EFFET TOXIQUE DE L'EXTRAIT AQUEUX DES FRUITS DE *Citrullus colocynthis (*L.) Schrad SUR LES LARVES DES *Culicidae*

MERABTI B.[1, 2], LEBOUZ I.[1], ADAMOU A.[2], OUAKID M. L.[3]

1. *Département de Sciences Biologiques, Faculté des Sciences de la Nature et de la vie, Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie.*
2. *Equipe désertification et climat, Laboratoire Mécanique, Université Amar Telidji Laghouat.*
3. *Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Badji Mokhtar Annaba.*

Résumé: La présente étude a intéressé l'activité larvicide de l'extrait aqueux de fruits de *Citrullus colocynthis* sur les larves de deux espèces de moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*) élevées au laboratoire, de la région de Laghouaten 2014.Les résultats préliminaires ont montré que l'extrait utilisé a une grande efficacité par rapport aux produits naturels d'origine végétale ou microbienne. Cette efficacité s'exprimée par les paramètres toxicologiques calculés qui sont successivement la CL50 et la CL90, avec 3,83 et 5,20 mg/L pour le *Culex pipiens* et 5,05 et 5,64 mg/L pour *Culiseta longiareolata*.

Mots clés : Extrait aqueux**,** *Citrullus colocynthis,* moustiques, paramètres toxicologique.

TOXIC EFFECT OF *Citrullus colocynthis* (L.) Schrad FRUIT AQUEOUS EXTRACT AGAINST LARVAE OF *Culicidae*

Abstract: This study concerned the larvicidal activity of *Citrullus colocynthis* aqueous fruit extract on the two species of mosquitoes larvae (*Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*) breeding in the laboratory, in 2014 of the Laghouat region. The preliminary results showed that used extract has a high efficiency compared to natural substances of plant or microbial origin. This efficiency is expressed by the calculated toxicologicalparameters which are successively LC50 and LC90, with 3.83 and 5.20 mg/L for *Culex pipiens* and 5.05 and 5.64 mg/L for *Culiseta longiareolata.*

Keywords: aqueous extract, *Citrullus colocynthis*, mosquito, toxicological parameters.

Introduction

L'importance des moustiques dans l'entomologie médicale font de ces insectes un bon matériel d'étude pour les biologistes [1]. La lutte contre les moustiques a toujours été une préoccupation majeure pour se protéger contre l'agression de ces insectes hématophages [1]. L'approche la plus efficace de la lutte est basée sur la réduction suffisante de populations larvaires de moustiques. Cette lutte doit être adaptée à la connaissance de leurs gîtes larvaires, de leurs comportements et de leurs écologies est donc fondamentale pour assurer l'efficacité de cette action [2]. De ce fait, lamise en place de nouvelles alternatives de contrôle des moustiques et d'encourager les substances naturelles les plus disponibles. L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est connue depuis longtemps, en effet le pyrèthre, la nicotine et la roténone sont déjà connus comme agents de lutte contre les insectes

Auteur correspondant Merabti B. ecobiskra@hotmail.fr

[3].D'après Jacobson (1989), plus de 2000 espèces végétales possédant une activité insecticide sont déjà identifiées [4]. Récemment, la litière de l'aulne, plante riche en polyphénols s'est révélée être douée de propriétés toxiques importantes vis-à-vis des larves des moustiques du genre *Culex et Aedes* [5]. Les propriétés insecticides de certaines plantes ont été testées sur les larves d'insectes. Nous citons à cet effet, les travaux de Janget *al.* sur *A. aegypti* et *Culex pipiens* en testant l'activité larvicide de certaines légumineuses [6]. La toxicité de *Mentha pulegium*a été confirmée sur des larves de Culicidés [7].Notre attention a été attirée par l'inefficacité croissante des insecticides. A travers notre étude nous avons testé l'action des extraits des fruits de C*itrullus colocynthis* comme larvicide contre les larves(L4) des deux espèces Culicidiennes localement inventoriées (*Culex pipiens, Culiseta Longiareolata).*

1. Matériel et méthodes

1.1 Présentation et préparation de l'extrait de la plante

Le *Citrullus colocynthis* (*C. vulgaris*) est une plante vivace à longues tiges rampantes qui s'étalent sur le sol et pouvant dépasser 1 m de long. Elle est entièrement hérissée de poils raides. Des feuillesgrandes alternées et découpées. Des fruits sphériques et lisses ressemblant à des petites pastèques, colorées de vert foncé ou de jaune selon la maturité [8,9].

