

## EFFET INSECTICIDE ET ANTICHOLINESTERASE DE L'EXTRAIT AQUEUX FOLIAIRE DE L'ORTIE *Urtica dioica* L. (Urticaceae) SUR LES LARVES L<sub>4</sub> DU *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae)

HAMID OUDJANA Aicha<sup>1,2\*</sup>, ZEGOUBA Bouchra<sup>1</sup>, LAHLAH Bachira<sup>1</sup>, KEMASSI Abdellah<sup>2</sup> et OULD EL HADJ Mohamed Didi<sup>2</sup>

<sup>(1)</sup>Faculté Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre, Université de Ghardaïa, 27000 Ghardaïa, Algérie

<sup>(2)</sup>Laboratoire des Ecosystèmes en zones arides et semi-aride, Université Kasdi Merbah Ouargla, 30000 Ouargla, Algérie

E-mail: [nadjah.oudjana2007@yahoo.fr](mailto:nadjah.oudjana2007@yahoo.fr)

(Received 02 March 2021 - Accepted 17 May 2022)

**Résumé.-** La présente étude porte sur l'effet toxique de l'extrait aqueux de feuilles de l'ortie *Urtica dioica* récoltée dans la région d'El-Goléa (Sahara septentrional Est Algérien), sur les larves L<sub>4</sub> de *Culex pipiens* L. L'étude montre que le pourcentage de mortalité cumulée évolue en fonction de la dose appliquée; L'extrait appliqué à différentes concentrations soit 100%, 80%, 60%, 40% et 20% engendre respectivement un pourcentage de mortalité larvaire de 100% au bout de 9h, 11h, 12h, 48h et 72h. Les temps létaux 50 (TL<sub>50</sub>) estimés sont de 1min 8', 35min, 1h65min et 9h79min et 21h60min enregistré chez les larves traitées par les doses de 100%, 80%, 60%, 40% et 20% respectivement. La dose létale 50 (DL<sub>50</sub>) estimée étant de 0,0446 mg/ml. Le traitement des larves (L<sub>4</sub>) de *Culex pipiens* par différentes doses d'extrait d'*Urtica dioica* montre une diminution importante de l'activité cholinestérasique plus perceptible à la dose la plus forte soit 100% avec une activité de 2,89±0,48 nano-mole /ml/min. L'étude de l'effet biologique de l'extrait foliaire aqueux de l'ortie révèle des propriétés insecticides et anticholinestérasiques intéressantes vis-à-vis les larves de *Culex pipiens*.

**Mots clés:** *U. dioica*, *C. pipiens*, mortalité, extraits, cholinestérase.

### INSECTICIDE AND ANTICHOLINESTERASE EFFECT OF THE AQUEOUS LEAF EXTRACT OF NETTLE (EL HERAYEG), *Urtica dioica* (Urticaceae) ON THE L<sub>4</sub> LARVAE OF *Culex pipiens* L. 1758 (Diptera, Culicidae)

**Abstract.-** This study focuses on the toxicity of the aqueous leaves extract of Nettle *Urtica dioica*, collected from El-Golea in the septoriental Algerian Sahara, on *Culex pipiens* L. larvae L<sub>4</sub>. The study shows that the percentage of cumulative mortality is proportional to the applied dose; the extract at dilutions 100%, 80%, 60%, 40% and 20% caused 100% larval mortality after 9h, 11h, 12h, 48h and 72h, respectively. The estimated lethal times 50 (LT<sub>50</sub>) are 1min 8', 35min, 1h65 min, 9h79 min and 21h60 min recorded in larvae treated with 100%, 80%, 60%, 40% and 20% doses respectively. The estimated lethal dose 50 (LD<sub>50</sub>) was 0,0446 mg/ml. The treatment of *Culex pipiens* larvae L<sub>4</sub> with increasing doses of *Urtica dioica* extract significantly decreased cholinesterase activity. The most noticeable inhibition is that of 100% dilution which decreased the activity to 2,89 ± 0,48 nano-mol/ml/min. The study of the biological effect of the aqueous leaf extract of Nettle provides interesting insecticidal and anticholinesterase properties to nettle against *Culex pipiens* larvae.

**Key words:** *U. dioica*, *C. pipiens*, toxicity, extract, cholinesterase.

### Introduction

Les moustiques, nom vernaculaire de la famille des Culicidés, regroupent plus de 3.500 espèces dont la plupart se trouvent dans les régions tropicales et subtropicales [1]. Ils sont des vecteurs de plusieurs agents pathogènes tels que les bactéries, les virus et les

