

## Activité Larvicide des Extraits de Plantes Aromatiques sur les Larves de Moustiques Vecteurs de Maladies Parasitaires

### [ Larvicidal Activity of Aromatic Plant Extracts on Larvae of Mosquitoes Vectors of Parasitic Diseases ]

Mohamed Yassine SAYAH<sup>1</sup>, Abdelhakim EL OUALI LALAMI<sup>2</sup>, Hassan GREECH<sup>3</sup>, Faouzi ERRACHIDI<sup>4</sup>,  
Youssef RODI EL KANDRI<sup>1</sup>, and Fouad OUAZZANI CHAHD<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratoire de Chimie Organique appliquée, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah,  
Faculté des Sciences et Techniques, Fès, Morocco

<sup>2</sup>Laboratoire Régional de Diagnostic Epidémiologique et d'Hygiène du Milieu,  
Direction Régionale de la Santé, Hôpital EL Ghassani, Fez, Morocco

<sup>3</sup>Laboratoire de valorisation et application industrielle,  
Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques, Taounat, Morocco

<sup>4</sup>Laboratoire de Physiologie & Génétique Moléculaire, Université Hassan II,  
Faculté des Sciences Aïn Chock, Casablanca, Morocco

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**ABSTRACT:** Sensitivity tests were performed according to the World Health Organization protocol (WHO) for three essential oils (*Citrus aurantium* (bitter orange) *Citrus sinensis* (orange) and *Pistacia lentiscus*) and four chemical insecticides (Malathion Temephos Fenthion and Fenitrothion) used as a positive controls. Essential oils have shown an interesting larvicidal activity against *Culex pipiens*, with an interesting lethal doses (LD50= 35 ppm and LD90=70 ppm) in the case of *Citrus aurantium* essential oils and (LD50= 64 ppm and LD90 = 120 ppm) using *Citrus sinensis* while the LD50 and LD90 were, respectively, in the case of *Pistacia lentiscus* 62ppm and 160ppm. Chemical insecticides, used as a positive control, showed a significant larvicidal activity. The larvicidal activity of essential oils could have a great interest in the domain of vector control. This is because of problems caused by the use of chemical insecticides (environmental pollution, resistance, hazards to human health).

**KEYWORDS:** Larvicidal activity, Essential oil, Sensitivity test, *Culex pipiens*, vector control.

**RESUME:** Des tests de sensibilités ont été réalisés conformément au protocole de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) pour trois huiles essentielles (*Citrus aurantium* (orange amère) *Citrus siensis* (orange) et *Pistacia lentiscus*) et quatre insecticides chimiques (Temephos Malathion Fenthion et le Fenitrothion) utilisés comme témoins. Les huiles essentielles évaluées, ont montré une activité larvicide envers les *culex pipiens*, avec des DL50 et DL90 intéressantes ; *Citrus aurantium* (35 ppm et 70 ppm), *Citrus sinensis* (64 ppm et 120 ppm) *Pistacia lentiscus* (62 ppm et 160 ppm). L'activité larvicide des huiles essentielles pourrait avoir un grand intérêt dans le domaine de la lutte antivectorielle. Ceci en raison des problèmes engendrés par l'utilisation des insecticides chimique (pollution de l'environnement, résistance, dangers pour la santé humaine).

**MOTS-CLEFS:** Activité larvicide, Huile essentielle, Test de sensibilité, *Culex pipiens*, lutte antivectorielle.

## 1 INTRODUCTION

Les maladies à transmission vectorielle sont des maladies qui sont disséminées principalement par des espèces d'arthropodes qui jouent un rôle essentiel dans une partie du cycle de vie d'un agent pathogène. Face au danger de ces maladies l'instauration d'un système de lutte antivectorielle est inéluctable. Parmi les méthodes qui suscitent beaucoup de polémiques la lutte chimique, en raison de son impact nocif sur l'environnement et la santé humaine. Devant les problèmes engendrés par l'utilisation des insecticides de synthèse dans la lutte antivectorielle (pollution environnementale, résistance, impact sur la santé humaine...), les récentes recherches s'orientent vers la substitution de ces produits par d'autres naturels : les bio-insecticides.