La matière végétale (fruits de *Citrullus Colocynthis)* a été récoltée en printemps 2014 de la région de Laghouat, les fruits sont préalablement lavés à l'eau distillée puis séchées dans une étuve portée à 40°C pendant 48 à 72 h. Elle est ensuite broyée à l'aide d'un broyeur jusqu'à sa réduction en poudre. Une quantité de 100 g de poudre de la plante a été diluée dans un litre d'eau distillée préalablement portée à ébullition, puis laissée refroidir sous agitation magnétique pendant30 minutes. Le mélange obtenu a été filtré à l'aide du papier Whatman (3 mm). Le filtrat récupéré représente une solution stock initiale à 100 g par litre soit 10 %.

1.2. Echantillonnage et élevage des moustiques

Les larves de moustiques ont été collectées des différentes gites positifs de la zone d'étude, ramenées au laboratoire, une partie d'entre elles à été identifiées, et une autre partie a été mis à l'élevage pour obtenir les stades adultes. Les larves récoltées ont été maintenues en élevage au laboratoire dans des récipients contenants 250 ml d'eau. La nourriture est un mélange

de biscuit 75% et de levure 25% [10]. Lorsque les larves atteignent le stade nymphal, elles sont placées dans des récipients et déposées dans des cages cubiques avec une armature en bois. Les moustiques mis en cage sont nourris de raisins secs, attaché sur le coté supérieur de la cage. Une fois les mâles s'accouplent aux femelles, ces dernières prennent un repas sanguin fourni par un pigeon dans la cage [11].

1.3. Essais toxicologiques

L'effet toxique des différentes concentrations de l'extrait utilisé (10, 50, 100 et 200 mg/L) a été testé. Les testes toxicologiques ont été réalisés avec trois répétitions comportant chacune 20 individus pour chaque concentration ainsi que la série des témoins. Les séries traitées des larves ont été exposées à ce produit pendant 24 à 72 heures selon les recommandations de l'O.M.S. [12].

1.4 Analyses statistiques

Les concentrations létales (CL50, CL90), sont calculées selon les procédés mathématiques de Finney. Les données sont transformées et normalisées d'après les tables de Bliss [13]. Les calculs et les statistiques descriptives ainsi que le test de khi2 et l'analyse de variance One-Way ANOVA ont été calculés à l'aide Statistix v8.0.

2. Résultats

Les tests biologiques ont montré que l'extrait aqueux des fruits de C*itrullus colocynthis* a une toxicité élevé contre les deux espèces (*Culex pipiens et Culiseta longiareolata*). Les résultats ont étérésumés dans les figures 1 et 2.

Le taux de mortalité des larves de *Culex pipiens* a été significativement variable avec les différentes concentrations et le temps d'exposition (χ^2=83,22 ; dll=6 ; p≤0,0001). Il augmente avec l'augmentation de la concentration et le temps d'exposition. Le taux de mortalité le plus élevé (100%) a été observé à partir de 100 mg/Laprès 72 h d'exposition, ou avec la dose de 200 mg/L après uniquement 48h.L'Analyse de la variance des mortalités corrigésqu'a été faite pour les quatre doses, a montré que l'augmentation a été hautement significative ($F^{2,42}$= 51,34 ; P≤0,0001). Par contre, le taux de mortalité n'a pas été variable, pour la même concentration, avec la variation du temps d'exposition ($F^{2,42}$= 0,17; P=0,84 ns) (Fig.1).