nématodes; leurs caractères hématophages leur confèrent l'état d'ectoparasites temporaires transmettant à l'homme et aux animaux diverses maladies [2,3]. L'intensification des échanges commerciaux internationaux ainsi que le réchauffement climatique ont permis à certaines espèces de moustiques de coloniser rapidement de nouveaux milieux. Durant la dernière décennie, ces flux migratoires ont entraîné une propagation mondiale sans précédents de maladies [1]. Face à cette situation, les insecticides de synthèse constituent le moyen le plus efficace pour lutter contre ces insectes nuisibles [4]. Quoique l'utilisation massive de ces produits n'ait pas tardé à connaître plusieurs difficultés, les phénomènes de résistance, le déséquilibre des écosystèmes, le manque de spécificité et l'effet rémanent chez les insecticides non biodégradables, sont les plus fréquents. Pour éviter ces problèmes, les recherches sont orientées vers la découverte de nouveaux composants [5], parmi lesquels l'utilisation des extraits végétaux en tant qu'insecticides naturels présentent par conséquent un intérêt purement écologique puisque peu nocifs à l'égard de l'environnement. Certains métabolites inhibent l'activité de plusieurs enzymes chez les insectes, donc les institutions de recherches se sont orientées vers la lutte biologique. C'est un procédé de lutte, consistant à détruire les insectes nuisibles par l'utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels appartenant soit au règne animal, soit au règne végétal [6-10].

La présente étude a pour objectif de valoriser les propriétés biologiques de l'Ortie *Urtica dioica* L. provenant de la région de Ghardaïa, via une étude des activités larvicides et anticholinestérasiques de leurs extraits foliaires sur les larves L<sub>4</sub> de *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae).

## **1.- Matériel et méthodes**

### **1.1.- Matériel biologique**

#### **1.1.1.- *Culex pipiens* L.**

L'étude réalisée porte sur des larves de quatrième stade de *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae) maintenues en élevage dans des conditions contrôlées à une température de 30,6±2°C, une humidité relative de 40±3% et une photopériode de 12h/12h. À la raison de leur commodité au laboratoire, les larves L<sub>4</sub> sont retenues pour les tests biologiques au laboratoire. Les larves L<sub>4</sub> ont été collectées au cours du mois de février dans un gîte (drain) situé dans une palmeraie au sud de la commune d'El-Atteuf à 9 km au sud de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional algérien). Les échantillons prélevés sont placés dans des bacs en plastique de dimension (30cm x 20cm) remplis d'un litre et demi d'eau du bassin contenant les larves, à l'aide d'une passoire afin de réduire la quantité d'eau lors du prélèvement ainsi une identification des larves est réalisée soigneusement à l'aide d'une loupe binoculaire. Les bacs sont ensuite placés dans une cage cubique de 60 cm<sup>3</sup> avec une armature en bois, couverte d'une toile moustiquaire. La cage est dotée de deux trappes coulissantes facilitant la manipulation des insectes. Les larves sont nourries tous les 2 jours d'une mixture composée des dattes broyées et mouillées avec de l'eau, ainsi les adultes femelles et mâles sont nourris de l'eau sucrée et pour assurer une fécondation des femelles, du sang humain est porté de l'hôpital, leur donné chaque deux jours.

#### **1.1.2.- *U. dioica* (Ortie)**

La récolte de feuilles de l'Ortie est réalisée dans la région de Hassi Elgara (El-Goléa) de la wilaya de Ghardaïa (Sahara algérien) au mois de décembre 2020. Les feuilles

de la plante sont rincées avec l'eau, et laissées séchées pendant un mois à l'abri de la lumière et dans une température ambiante. Une fois séchées, elles seront broyées jusqu'à l'obtention d'une poudre fine puis conservée dans des bocaux hermétiques en verre portant une étiquette où le nom de l'espèce, la date et lieu de la récolte sont mentionnés.

## **1.2.- Méthodes d'extraction**

Pour la présente étude, deux extractions sont réalisées; la première par reflux sur la poudre de feuilles de *U. dioica*. La deuxième à partir des larves (L<sub>4</sub>) de *Culex pipiens* pour extraire l'enzyme cholinestérase.

Deux méthodes d'extraction sont réalisées à fin de réaliser les tests biologiques; la première est une extraction à reflux sur les feuilles broyées de *U. dioica*, elle permet de récupérer un extrait aqueux contenant des métabolites secondaires, la deuxième extraction est réalisée sur les larves (L<sub>4</sub>) de *C. pipiens* afin de récupérer l'enzyme cholinestérase sous forme native.

### **1.2.1.- Préparation des extraits foliaires**

L'extrait aqueux est obtenu par une extraction par reflux de 100 grammes de la poudre végétale dans une solution hydro-méthanolique (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 d'extraction. Le mélange est porté à ébullition à 50°C pendant 6 heures. L'homogénat est refroidi et filtré à l'aide d'un papier filtre standard. Pour éliminer le méthanol, le filtrat est soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un évaporateur rotatif muni d'une pompe à vide à une température de 50°C pendant 2 heures. Le produit obtenu, est un extrait aqueux conservé dans un bocal hermétiquement fermé et couvert par du papier aluminium, qui servira par la suite aux tests biologiques.