Ces dernières années le Maroc a connu le problème de résistance aux insecticides utilisés dans la lutte anti-vectorielle. Cette situation alarmante a incité la communauté scientifique et l'autorité compétente dans le domaine à chercher des alternatives durables qui respectent l'environnement et évitent toute sorte de préjudice potentiel à la santé publique [1]. Notre contribution opte pour l'usage des huiles essentielles comme bioinsecticide de lutte antivectorielle. Cette approche a un double intérêt qui converge vers la valorisation du patrimoine végétal national et la mise au point de bio-insecticide écologique.

Nous nous sommes focalisés sur les huiles essentielles de faible valeur marchande et disponibles avec de grandes quantités au Maroc et qui pourraient avoir une activité insecticide et larvicide. Après un criblage systématique nous avons retenu les huiles essentielles du genre *Citrus*. Les espèces qui présentent une disponibilité importante (Déchet agro-alimentaire des unités productrices du jus d'agrumes) sont *Citrus sinensis* (orange) et *Citrus aurantium* (orange amère). Aussi nous avons sélectionné l'huile essentielle de *Pistacia lentiscus* pour le même effet afin de le comparer avec celles des huiles essentielles du genre *Citrus*. La phase larvaire qui joue un rôle critique dans le cycle du *Culex pipiens* a été ciblée dans cette étude pour éliminer ce vecteur. Les larves du moustique *Culex pipiens* qui est l'agent causal de la transmission des épidémies du virus West Nile qui ont touché le Maroc en 1996 [2], et en 2003 [3].

## 2 MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 2.1 MATÉRIELS VÉGÉTAUX

Les matières végétales destinées à l'hydrodistillation pour l'obtention des huiles essentielles ont été prélevées entre le 29 février et le 9 mars 2011. Les plantes utilisées sont toutes originaires du Maroc et sont regroupées dans le tableau 1 comme suit :

Tableau 1. Espèces végétales utilisées et parties distillées

Espèces végétales	Partie utilisée(+)		
	Feuilles	Zest	Branches
<i>Citrus aurantium</i> L		+	
<i>Citrus sinensis</i> L		+	
<i>Pistacia lentiscus</i>	+		+

### 2.2 EXTRACTION ET ANALYSE DES HUILES ESSENTIELLES

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée au niveau du laboratoire de valorisation et application industrielle de l'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques de Taounate (INPMA). 200 g de la matière végétale est soumise à une hydrodistillation en utilisant un clevenger durant 2 heures. Le sulfate de sodium anhydre a été utilisé pour enlever l'eau après l'extraction. L'huile extraite est ensuite stockée à 4 °C.

L'analyse de la composition chimique des huiles essentielles a été réalisée au niveau du Centre National de Recherche Scientifique et Techniques (CNRST) de Rabat.

L'analyse a été opérée par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS) ; pour une détermination qualitative et quantitative des composés chimiques des huiles essentielles testées. L'appareillage utilisé est le suivant : Chromatographe à phase gazeuse (*Trace GC ULTRA*) couplé à un spectromètre de masse (*Polaris Q MS* à trappe

ionique), l'ionisation été réalisée par impact électronique (70 eV). La base de données utilisée : NIST MS Search. Le tableau suivant résume les conditions de l'injection ainsi que le type de colonne et solvant utilisés.

**Tableau 2. Information générale sur l'analyse CG-SM végétales utilisées**

<b>Solvant</b>	Acétate d'éthyle (C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub> )
<b>Type de colonne</b>	VB5 (Methylpolysiloxane à 5% phenyl) 30 m * 0.25 mm * 0.25 µm.-
<b>Volume d'injection</b>	1µl
<b>Température d'injection</b>	220°C
<b>Température d'interface</b>	300°C
<b>Mode d'injection</b>	Split
<b>Gaz vecteur</b>	Hélium

Les conditions de séparation sont comme suit :

**Tableau 3. Conditions de séparation**

Rampe (°C/min)	Température finale (°C)	Temps (min)
	40	2.00
4	180	0.00
20	300	2.00

### 2.3 MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Les larves testées sont celle du *Culex pipiens*. Les larves sont mises entre lame et lamelle, afin d'étudier leur caractéristiques morphologiques qui permettent leur identification suivant la clé d'identification des culicidés du Maroc [4].