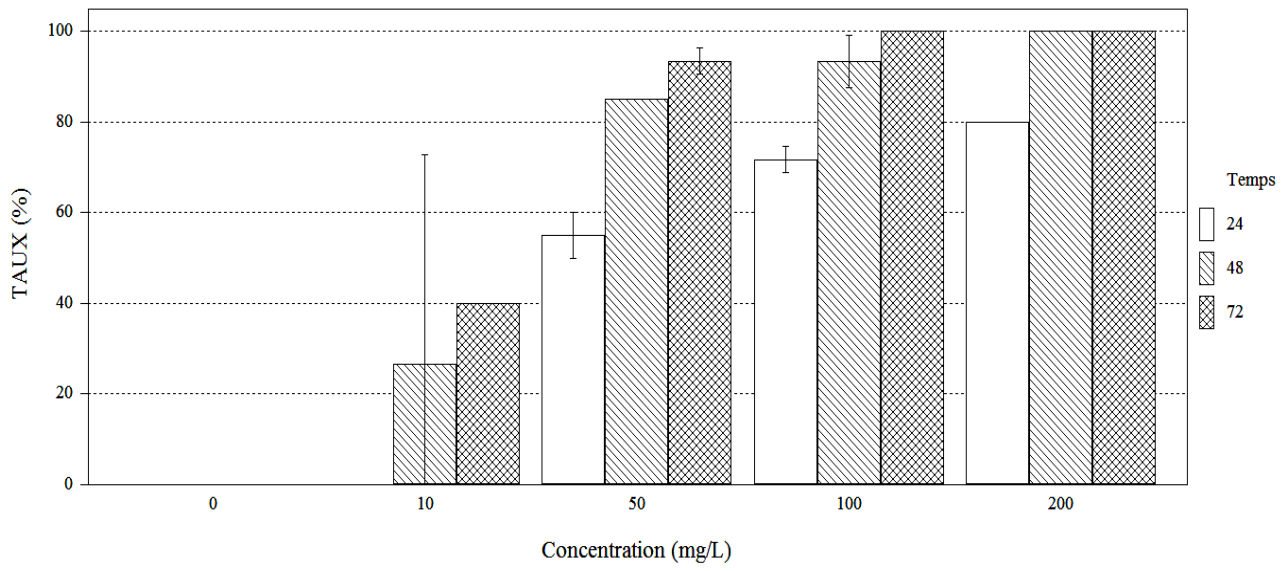

Figure 1 : Variation du taux de la mortalité des larves du *Culex pipiens* exposées à différentes concentrations de l'extrait aquex des fruits de *C. Colocynthis* à différents temps d'exposition

Le taux de mortalité des larves de *Culiseta longiareolata* a été significativement variable avec les différentes concentrations et le temps d'exposition (χ^2=13,87 ; dll=6 ; p=0,0039). Il augmente avec l'augmentation de la concentration et le temps d'exposition. Contrairement à *Culex pipiens*, le taux de mortalité a été plus faible aux doses et aux temps d'observation correspondants ; le taux de mortalité le plus élevé n'a pas atteint 60% même avec la plus forte dose. Le temps d'exposition de 24h n'a conduit a l'élimination d'aucune larve quelque soit la dose utilisé. Mais d'une façon générale, l'analyse de la variance des mortalités corrigés pour les quatre doses, a montré que l'augmentation a été significative ($F^{2,42}$= 4,54 ; P=0,0042). Ainsi que pour le temps d'exposition ($F^{2,42}$= 18,4; P≤0,0001) (Fig.2).

