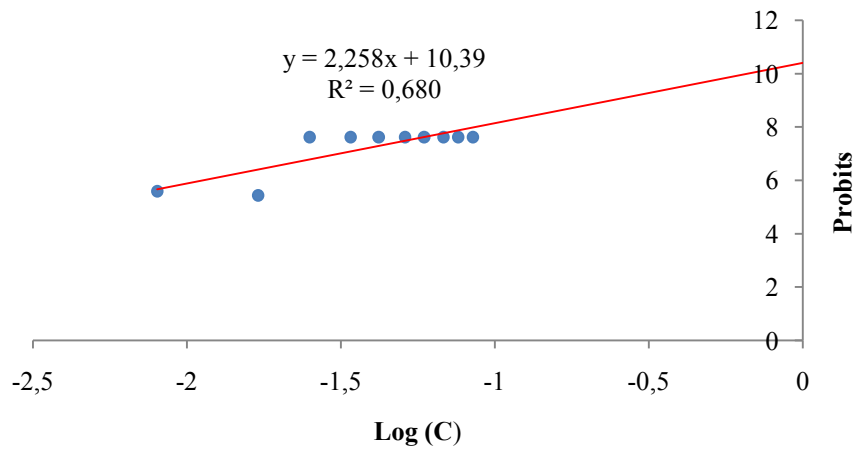
**Tableau 5** - Mortalités corrigée et probits correspondants en fonction de la concentration de l'extrait appliquée.

Concentration en %	concentration en g /ml	Log Concentration	probit
100%	0.085	-1,07143347	7.614
90%	0.076	-1,11918641	7.614
80%	0.068	-1,16749109	7.614
70%	0.059	-1,22914799	7.614
60%	0.051	-1,29242982	7.614
50%	0.042	-1,37675071	7.614
40%	0.034	-1,46852108	7.614
30%	0.025	-1,60205999	7.614



20%	0.017	-1,76955108	5,433
10%	0.008	-2,09691001	5,587

Selon le tableau 4 et la figure6 au-dessous représente la relation entre la concentration et le taux de mortalité corrigé exprimé par le probit :



**Figure 6:** Relation concentration-activité larvicide de l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis*.

# ***CONCLUSION***

---

## Conclusion

A travers cette étude, nous avons rapporté notre contribution à l'étude du pouvoir larvicide (larves des moustiques) des extraits aqueux de *Citrullus colocynthis* (*Cucurbitaceae*) sur les larves de troisième stade de *Culex pipiens* (*Diptera-Culicidae*).

D'après les tests biologiques, il est noté que l'activité larvicide variée selon les concentrations et en fonction de temps, et que les valeurs enregistrées pour le lot témoin sont plus faibles que celles notées pour les lots testés au bout de 120 heures. Les résultats obtenus, montre un taux de mortalité cumulé de 10% observé chez le slots témoins .l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis* (*Cucurbitacées* ) produit une mortalité maximale après cinq(5)jours de 100% réalisé par les concentrations de 100% ,90%,80%,70% et 60%,50% ,40%,30% alors qu'elles de 75 et 70% pour la concentrations 20%et 10%. Cette variabilité est due à la quantité de l'extrait et le temps déterminé par un dose létale permet d'effectuer un taux de mortalité de 50% et 90% exprimé en 0,0041g /ml et 0,0151g/ml respectivement.

Au vu des valeurs du  $TL_{50}$  et  $TL_{90}$  de chaque concentration de l'extrait aqueux de *C. colocynthis* et les droites de régression des probits en fonction du logarithme du durées de traitement la concentration de T+ il est noté que la valeur plus courte de  $TL_{50}$  et  $TL_{90}$  (0.106h et 2.31 heure), (100%,90%,80%,70%,60%,50%,et 40%) avec une durée supérieur de (plus de 0.279 à 25.277 heure) pour ( $TL_{50}$ ) et (plus de 7.176 à 67.092 heure) pour ( $TL_{90}$ ) . suivi par la concentration de (20% et 10 %) la plus élevée (136.338 et 123.461 heure) respectivement avec ( $TL_{50}$ ) et (434.862 et 382.742 heure) respectivement pour ( $TL_{90}$ ).

Le travail que nous avons pu réalisée reste un premier pas à accomplir par d'autres travaux dans le même contexte .Ainsi, de nombreuses perspectives peuvent être envisagées :

- Utiliser des solvants organiques à polarité différente pour l'extraction afin d'extraire les différentes familles de composés chimiques
- Suivre les tests biologiques par des tests de caractérisation et d'identification phytochimique des extraits végétaux ou bien des huiles essentielles pour identifier le principe actif.
- Application des tests sur terrain.