### 2.4 INSECTICIDES

Les kits d'insecticides utilisés comme témoins dans cette étude sont fournis par l'organisation mondiale de la santé, ils sont préservés à basse température. Les insecticides utilisés sont le Téméphos (C<sub>16</sub>H<sub>20</sub>O<sub>6</sub>P<sub>2</sub>S<sub>3</sub>), Malathion (C<sub>10</sub>H<sub>19</sub>O<sub>6</sub>PS<sub>2</sub>), Fenthion (C<sub>10</sub>H<sub>15</sub>O<sub>3</sub>PS<sub>2</sub>) et le Fenitrothion (C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>5</sub>PS), ce sont tous des organophosphorés.

### 2.5 TESTS DE SENSIBILITÉS

Les tests de sensibilité ont été réalisés conformément au protocole préconisé par l'Organisation Mondiale de la Santé [5]. Ce test est réalisé sur les larves des stades 3 et 4. Cinq concentrations d'insecticide sont préparées, plus le témoin, avec trois béchers par concentration, contenant chacun 20 larves. Après 24h de contact on dénombre les larves mortes et vivantes. On calcule les pourcentages de mortalité par la formule suivante :

$$\% \text{ Mortalité} = (\text{Nbr LM} / (\text{Nbr TL} - \text{Nbr N})) * 100$$

Nbr LM : Nombre de larves mortes ou moribondes

Nbr TL : Nombre totale de larves

Nbr N : Nombre de nymphes.

Les larves moribondes sont les larves qui présentent une réaction lente aux différentes excitations dont l'objectif est la détermination des larves vivantes de celle mortes. Le test ne tient pas compte des larves qui sont sur le point de mourir.

Si le pourcentage de mortalité chez le témoin ne dépasse pas les 5%, le test est considéré comme valide. S'il est compris entre 5% et 20%, le test est valide mais une correction des pourcentages de mortalité doit être réalisée, ceci en utilisant la formule d'Abbott [6], [7].

$$\%MC = ((\%MO - \%MT) / (100 - \%MT)) * 100$$

%MO : % Mortalité. Observée ; %MT : % Mortalité Témoin ; %MC : % Mortalité corrigée

Ce protocole adopté pour les tests utilisant les insecticides chimique est adapté pour les huiles essentielles. Les DL90 et les DL50 ont été déterminées par le graphique log-probit [8].

## 2.6 TEST DE SENSIBILITÉ UTILISANT LES HE

Une solution stock à 1000ppm d'huile essentielle dans l'éthanol a été préparée et par une série de dilution, nous avons obtenu la gamme des solutions suivantes : 10ppm, 40ppm, 60ppm, 80ppm, 100ppm, 200ppm, 400ppm, 600ppm, et 800ppm. L'éthanol joue le rôle d'agent de dispersion de l'huile essentielle dans l'eau.

1ml de chaque solution préparée est mis dans des béchers contenant 99ml d'eau distillée en contact avec 20 larves. Le témoin est constitué de 1ml l'éthanol absolu et 99ml d'eau distillée. Les tests ont été réalisés en triple.

## 2.7 TEST DE SENSIBILITÉ UTILISANT LES INSECTICIDES CHIMIQUES

Le test est réalisé suivant le protocole décrit précédemment. Nous avons préparé les différentes dilutions dans l'éthanol. Le tableau résume les proportions de l'éthanol et d'insecticide dans chaque concentration dont 1ml est ajouté à 99ml eau. Ceci a été réalisé de la même manière en triple pour tous les insecticides.

**Tableau 4. Concentrations d'insecticides utilisées**

Solutions mères (ppm)	Concentration à utiliser (ppm)	Volume de l'éthanol ( $\mu$ l)	Volume de l'insecticide ( $\mu$ l)
1,25	0,125	900	100
	0,25	800	200
	0,5	600	400
	1,25	0	1000
6,25	2,5	600	400
	5	200	800
	6,25	0	1000

## 3 RÉSULTATS

### 3.1 GÎTE RETENU POUR L'ÉTUDE

Le gîte retenu pour les tests de sensibilité, est le gîte nommé Grand canal, il se trouve en prenant le départ de la ville de Fès vers la ville de Meknès à environ 500 mètres avant l'intersection des deux routes nationales ; N6 en destination de la ville de Meknès avec la N4 qui permet d'aller vers la zone Douyet. Ce gîte se caractérise par, une très forte densité en larve du *Culex pipiens* grâce à son eau chaude issue de la source Ain Allah, ce qui permet un bon développement des larves et grâce aussi aux roseaux qui le couvre leur formant ainsi une protection. Le tableau suivant regroupe quelques informations concernant ce gîte. La photo suivante est tirée depuis « google map » afin de situer le gîte.