### **1.2.2.- Extraction de l'enzyme (acétylcholinestérases)**

L'extraction d'enzyme acétylcholinestérase des moustiques est réalisée à froid selon la méthode proposée par LIU et *al.* (2007) [11]. Elle consiste à isoler individuellement les larves du quatrième stade (L<sub>4</sub>) des moustiques et de les homogénéiser par broyage dans un mortier à fin de faciliter la récupération de l'enzyme cholinestérase. L'homogénat est récupéré dans 0,5 ml d'eau glacée et 1 ml d'un mélange de 0,1 M tampon phosphate (pH 7,5) contenant 0,1% de triton X-100. Une sédimentation est ensuite effectuée par centrifugation à 10.000 g pendant 20 minutes. Le surnageant renfermant l'enzyme est récupéré à l'aide d'une micropipette.

## **1.3.- Tests biologiques**

### **1.3.1.- Test de la mortalité**

Les tests réalisés sont inspirés de l'étude proposée par KEMASSI et *al.* (2015) [2]. Il est préparé des tubes à essai en verre contenant chacun 1ml d'eau du gîte larvaire et dans chaque tube, 4 larves au stade L<sub>4</sub> de *C. pipiens*, sont introduits. Une série de dilutions de: 20%, 40%, 60%, 80%, 100% est préparée. Le un témoin contient de l'eau distillée. Pour chaque tube contenant les larves, est rajouté 500 µl d'une dilution, soit un volume total dans chaque tube de 1,5ml est obtenu. La mortalité des individus est notée après chaque

heure.

### 1.3.2.- Mesure de l'activité de cholinestérase

L'étude de l'effet d'extrait aqueux foliaire est réalisée *in vitro*, l'analyse consiste à incuber l'enzyme cholinestérase native récupérée de chaque moustique individuellement avec l'extrait foliaire et de déterminer l'activité enzymatique. 500µl de l'extrait enzymatique est mélangé avec 500µl d'eau pour les individus témoins, ou avec 500µl de différentes doses de l'extrait foliaire d'*Urtica dioica* pour les individus traités, après 30min d'incubation à température ambiante, l'échantillon est récupéré pour mesurer l'activité de cholinestérase [12].

La mesure de l'activité enzymatique de cholinestérase repose sur la méthode D'ELLMAN *et al.* (1961) [13]. Le mélange réactionnel est réalisé directement dans la cuve de dosage. L'activité est évaluée contre un blanc à 25°C, dans un tampon phosphate de sodium (0,1 mol<sup>-1</sup>, pH= 7,4) en présence d'un volume de substrat et de DNTB (500µl) et d'un volume d'échantillon (500 µl). L'absorbance est mesurée à 412 nm pendant 5 minutes avec un intervalle de temps (60 secondes) entre chaque mesure, à l'aide d'un spectrophotomètre de type SpectroScan 40. L'activité enzymatique est estimée par la formule suivante:

$$A = \frac{\Delta DO.V}{(t_2 - t_1).e.d.x}$$

ΔDO: variation de la densité optique à 412 nm

t<sub>1</sub>: temps initial de lecture

t<sub>2</sub>: temps final de lecture après un intervalle de 60 s

ΔDO.V(t<sub>2</sub>-t<sub>1</sub>).e.d.xε: Coefficient d'extinction spécifique de l'acide dithiobis-nitrobenzoïque à 412 nm pour une réponse en nanomoles transformés, estimé à 13,6.10<sup>3</sup> mol<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup>.

d: épaisseur de la cuve 1 cm.

V: volume de milieu d'incubation dans la cuve en ml.

x: prise d'essai en ml.

A: Activité enzymatique en nanomoles. min<sup>-1</sup>.ml<sup>-1</sup>.

### 1.4.- Exploitation des résultats

#### 1.4.1.- Taux de la mortalité

La mortalité est le premier critère de jugement de l'efficacité d'un traitement chimique ou biologique [14]. Le pourcentage de la mortalité cumulée observée chez les larves de *Culex pipiens* témoins et traités, est estimé en appliquant la formule suivante:

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

[14]

#### 1.4.2.- Temps de la mortalité (TL<sub>50</sub>)

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 estimé à partir de la droite de régression des probits correspondants au pourcentage de la

mortalité corrigée en fonction des logarithmes du temps de traitement. La formule de SCHNEIDER et la table des probits sont utilisées.

$$MC = [M_2 - M_1 / 100 - M_1] \times 100$$

\*MC: % de mortalité corrigée,

\*M<sub>2</sub>: % de mortalité dans la population traitée,

\*M<sub>1</sub>: % de mortalité dans la population témoin [15].

### 1.4.3.- Dose létale (DL<sub>50</sub>)

La Dose Létale 50 (DL<sub>50</sub>) correspond à la quantité d'une matière, administrée en une seule fois, qui cause la mort de 50% d'un groupe d'individus traité. La DL<sub>50</sub> est une façon de mesurer le potentiel toxique à court terme (toxicité aiguë) d'une matière [15]. Pour la présente étude, la méthode des probits est suivie. Elle consiste à convertir les doses en logarithme décimaux et les valeurs de mortalité corrigée en probits en se servant de la table des probits [16].