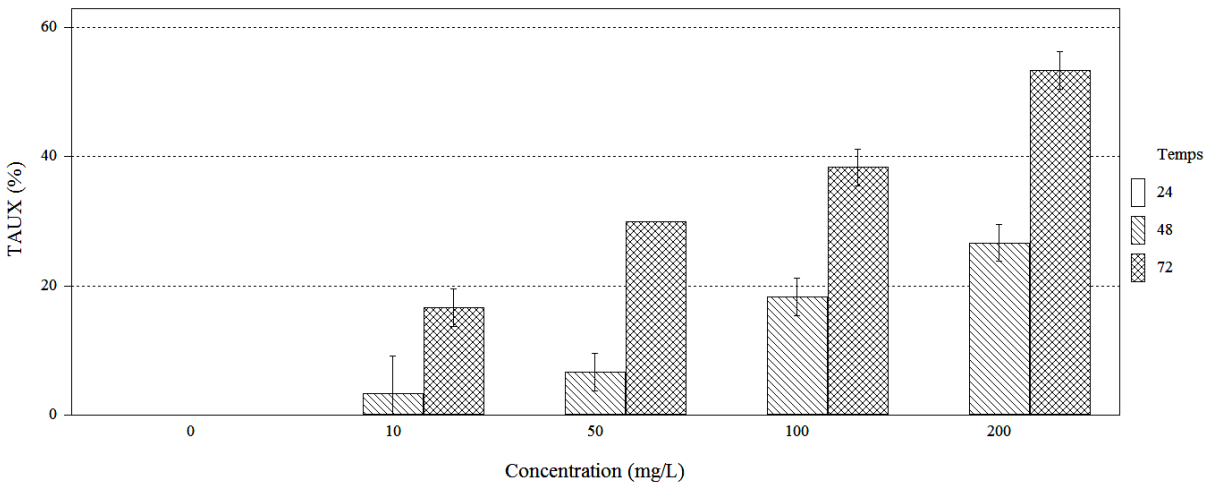

Figure 2 : Variation du taux de la mortalité des larves du *Culiseta longiareolata* exposées à différentes concentrations de l'extrait aquex des fruits de *C. Colocynthis* à différents temps d'exposition

Effectivement, le taux de mortalité des larves a été significativement corrélés avec le temps d'exposition pour *Culiseta longiareolata* (r=0,678 ; ddl=44 ; P ≤ 0,0001) mais pas significativement pour *Culex pipiens* (r = 0,251 ;ddl=44 ; P=0,095 ns). De même, ce taux a été significativement corrélé avec l'augmentation de la concentration que ce soit pour *Culex pipiens* (r=0,754 ; ddl=44 ; P ≤ 0,0001) ou pour *Culiseta longiareolata*(r=0,536; ddl = 44 ; P ≤ 0,0001) (Fig.3).

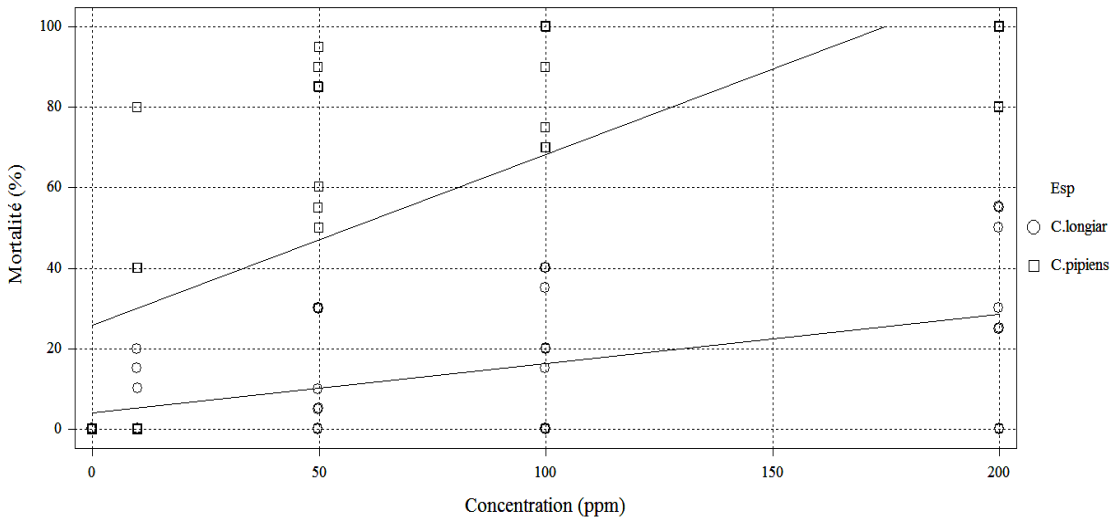

Figure 3 : Relation entre la concentration de l'extrait aquex des fruits de *C. Colocynthis* avec le taux de mortalité des larves des deux espèces.

Le traitement par l'extrait aquex des fruits de *C. Colocynthis* a permit d'éliminer 50% de la population de *Culex pipiens* après 48h d'exposition avec uniquement 50 mg/L. Par contre, il faut 200 mg/Let 72h d'exposition pour tuer le même taux de *Culiseta longiareolata*. Les calcules des paramètres toxicologiques ont été rapporté dans le tableau suivant (Tab. 1).