Fig. 1. Photo du gîte « Grand Canal » prise depuis « google map » (N6 (4): Route nationale numéro 6 (4).)

Le tableau suivant regroupe les caractéristiques du gîte étudié.

Tableau 5. Informations sur le gîte

Longueur	900 m
Largeur	2 m
Coordonnées du gîte	34°02'09.2"N 5°05'34.2"W
Population	1075
Espèce ciblée	Culex pipiens

### 3.2 RENDEMENT DES HUILES ESSENTIELLES

Les rendements des huiles essentielles utilisées sont exprimés dans un ordre croissant par rapport au rendement dans le tableau ci-dessous :

Tableau 6. Rendement en huiles essentielles.

Plantes	Famille	Rendement
<i>Pistacia lentiscus</i>	Anacardiaceae	0,2%
<i>Citrus aurantium</i>	Rutaceae	1,2%
<i>Citrus sinensis</i>	Rutaceae	1,2%

Nous remarquons que le *Citrus aurantium* et *Citrus sinensis* possèdent des rendements plus élevés par rapport à *Pistacia lentiscus* qui présente le plus faible rendement.

### 3.3 COMPOSITION CHIMIQUE DES HUILES ESSENTIELLES

La composition chimique des trois huiles essentielles est resumée dans le tableau suivant :

Tableau 7. Composition chimique des huiles essentielles

Composés	<i>C. aurantium</i> (%)	<i>C. sinensis</i> (%)	<i>P. lentiscus</i> (%)
Limonène	90	95.36	17,12
α-Pinene	0,9	0.52	32,51
sabinène	0,5	0.44	6,19
Myrcene	1,3	1.98	-
α -Terpenyl acetate	5,1	-	-
β-Pinene	1,5	-	6,91
β -Caryophyllene	< 0,1	-	-
α -ylangene	< 0,1	-	-
Valencene	< 0,1	-	-
Terpinolene	< 0,1	-	-
Bornyl acetate	< 0,1	-	-
linalol	-	0,38	-
décanal	-	0,24	-
delta-3-caréne	-	0,17	-
géranial	-	0,10	-
néral	-	0,05	-
4-Terpinéol	-	-	9,54
o-Cyméne	-	-	8,4
α -Terpinéol	-	-	7,04
Camphene	-	-	4,57
Acétate de bornyl	-	-	3,21
Oxyde de caryophylléne	-	-	2,71
Acétate de butyle	-	-	1,8

Le composé majoritaire pour le *Citrus aurantium* et le *Citrus sinensis* est le limonène avec respectivement 90% et 95,36%, tandis que l'huile essentielle du *Pistacia lentiscus* a l'α-Pinène comme composé majoritaire et ne contient que 17,12% de limonène. La fraction monoterpénique est présente des pourcentages importants pour les trois huiles essentielles.

### 3.4 RÉSULTATS DU TEST DE SENSIBILITÉ EN UTILISANT CITRUS AURANTIUM

Le tableau 8 illustre les résultats obtenus sur les larves du *Culex pipiens* pour différentes doses de l'huile essentielle *Citrus aurantium*.

Tableau 8. Résultats du test de sensibilité concernant l'huile essentielle *Citrus aurantium*.