### 1.5.- Analyse statistique

Pour suivre le niveau de la signification et déterminer l'influence des facteurs étudiés ou des interactions entre les facteurs, l'analyse de la variance ANOVA est utilisée. Les résultats de l'activité d'enzyme cholinestérase sont interprétés statistiquement à l'aide du logiciel «XLSTAT 2014.5.03». La probabilité inférieure à 0,01 donne un effet hautement significatif, à 0,05 un effet significatif et pour une probabilité supérieure à 0,05, il est considéré que l'effet n'est pas significatif.

## 2.- Résultats

### 2.1.- Effet de l'extrait foliaire d'*Urtica dioica* sur la mortalité chez les larves L<sub>4</sub> de *C. pipiens*

Un suivi expérimental pendant 72 heures (3 jours) est réalisé sur les larves L<sub>4</sub> de *Culex pipiens* L. traitées à différentes concentrations d'extrait aqueux d'*Urtica dioica* (Urticaceae). La figure 1 illustre la cinétique de la mortalité cumulée des larves L<sub>4</sub> de *Culex pipiens* L. au niveau de différents lots traités et témoins.

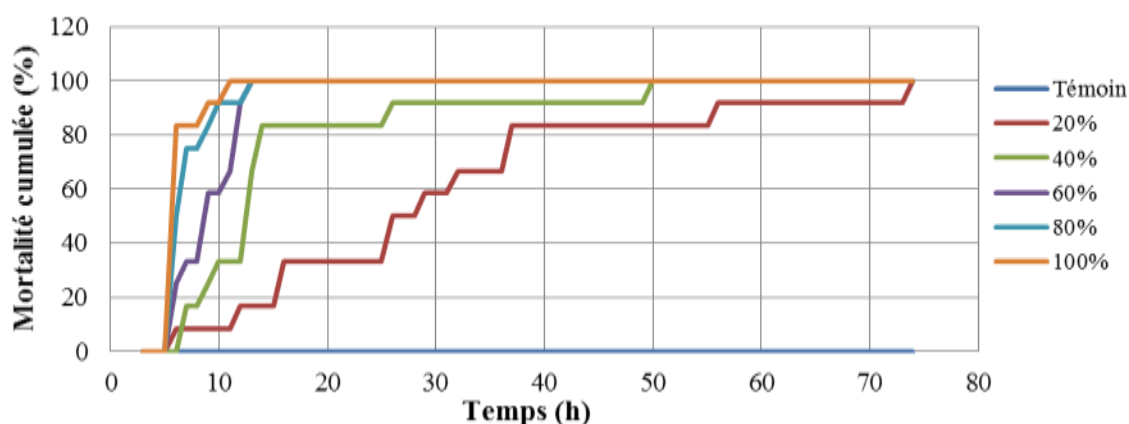


Figure 1.- Cinétique de la mortalité cumulée observée chez les larves (L<sub>4</sub>) de *C. pipiens* témoins et traitées par l'extrait aqueux foliaire d'*U. dioica*

Les taux de mortalité cumulée des larves L<sub>4</sub> augmentent chaque heure pour atteindre un taux maximal au bout de 9 heures d'exposition (toxicité chronique). Le traitement des larves (L<sub>4</sub>) de *C. pipiens* par les extraits aqueux pur (100%) montre un taux de mortalité de 100% au bout de 9 heures. Le pourcentage de mortalité de 100% est atteint au bout de 72 heures au niveau de tous les lots traités. Le pourcentage de la mortalité chez les individus traités à différentes concentrations (80%, 60%, 40% et 20%) est inversement proportionnel au temps. Un extrait aqueux des fruits de *Citrullus colocynthis* Schrad. (Cucurbitaceae), montre une toxicité élevée contre *Culex pipiens* (Diptère, Culicidae) et *Culiseta longiareolata*, M. (Diptère, Culicidae) [17]. Le taux de mortalité le plus élevé (100%) a été observé à partir de 100mg/l après 72 heures d'exposition, ou avec la dose de 200 mg/l après uniquement 48 heures d'exposition à l'extrait aqueux des fruits de *C. colocynthis*.