Tableau 1 : Paramètres toxicologiques del'extrait de fruits de *C. Colocynthis* sur les deux espèces de moustiques

	Concentration mg/L	Droite de régression	CL 50% mg/l	CL 90% mg/l
Culex pipiens	Après 24h	Y=1,623x - 0,405 (R^2=0,726)	5,62	6,41
	après 48h	Y=0,612x + 3,08(R^2 =0,947)	3,13	5,23
	après 72h	Y= = 0,441x + 3,73(R^2 =0,951)	2,89	3,97
Culiseta longiareolata	Après 24h	Y= 1,643x - 0,535(R^2=0,760)	5,86	6,31
	après 48h	Y=0,777x + 2,48(R^2 =0,910)	5,01	5,63
	après 72h	Y= 0,566x + 3,21(R^2 =0,950)	4,29	5,00

3. Discussion

L'utilisation des produits naturels, spécifiquement les extraits des plantes, comme type de lutte contre les insectes en Algérie a commencé de se développer, a travers une multitude des travaux récentes [14, 15,16].

Aouinty et *al.* [17] ont montré l'efficacité des extraits de cinq plantes à différentes doses (1%, 2%, 3%, 4% et 5%), qui ont été testés sur quatre espèces différentes de moustiques tels que *Culex pipiens et Culiseta Longiareolata* . Abdul Rahuman et Venkatesan ont démontré l'activité des acides oléiqueet linoléique extraits de C*itrullus colocynthis* sur les larves des moustiques (*Aedesaegypti, A. stephensi et Culex quinquefasciatus*) [18].Les extraits d'éther de pétrole de C*itrullus colocynthis*, *Coccinia indica*, *Cucumis sativus*, *M. charantia*, et *Trichosanthes anguina* ont été utilisés contre les larves des moustiques [19,20].

Les extraits aqueux des fruits de C*itrullus colocynthis* provoquent une mortalité élevée chez les larves L4 des deux espèces *Culex pipiens et Culiseta longiareolata.* Cette mortalité a été plus prononcée chez *Culex pipiens* que chez *Culiseta longiareolata*. La toxicité des produits naturels peut varier en fonction des facteurs intrinsèques des insectes.

C'est-à-dire, les moustiques peuvent être plus résistants que d'autres [21]. Cette résistance peut être d'origine comportementale liée à la mobilité des insectes [22]. Morphologique liée à la taille de chaque espèce traités [23]. Physiologiqueet métabolique, liée aux complexes enzymatiques qui affectent le système nerveux [24, 25].Ou bien, d'origine génétique liée à l'adaptation typique de chaque espèce de moustique, suite à des traitements répétés durant des longues périodes d'exposition par des produits analogues [22], ce qui induit un effet sélectif des insecticides sur les espèces [21].

L'effet des extraits aqueux des fruits de C*itrullus colocynthis* a été variable en fonction de la dose. Si on considère que la dose 50 mg/L est une dose efficace, elle arrive, dans notre cas, à éliminer plus de 50% de population de *Culex pipiens* uniquement après 24h. De ce fait, cet extrait peut être considéré comme un insecticidepréconisé contre cette espèce.L'effet des extraits aqueux des fruits de C*itrullus colocynthis* a été variable aussi en fonction du temps d'exposition. L'utilisation de 100 mg/L de cet extrait a pu éliminer plus de 70% de la population des larves de *Culex pipiens* après 24h, et plus de 90% après 48h.Pour éliminé la totalité de cette population après 72h.

D'après le tableau 2, chez le *Culex pipiens,* la CL50 calculée sous l'effet de l'extrait de coloquinte a été efficace plus de 150 fois que l'extrait du Ricins [17] et plus de 130 fois pour l'extrait de thuya de Barbarie (*Tetraclinus articulata*) [17]. Pour le *Culiseta longiareolata,* l'efficacité a été aussi remarquable où la CL 50 a été 40 fois plus forte par rapport à l'extrait du Pin rouge de Japan (*Pinus densiflora*) [26]. De même l'efficacité de l'extrait aqueux de notre plante a été 10 fois plus performante dans le traitement de *Culex pipiens* par rapport au traitement à base des bactéries (*Bacillus thuringiensis*) [27].

L'efficacité de l'extrait aqueux se réside dans la nature de la matière active [28], d'une molécule d'origine commune (Terpénoïdes, tanins et composées phénoliques) [29], ou spécifique à notre plante comme les alcaloïdes qui ont un effet violemment purgatif, ainsi que l'α-élatérine mais pas de β-élatérine [28].