Tests	Témoin	<i>Citrus aurantium</i>		Doses Létales (ppm)	
	Mortalité	Doses (%)	%Mortalité corrigée	DL 50	DL 90
T2	11.66%	10ppm	26.42%	35ppm	70ppm
		40ppm	56.59%		
		60ppm	84.89%		
		80ppm	98.10%		
		100ppm	100%		
T1	3.33%	200ppm	100%	35ppm	70ppm
		400ppm	100%		
		600ppm	100%		
		800ppm	100%		
		1000ppm	100%		

T1 : Test 1 ; T2 : Test 2

Tableau 9. Conditions de réalisation des tests T1 et T2

Test	Humidité	Synergiste	Température de l'eau
T1	67%	23C°	22.3C°
T2	60%	22.8C°	22C°

L'huile essentielle *Citrus aurantium* possède une activité larvicide intéressante, Avec DL50 égale à 35ppm et DL90 de l'ordre de 70ppm. La DL90 et la DL50 ont été déterminées par le log-probit. Le composé majoritaire de l'huile *C.aurantium* est le limonène avec 90% qui est un monoterpène. Les monoterpènes sont connus pour leurs effets larvicides [9], [10], [11].

### 3.5 RÉSULTATS DU TEST DE SENSIBILITÉ EN UTILISANT PISTACIA LENTISCUS

Le tableau 9 regroupe les résultats obtenus après l'exposition des larves de *culex pipiens* à L'huile essentielle de la plante *Pistacia lentiscus* durant 24H.

Tableau 10. Résultats du test de sensibilité concernant l'huile essentielle *Pistacia lentiscus*

Tests	Témoin	<i>Pistacia lentiscus</i>		Doses Létales (ppm)	
	Mortalité	Doses (%)	%Mortalité corrigée	DL 50	DL 90
T2	8.62%	10ppm	14.27%	62ppm	160ppm
		40ppm	27.04%		
		60ppm	49.19%		
		80ppm	76.28%		
		100ppm	85.40%		
T1	5.17%	200ppm	100%		
		400ppm	100%		
		600ppm	100%		
		800ppm	100%		
		1000ppm	100%		

T1 : Test 1 ; T2 : Test 2

Tableau 11. Conditions de réalisation des tests T1 et T2

Test	Humidité	Synergiste	Température de l'eau
T1	70%	21C°	19.5C°
T2	62%	20C°	19.7C°

*Pistacia lentiscus* présente une activité larvicide intéressante. Avec une DL50 de 62ppm et une DL90 de 160ppm. Cette activité peut être expliquée par sa composition chimique qui est dominée par les composés monoterpénique ; limonène et  $\alpha$ -pinène connus pour leurs effets larvicides [12], [13].

### 3.6 RÉSULTATS DU TEST DE SENSIBILITÉ EN UTILISANT CITRUS SINENSIS

Les résultats de l'exposition des larves de *culex pipiens* à l'huile essentielle du *Citrus sinensis* durant 24H sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 12. Résultats du test de sensibilité concernant l'huile essentielle *Citrus sinensis*

Tests	Témoin	<i>Citrus sinensis</i>		Doses Létales (pmm)	
	Mortalité	Doses (%)	%Mortalité corrigée	DL 50	DL 90
T2	6.77%	10ppm	18.18%	64ppm	120ppm
		40ppm	38.18%		
		60ppm	47.27%		
		80ppm	77.41%		
		100ppm	88.89%		
T1	3.39%	200ppm	100%		
		400ppm	100%		
		600ppm	100%		
		800ppm	100%		
		1000ppm	100%		

T1 : Test 1 ; T2 : Test 2

Tableau 13. Conditions de réalisation des tests T1 et T2

Tests	Humidité	Synergiste	Température de l'eau
T1	72%	19C°	18.3C°
T2	76%	23.5C°	22.8C°

L'huile essentielle du *Citrus sinensis* présente une forte activité larvicide avec des DL50 de 60ppm et DL90 de l'ordre 120ppm. Le pourcentage de mortalité est proportionnel à la concentration de l'huile essentielle. Cette activité pourrait être due à sa composition chimique constituée majoritairement de limonène qui est l'un des monoterpènes célèbres pour leur effet insecticide envers plusieurs espèces d'insectes [9], [14].

### 3.7 COMPARAISON DE L'EFFET LARVICIDE DES TROIS HE

La représentation graphique suivant illustre l'évolution des pourcentages de mortalités des larves du *Culex pipiens* en fonction des doses des trois huiles essentielles ; *Citrus aurantium*, *Citrus sinensis* et *Pistacia lentiscus*.