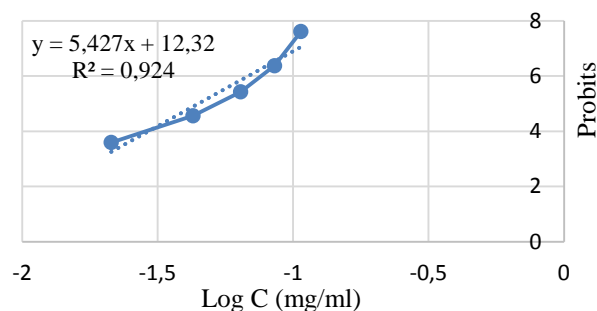
Les larves de *C. pipiens* traitées à l'aide de l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.) (Euphorbiacées), montrent un taux de mortalité qui varie en fonction de la concentration en extrait et du temps, car 100% de mortalité est noté pour les concentrations 100%,75%,50% et 25%, de l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana*, les autres concentrations de 15%,10%, 5% et 1% montrent un taux de mortalité décroissant avec la diminution de la concentration avec 86,67%, 73,33%, 63,33% et 56,67 respectivement [2]. L'extrait aqueux de *Laurus nobilis* (Lauraceae) est toxique pour les larves L<sub>4</sub> de moustiques (*Culex pipiens* L.). Cet extrait montre une activité larvicide avec une relation dose-réponse, une toxicité élevée au niveau des L<sub>2</sub>, comparativement aux L<sub>3</sub> et L<sub>4</sub>. Cette sensibilité est encore plus élevée lorsque l'exposition des larves aux insecticides est prolongée dans le temps (48h et 72h) [18]. Aouinty *et al.* (2006) rapportent que des larves L<sub>4</sub> de *C. pipiens* traités à différentes concentrations d'extraits aqueux de cinq plantes: *Ammi visnaga* Lam. (Apiaceae), *Tetraclinis articulata* L. (Cupressaceae), *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae), *Nerium oleander* L. (Apocynaceae), *Inula viscosa* L. Ait. (Asteraceae) 24 h durant, présentent des taux de mortalité variables selon les concentrations. A l'exception de *N. oleander*, la mortalité des larves atteint un taux de 100 % à partir d'une concentration de 4 %, pour tous les extraits. Pour l'extrait de *R. communis*, une mortalité de 100% est notée à partir de 1% de concentration. Les extraits les plus toxiques restent les feuilles du ricin et du bois de thuya et le moins toxique celui des feuilles du *N oleander* [19].

## 2.2.- Efficience biocide de l'extrait aqueux d'*Urtica dioica* sur les larves L<sub>4</sub> de *C. pipiens*

Au vu des résultats présentés du tableau 1 et la figure 2, il est noté que la dose létale 50 est de DL<sub>50</sub>= 0,045 mg/ml.

**Tableau I.-** Équation de régression, coefficient de régression et les valeurs de DL<sub>50</sub> pour l'extrait aqueux d'*U. dioica* après 72h de contact

Equation de régression	Coefficient de Régression	Dose létale 50 [mg/ml]
Y=5,4278X+12,326	R <sup>2</sup> =0,924	0,045



**Figure 2.-** Relation entre la mortalité corrigée des larves ( $L_4$ ) de *C. pipiens* et la dose de l'extrait aqueux foliaire d'*U. dioica* (Ortie)

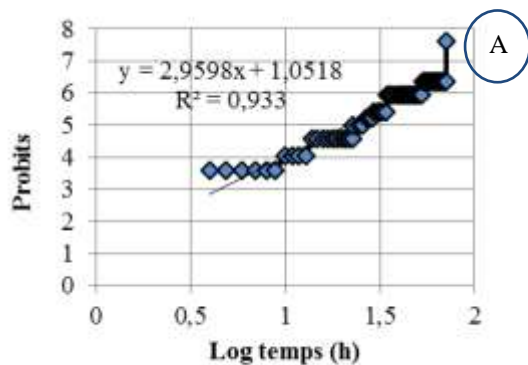
El-AKHAL *et al.* (2015) ont évalués une activité larvicide sur les larves ( $L_4$ ) de *Culex pipiens* exposés pendant 24 h à l'extrait de feuilles de *Thymus vulgaris* (Lamiacées), il s'avère que la concentration minimale responsable de la mortalité de 100% des individus est de 220 ppm avec une  $DL_{50} = 103\text{mg/ml}$  [20].

### 2.3.- Temps létaux 50 de l'extrait aqueux d'*U. dioica* sur les larves $L_4$ de *C. pipiens*

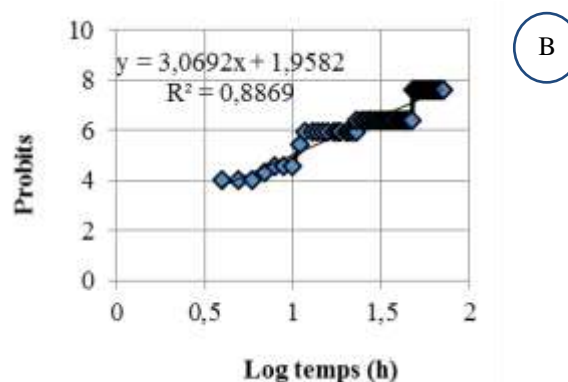
Au vu des valeurs des  $TL_{50}$  de chaque concentration en extrait aqueux foliaire d'*U. dioica* dans le tableau 2 et la droite de régression des probits en fonction du logarithme des durées du traitement représentée sur la figure 3 (A, B, C, D). Il apparaît que les extraits foliaires d'*U. dioica* à 100% et 80% présentent une valeur minimale du  $TL_{50}$  avec respectivement 0,03h et 0,35h. Ils apparaissent les plus toxiques que les autres concentrations. Cela signifie une rapidité d'action particulière vis-à-vis des larves ( $L_4$ ) de *C. pipiens*. Pour les autres concentrations le temps létaux 50% augmente avec la diminution de la dose, avec 1,65h pour la dose 60%, 9,79h pour la dose 40%, cependant la valeur maximale de  $TL_{50}$  correspond à la dose la plus faible de l'extrait aqueux de 20% soit 21,60h. HABBACHI *et al.* (2014) [21] signalent des  $TL_{50}$  plus élevés chez les larves  $L_4$  du *Culex pipiens* traitées par l'extraits aqueux foliaires des plantes fraîches de *Daphne gnidium* L. (Thymelaeaceae) et de *Peganum harmala* L. (Zygophyllaceae) avec 6,17 et 4,47 jours chez les larves  $L_4$  traitées par une concentration maximale de 300 g/l.