Tableau 2 : La CL50 calculée de quelques insecticides utilisés contre les larves des moustiques

Insecticides	Espèce	Extrait utilisé	CL50 (mg/L)	Réf
Extrait de plantes	*Culex pipiens*	*Ricinus comunis*	600,00	[17]
	Culex pipiens	*Tetraclinus articulata*	530,00	[17]
	Anophelesstephensi	*Momordica charantia*	216,15	[19]
	Culiseta longiareolata	*Ricinus comunis*	200,00	[17]
	Culiseta longiareolata	*Tetraclinu sarticulata*	230,00	[17]
	Aedesalbopictus	*Pinus densiflora*	20,33	[26]
	Aedesaegypti	*Pinus densiflora*	21,01	[26]
	Culex pipiens palles	*Pinus densiflora*	22,36	[26]
	Culex pipiens	C*itrullus colocynthis*	3,88	Présent travail
	Culiseta longiareolata	C*itrullus colocynthis*	5,05	
Bactéries	*Anopheles stephensi*	*Bacillus thuringiensis*	95,39	[19]
	Culex pipiens	*Bacillus thuringiensis*	40,82	[27]

Conclusion

Le traitement par l'extrait aqueux de C*itrullus colocynthis* a conduit à la mortalité de 50% des larves de *Culex pipiens* par une faible concentration de l'ordre de 2,89 mg/l après 72h, et 4,29 mg/l chez *Culiseta longiareolata.* Ce qui nous informe que cette dernière est plus résistante que la première. Ainsi une grande efficacité de ce produit (l'extrait aqueux de C*itrullus colocynthis*) par rapport aux autres extraits naturels et les insecticides de synthèse commercialisés. De ce fait, notre extrait est fortement recommandé pour substituer les produits de commerce dans le traitement des *Culicidae*.

Références bibliographiques

[1] Guillet, P., Chandre F, Mouchet J.1997 : L'utilisation des insecticides en santé publique : état et perspectives. Méd. Mal Infect (27):2–7.

[2] Djogbénou, L., 2009 : Lutte antivectorielle contre le paludisme et résistance des vecteurs aux insecticides en

Afrique. Revue de l'IRSP., Ouidah, Bénin, *Med. Trop* ; (69) : 160-164.

[3] Crosby, D G. 1966 : Natural Pest control agents. In Gould, R.F.(Ed.). Natural pest control Agents. *Adv*. Chem. Ser. (53)**:** 1-16

[4] Jacobson, M. 1989 : Botanical pesticides, past present and future *In* Arnason JT. *et al.* (Ed.).*Insecticides of plantorigin.*Washington, D.C.: American Chemical Society Symposium, series 387, p. 1-10.

[5] David, J P., Rey, D., Pautou, MP., Meyran, JC. 2000 : Differential toxicity of leaf litter to *Dipteran larvae* of mosquito developmental sites. *J. Invertebr. Pathol.* 75, p. 9–18.

[6] Jang, YS., Baek, BR., Yang, YC., Kim, MK., Lee, HS. 2002 : Larvicidal activity of leguminous seeds and grains against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens* pallens. *J. Am. Mosq. Control. Assoc.* 18 (3), p. 210–213.

[7] Alaoui, S.N. 2002 : Faune Culicidienne d'une zone marécageuse de Rabat-Salé : Biotypologie et contribution à la lutte par des substances naturelles. Thèse Doct. esSci. Biol., Fac.Sci. Univ. Mohammed V., Rabat (Maroc).192 p.

[8] Chehma, A. 2006 : Catalogue des plantes spontanées du Sahara septentrional algérien. Laboratoire de protection des écosystèmes en zones arides et semi-arides (Université Kasdi-Merbah Ouargla). Edi. Dar El Houda Ain Melila.

[9] Ozenda, P., 1991 : *Flore et végétation du Sahara*. (3éme édition, augmentée).Ed. CNRS, Paris: 662 p.

[10] Rehimi, N et Soltani, N., 1999 : Laboratory evaluation of Alsystin, a chitin synthesis inhibitor, against *Cx.pipiens pipiens L.*(Diptera : Culicidae): effects on development and cuticulesecretion.J. Appl.Entomol.123:437-441.

[11] Trari, B., Dakki, M., Himmi, O., Elgabani, M, 2003 : Les Moustiques (Diptera : Culicidae) du Maroc. Revue bibliographique (1916-2001) et inventaire des espèces. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 95(4) : 329-334.