***RÉFÉRENCES  
BIBLIOGRAPHIQUES***

## Références bibliographies

- ALAOUI B., 2006-** Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires, Master sciences et techniques 2009.
- AOUINTY B., 2006-**Évaluation préliminiare de l'activité larvicide des extrait aqueux des feuilles du racin(*Ricinus communis*).
- BATANOUNY H., 1999.**wid medicinal plant in Egypt.the palm press.cairo.
- BECKER N.,2010-** Mosquitoes and Their Control,Szcond edition (Springer;2nd ed.edition).
- BENDEKEN., 2013-** *Évaluation du pouvoir biocide de l'extrait aqueux de Cleom arabica* (capparidaceae), p41.
- BERCHI S. ,2000\_**Bioecologie de *Culex pipiens* L.(Diptera :Culicidae) dans la région de Bedowin Market, plant products.International journal of Pharmacogosity35,265-273
- BOUDJELIDA H., 2011-**Activité biologique de la saponine contr les larves de moustique *Culex pipiens*(Diptera,culicidae) Univ.BADJI MOKHTAR ,annaba
- BOUREGAA et BOUZIDE 2011-** inventaire des plantes toxique dans la région de Ghardaia(Sahara septentrional Est algérien).mimoire licence université de Ghardaia.74p.
- BOYER S., 2006-**Résistance Métabolique des Larves de Mostique aux Insecticides Conséquence Environnement ;Thèse de docteur .
- BREMER H et. DENNIS P.,** « *Modulation of chemical composition and other parameters of the cell by growth rate* », dans F.C Neidhardt, R Curtiss, III, J.L Ingraham, E.C.C Lin, K.B Low, B Magasanik, W.S Reznikoff, M Riley, M Schaechter et H.E Umbarger, *Escherichia coli and Salmonella typhimurium Cellular and Molecular Biology*, Washington, DC, ASM Press, 1996), p. 1553-1569 .
- BRUNETON, 1996-** pharmacognoise-phytochimie,plantes médecinales.paris.
- CLÉMENTS A,N. , 2000-** The biology of mosquitoes devlopment,nutrition and reproduction.(CABI Publishing,Eastbourne).
- FEENY p.p.,1976-** Plant appetency and chemical defense .Ed. Plenum Press, New York :1-40 .

**KEMASSI et al, 2013-** Ecosystem Protection in Arid and Semi Arid Laboratory Kasdi Merbah University, Ouargla PB 511 Ouargla 30000, Algeria.

Biological activity of essential oils leaves from one Sahara plant: *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) on the desert locust; *ISSN: 2319-7706* Volume 2 Number 8 (2013) pp. 389-395.

**OMS, 1999** – la lutte anti vectorielle, méthode à usage individuel et communautaire.449p.

**OULD EL HADJ M.D.,et al., 2006-** Toxicité comparée des extraits de trois plante acridifuges sur *Cyrtacanthacridinae*).Sécheresse,vol.173(3) :407-414p.les lareves du cinquième stade et sur les adultes de *shistocerca gregaria* (Forskal,1775) (Orthopterae) .

**PHILOGENE B.J.R., 1991.-**L'utilisation des produit naturel dans la lutte contre les insectes :problèmes et perspectives.la lutte antiacridienne.Ed.AUPEL-UREF ,paris :269-278.

**ROTH L M., 1980-** The medical and veterinary importance of cockroaches,smithsn.25.

**SAXENA R.C., 1988-**Neem a source of natural insecticides. Insecticides of plant origin,n°387,IRRI,Los Banos,Philippines:110-135.

**SAVOYE F., 2011-** Optimisation du protocole de recherche des *Escherichia coli* Producteurs de Shiga-toxines (STEC) dans les aliments. Thèse Docteur . Unv Bourgogne. P 16.

**SROUR, M. et, Essawi, T. 2000-** Screening of some palestinian medicinal plants for antibacterial activity. Journal Of Ethno pharmacology.

**VERSCHAFFCLT C., 1910-** The cause determining the selection of food in some herbivorous insects.Pro.Acad.Sci.,vol.13,Amsterdam:536-542.

**WILSON O., 1988-**Biodiversité. Washington D C National Academy press .parasitologie. Ornithlogia, Entomologia. Institue of ecology,Vilinus.ISSN13926.p.3-18.