**Tableau II.-** Équation des droites de régression, coefficients de régressions et les valeurs de  $TL_{50}$  évaluées pour les cinq concentrations de l'extrait aqueux

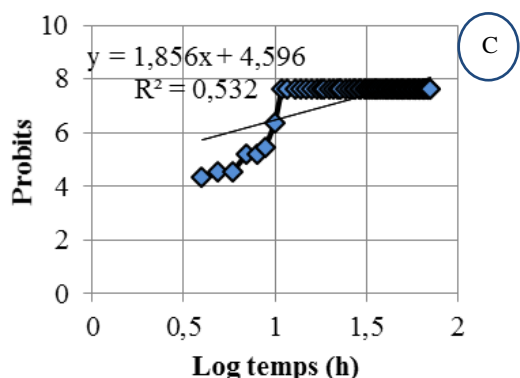
Concentration (%)	Equation de régression	Coefficient de régression	Temps létaux 50 (heure)
100	$Y=0,832x+6,266$	$R^2=0,436$	0,03
80	$Y=1,257x+5,570$	$R^2=0,532$	0,35
60	$Y=1,856x+4,596$	$R^2=0,532$	1,65
40	$Y=3,069x+1,958$	$R^2=0,886$	9,79
20	$Y=2,959x+1,051$	$R^2=0,933$	21,60



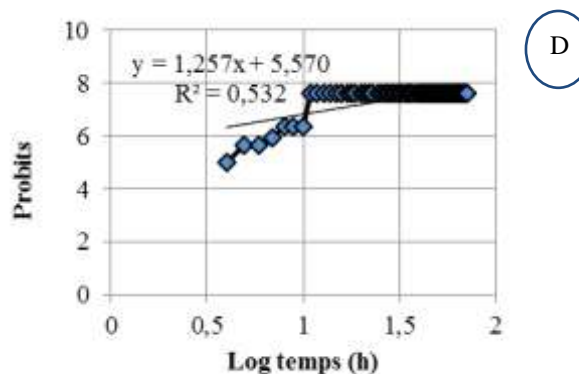
Action de l'extrait à la dose 20% dans le temps.



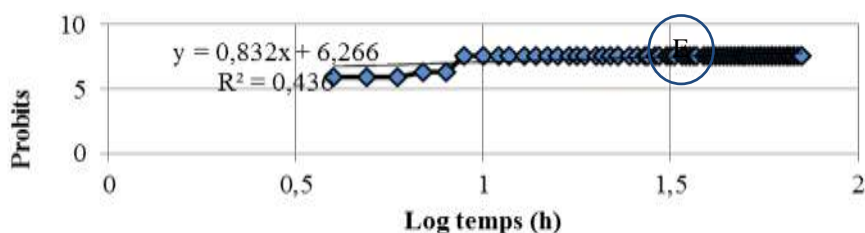
Action de l'extrait à la dose 40% dans le temps.



Action de l'extrait à la dose 60% dans le temps.



Action de l'extrait à la dose 80% dans le temps.



Action de l'extrait à la dose 100% dans le temps

**Figure 3A, B, C, D, E.-** Action de l'extrait aqueux foliaires de l'*U. dioica* sur les larves (L<sub>4</sub>) de *C. pipiens*

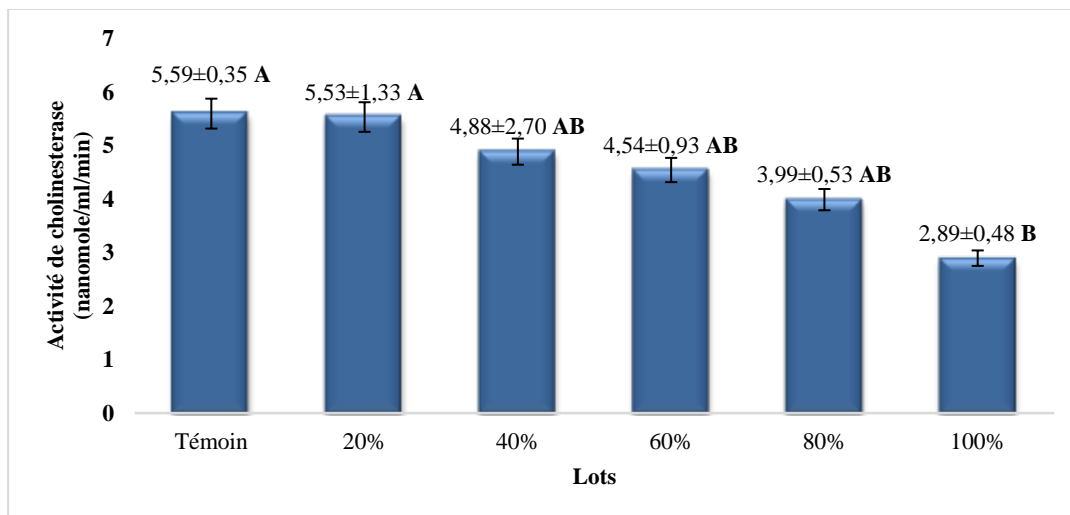
## 2.4.- Effet des extraits aqueux de l'*U. dioica* sur l'activité d'enzyme cholinestérase