[12] O.M.S. 1983 : Anonym informal consultation on insect growth regulators WHO/VBC/.

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

[14] Kemassi, A et Oueld El-hadj, M.D., 2008 : Toxicité comparée des extraits de quelques plantes acridifuges du sahara septentrional est algérien sur les larves du cinquième stade et les adultes de *schistocercagregaria*(forskål, 1775).

Mim.Mag.Uni de Kasdi Merbeh.Ouargla.165p

[15] Lebouz, I et Oueld El-hadj, M.D. 2010 : Activité biologique des extraits foliaires de *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) chez *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae).Mim.Mag.Uni de mohamed Kheider.Biskra.165p

[16] Habbachi, W., Benhissen, S et Ouakid, M.L., 2013. Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganumharmala*(L.) (Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster*(Diptera-Drosophilidae). *Algerian journal of aridenvironment.*vol. 3, n° 1, Juin 2013: 82-88.

[17] Aouinty, B., Oufara S , Mellouki, F et Mahari, S ., 2006 : Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinuscommunis L.*) et du bois de thuya (*Tetraclinisarticulata (Vahl) Mast.*) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedescaspius* (Pallas), *Cul iseta longiareolata* (Aitken) et Anophelesmaculipennis (Meigen), *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 10 (2), 67 - 71.

[18] Abdul Rahuman, A., Venkatesan, P., 2008 : Larvicidal efficacy of five cucurbitaceous plant leaf extracts against mosquito species. Parasitol Res 103:133–139.

[19] Mullai, K., Jebanesan, A et Pushpanathan, T.2008 : Mosquitocidal and repellent activity of the leaf extract of *Citrullus vulgaris* (cucurbitaceae) against the malarial vector, Anopheles stephensiliston (dipteraculicidae). Eur Rev Med PharmacolSci 12(1):1–7

[20] Hemingway, J., Hawkes, N.J., McCarroll, L., Ranson, H., 2004 : The molecular basis of insecticide resistance in mosquitoes.Insect Biochem.Mol. Biol. 34, 653–665.

[21] Darriet, F., 1998 : La lutte contre les moustiques nuisant et vecteurs de maladies.Ed Karthala.Paris. 91 p

[22] Haubruge, E., AmichotM., 1998 : Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et acariens. *Biotechnol. Agron. Soc. Enviro*.2 (3): pp. 161-174

[23] Boudjelida, H., Aïssaoui L, BouazizA., Smagghe G et Soltani. N. 2008 : Laboratory evaluation of bacillus Thuringiensis (vectobacwdg) against Mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*.Comm. Appl. Biol. Sci, GhentUniversity, 73/3.

[24] Magnin, M., Fournier D et Pasteur N. 1985 : Mécanismes physiologiques de la résistance des insectes aux

insecticides .Cah.ORSTOM, sir.Ent. méd. etParasitol., vol. XXIII, no 4, : 273-280

[25] Holt, J. S. and H. M. Lebaron. 1990 : Significance and distribution of herbicide resistance.
Weed Technology **4**:141-149.

[26] Dong Chan, L and Young-Joon.A. 2013 : Laboratory and Simulated Field Bioassays to Evaluate Larvicidal Activity of *Pinus densiflora* Hydrodistillate, Its Constituents and Structurally Related Compounds against *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiensp allens* in Relation to Their Inhibitory Effects on Acetylcholinesterase Activity.*Insects*, *4*, 217-229

[27] Tabti, N ., Abdellaoui Hassaïne, K . 2013 : Comparative study of the effect of *Bacillus thuringiensis* on larval populations of *Culex pipiens*L. (Diptera-Culicidae) of the City of Tlemcen (Algeria).Journal of Ecology. Vol.3, No.3, 265-271

[28] Bruneton, J.1993 : Pharmacognosie, phytochimie, Plantes médicinales (2e édition). *Tec et Doc*., Lavoisier, Paris. 915 p

[29] Hopkins, W.G. 2003 : Physiologie Végétale, De Boeck Université, 2e édition.

[30] Chopra, C., Abrol, B. K. et Handa, K. L., 1960 : Les plantes médicinales des régions arides considérées surtout du point de vue botanique: 1iere partie. Recherche sur les zones arides XIII. Ed. UNESCO, Rome, 97 p.