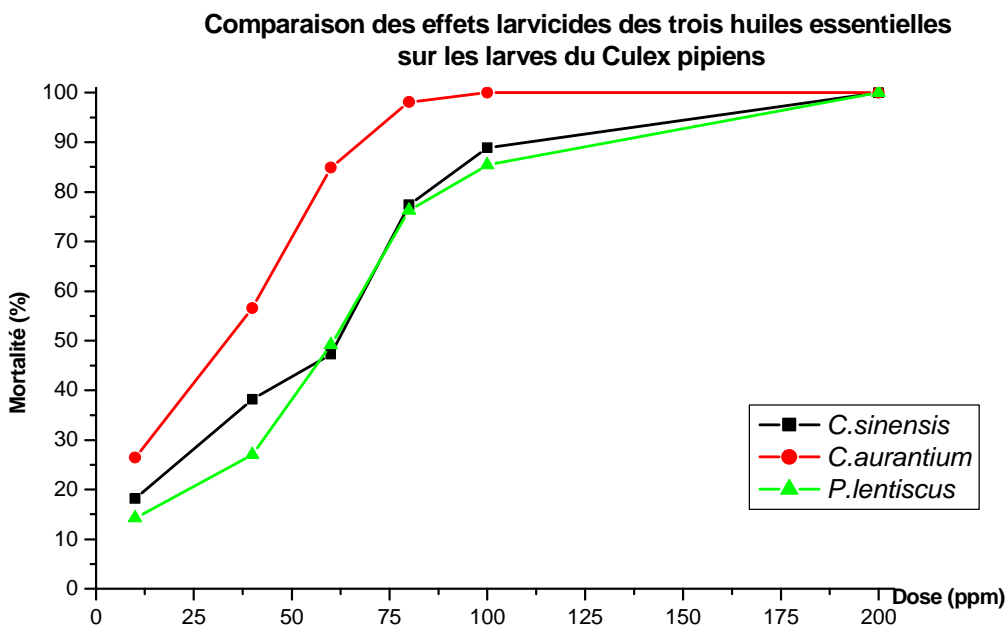


Fig. 2. Comparaison des effets larvicides des trois huiles essentielles sur les larves du *Culex pipiens*.



Il apparait clairement que le *Citrus aurantium* possède une activité larvicide intéressante par rapport aux autres huiles essentielles. Le *Citrus sinensis* et *Pistacia lentiscus* présentent des activités larvicides similaires malgré la différence de leur espèce et leur composition chimique. Nous remarquons qu'à la plus faible dose en huile essentielle, la mortalité perçue en employant les *Citrus aurantium* est largement supérieur à celle observé en utilisant les deux autres huiles essentielles (*Citrus sinensis* et *Pistacia lentiscus*). L'augmentation de la dose de l'huile essentielle du *Citrus aurantium* provoque un changement brusque dans la mortalité des larves du *Culex pipiens*. La mortalité dépasse les 50% après 35 ppm en huile essentielle *Citrus aurantium*. La faible pente, obtenue dans les représentations graphiques des activités larvicides des autres huiles essentielles (*Citrus sinensis* et *Pistacia lentiscus*) traduit une faible activité par rapport à celle du *Citrus aurantium*. En 2009, Michaelakis et ses collaborateurs ont testé l'effet larvicide du *Citrus aurantium* et du *Citrus sinensis* sur les larves du *Culex pipiens* et ils ont trouvé que les DL 90 respectives sont 79,49 ppm et 73,21 ppm [13], tandis que dans notre cas la DL90 du *Citrus aurantium* est de 70 ppm et celle du *Citrus sinensis* est de 160 ppm. Melliou Eleni, en 2009[10], a testé l'effet larvicide de l'huile essentielle du *Citrus aurantium*, obtenue par distillation et par pressage à froid, sur les larves du *Culex pipiens*. Il a remarqué que la DL90 de l'huile essentielle obtenue par pressage à froid été nettement inférieur à celle obtenue par distillation, les DL90 respectives sont 99.22 ppm et 186.66 ppm. Ceci montre que la méthode d'extraction des huiles essentielle affecte leur activité leur activité.

Malgré que le *Citrus aurantium* et le *Citrus sinensis* ont le limonène comme composé majoritaire, leur effet larvicide est différent en terme d'efficacité. Cette différence peut être expliquée par un probable effet de synergie assuré pas les composés minoritaires qu'on peut décrire comme « potentialisation ».