Les résultats de la figure 4, laissent apparaître que la diminution de l'activité cholinestérasique est inversement proportionnelle à la dose de l'extrait. Il est noté des variations de l'activité cholinestérasique chez les larves témoins de  $5,59 \pm 0,35$  nanomole /mn/ml et les larves traitées. Les valeurs sont de  $5,53 \pm 1,33$  nanomole /mn/ml pour les larves traitées par la dose 20%, de  $4,88 \pm 2,70$  nanomole /mn/ml pour les larves traitées par la dose 40%, de  $4,54 \pm 0,93$  nanomole /mn/ml pour les larves traitées par la dose 60% et de  $3,99 \pm 0,48$  nanomole /mn/ml, pour les larves traitées par la dose 80%. La plus faible activité cholinestérasique est de  $2,89 \pm 0,48$  nanomole /mn/ml enregistrée pour la dose 100%.

L'analyse de la variance de l'effet de l'extrait foliaire de la plante *U. dioica* sur l'activité d'enzyme cholinestérase montre une différence hautement significative dans les valeurs de l'activité d'enzyme cholinestérase rapportées chez les larves traitées par les



doses 100%, 80%, 60%, 40%, 20% avec un facteur F égal à  $F = 595,5379$ ;  $P = 0,000011$ ,  $F = 389,4744$ ;  $P = 0,000026$ ,  $F = 155,6069$ ;  $P = 0,000161$ ,  $F = 37,04046$ ;  $P = 0,002624$ ) et ( $F = 149,9226$ ;  $P = 0,000173$  respectivement, comparativement aux larves témoins. Ainsi l'analyse des groupes homogènes par le test Anova-Tukey montre trois groupes homogènes A, AB et B.



**Figure 4.-** Activité d'enzyme cholinestérase chez les larves de stade 4 de *Culex pipiens* témoins et traités par différentes dose d'extrait de l'*Urtica dioica* (ortie)

## Conclusion

Le traitement des larves ( $L_4$ ) de *C. pipiens* par des extraits aqueux à différentes concentrations (100%, 80%, 60%, 40%, 20%) d'*U. dioica*, montre que les taux de mortalité cumulée des larves ( $L_4$ ) augmentent chaque heure pour atteindre un taux maximal avec une mortalité larvaire de 100% pour les lots traités par l'extrait aqueux pur, les autres lots traités, montrent un pourcentage de mortalité qui augmente en fonction de la concentration en extrait appliquée. Un taux de mortalité de 100% est atteint au bout de 72 heures. L'évaluation des doses létales ( $DL_{50}$ ) et des temps létaux ( $TL_{50}$ ) montre le fort pouvoir insecticide des extraits aqueux de la plante. Des variations très importantes de l'activité cholinestérasique entre les larves ( $L_4$ ) témoins qui sont de  $5,59\pm 0,35$  nanomole /mn/ml et les larves traitées, sont notées. L'activité cholinestérasique la plus faible est de  $2,89\pm 0,48$  enregistrée pour la dose de 100%. L'effet larvicide des extraits foliaires aqueux d'*U. dioica* sur les larves  $L_4$  de *C. pipiens*, est confirmé.

## Références bibliographiques

- [1].- Tetreau G., 2006.- Devenir du bio insecticide *Bti* dans l'environnement et impact sur le développement de résistances chez le moustique. Thèse de Doctorat, Université de Grenoble, France: 385.
- [2].- Kemassi A., Boukhari K., Cherif R., Ghada K., Bendaken N., Bouziane N., Boual Z., Bouras N et Ould el hadj-Khelil A., Ould el hadj M. D., 2015.- Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.) (Euphorbiaceae). ElWahat pour les Recherches et les Etudes, vol. 8 n°1: 44-61.
- [3].- Soltani N., Larhem A.B., Boujelida H., 2010.- Lutte chimique contre le moustique: évaluation d'un insecticide sélectif à l'égard des larves de *Culex pipiens*. Ed. Himmi.

- Actes de la CIFE VI, Travaux de l'Institut Scientifique, Série Zoologie, Rabat, N° 47: 177-182.
- [4].- Aouinty B., Oufara S., Melloukki F., Mahari S., 2006.- Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés: *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc.* 10 (2): 67-71.
- [5].- Karch S. et Charles J. F., 1987.- Toxicity, Viability and Ultrastructure of *Bacillus sphaericus* 2362 Spore/Crystal Complex Used in the Field. *Annales de l'Institut Pasteur/Microbiologie*, 138:485-492.
- [5].- Zohoun G. A., 2011.- Problématique de conservation des collections naturelles, des parcs et jardins historiques en milieux urbanisés africains: processus de plan de gestion durable, cas du jardin des plantes et de la nature (JPN) de Porto-Novo, Bénin. Université Senghor d'Alexandrie, Master en développement et gestion du patrimoine culturel, 93 p.
- [6].- Thiam A., 1991.- Problématique de l'utilisation des insecticides chimiques dans la lutte anti-acridienne au Sahel. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris: 193-206.
- [7].- Tail G., 1998.- Action de quelques substrats alimentaires sur quelques paramètres biologiques de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775), (Orthoptera-Acrididae) Efficacité entologique de *Pseudomonas fluorescens* (Pseudomonadales) sur quelques aspects physiologiques du criquet pèlerin. Thèse Mag., INA, El Harrach, Alger, 190 p.
- [8].- Barbouche N., Hajjem B., Lognay G. et Ammar M., 2001.- Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui l'herit.* (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 5 (2): 85-90.
- [9].- Isman M. B., Machial, C. M., 2006.- Pesticides based on plant essential oils: from traditional practice to commercialization. In M. Rai and M.C. Carpinella (eds.), *Naturally Occurring Bioactive Compounds*, Elsevier, Pp 29-44.
- [10].- Spit J., Badisco L., Verlinden H., Van Wielendaele P., Zels S., Dillen S., Vanden broeck J., 2012.- Peptidergic control of food intake and digestion in insects. *Can. J. Zool.*, vol. 90(4): 489-506.
- [11].- Liu H., Yi M., Shi X., Liang P., Gao X., 2007.- Substrate specificity of brain acetylcholinesterase and its sensitivity to carbamate insecticides in *Carassius auratus*. *Fish physiol. Biochem.* vol. 33(1): 29-34.
- [12].- Zaluski D. et Kufniewski R., 2016.- In Vitro Anti-AChE, Anti-BuChE, and Antioxidant Activity of 12 Extracts of *Eleutherococcus* Species. *Hindawi Publishing corporation*, vol. (11): 1-7.

- [13].- Ellman G.L., Courtnyk D., Andres V., Feathrstone R. M., 1961.- A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology and hysiology*. 38: 84-90 p.
- [14].- Ould el hadj M. D., Tankari dan-badjo A., Halouane F., Doumanji S., 2006.- Toxicité comparée des extraits de trois plantes acidifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera Cyrtacanthacridinae). *Sécheresse*, vol. 17(3): 407-414.
- [15].- Kemassi A., 2014.- Toxicité comparée des extraits d'*Euphorbia guyoniana* (Stapf.) (Euphorbiaceae), *Cleome arabica* L. (Capparidaceae) et de *Capparis spinosa* L. (Capparidaceae) récoltés de la région de Ghardaïa (Sahara septentrional) sur les larves du cinquième stade et les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera-Cyrtacanthacridinae). Thèse de doctorat, Université Kasdi Merbah-Ouargla, 230p.
- [16].- Ndomo A. F., Tapondjou1 A. L., Tendonkeng F., Tchouanguiep F. M., 2009.- Evaluation des propriétés insecticides des feuilles de *Callistemon viminalis* (Myrtaceae) contre les adultes d'*Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera; Bruchidae). *Tropicultura*, vol. 27(3): 137-143.
- [17].- Merabti B., Lebouz I., Adamou A., Ouakid M. L., 2015.- Effet toxique de l'extrait aqueux des fruits de *Citrullus colocynthis* (L.) schrad sur les larves des *Culicidae*. *Revue des Bio Ressources*, vol 5 N° 2:120-130.
- [18].- Zouaoui A., 2017.- Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait aqueux des feuilles de *Laurus nobilis* L. à l'égard de *Culex pipiens*. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Département: Biologie Animale. Université des Frères Mentouri. Constantine: 46 p.
- [19].- Aouinty B., Oufara S., Melloukki F., Mahari S., 2006.- Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés: *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc.*, 10 (2): 67-71.
- [20].- El-akhal F., Greche H., Ouazzani F. C., Guemmouh R., El ouali lalmi A., 2015.- Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d'huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco . *J. Mater. Sci.* 6 (1): 214-219.
- [21].- Habbachi W., Benhissen S., Ouakid M. L., Farine J.P., Bairi A., 2014.- Toxicity of aqueous extracts from Mediterranean plants on *Culex pipiens* (Mosquitoes). Case of *Daphne gnidium* (Thymelaeaceae) and *Peganum harmala* (Zygophyllaceae). *Wulfenia Journal*, vol 21. No. 12: 244-252.