L'analyse CPG-MS des huiles essentielles testée a montré la présence de plusieurs molécules réputées pour leur effet larvicide. L' $\alpha$ -pinene et le  $\beta$ -pinene [13] ainsi que le limonène présentent une activité larvicide. Michaelakis a évalué l'activité larvicide de l' $\alpha$ -pinene, le  $\beta$ -pinene et leurs énantiomères et il a obtenus les DL90 suivante : (1S)-(-)- $\beta$ -pinene 76.27 ppm, (1R)-(+)- $\beta$ -pinene 109.53 ppm, (1S)-(-)- $\alpha$ -pinene 124.2 ppm et le (1R)-(+)- $\alpha$ -pinene 144.56 ppm tandis que l'évaluation de cette activité pour l'huile essentielle entière a donné des DL90 plus faibles que celles obtenue en testant des composé pures. En 2008, Michaelakis a montré que les deux énantiomères du limonène, R-(+) et S(-), présentent cette activité [11]. Eleni a rapporté que l'huile essentielle du bergamote obtenue par pression à froid est riche en limonène et montre une activité larvicide importante [10], aussi il a trouvé que les DL 50 du R- et le S-limonene sont respectivement 43 to 53 mg/L. Ceci prouve l'existence de ce qu'on a appelé « l'effet de matrice » où chaque composé contribue et affecte l'effet global de l'huile essentielle.

### 3.8 RÉSULTATS DU TEST DE SENSIBILITÉ DES INSECTICIDES CHIMIQUES

La représentation graphique suivante regroupe les résultats obtenus des tests de sensibilités réalisés en utilisant les insecticides chimiques.

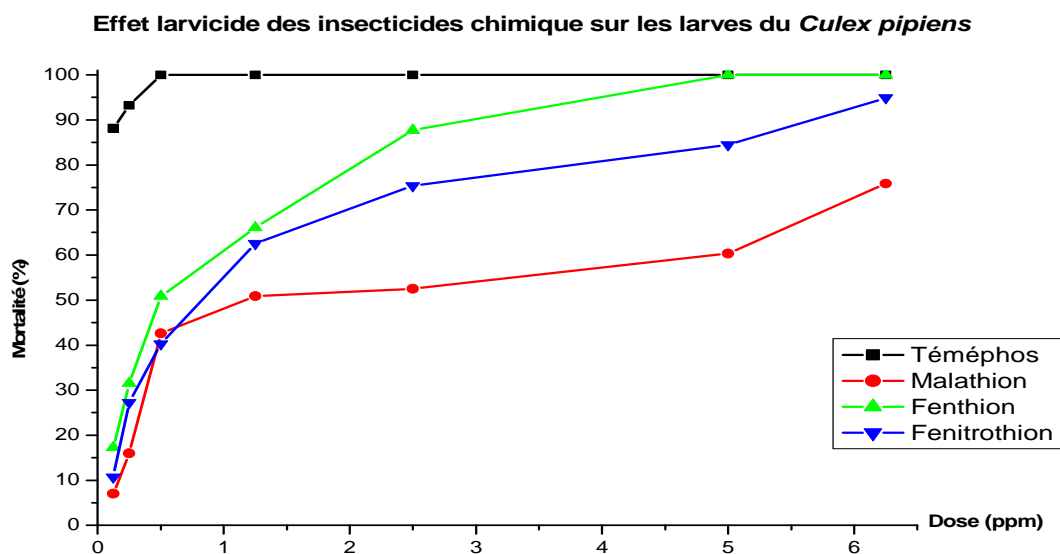


Fig. 3. Effet larvicide des insecticides chimique sur les larves du *Culex pipiens*

Le Téméphos représente la plus importante activité larvicide, suivi du Fenthion, Fenitrothion et en dernier le Malathion qui sont des composés organophosphorés. Il apparaît clairement que le Téméphos provoque les plus grands pourcentages de mortalité par rapport aux autres insecticides.

### 3.9 COMPARAISON DES DL50 ET DL90 DES HUILES ESSENTIELLES ET DES INSECTICIDES CHIMIQUES

Nous allons comparer les DL50 et les DL90 des insecticides chimiques et celles des huiles essentielles. La représentation graphique suivant regroupe l'ensemble des DL50 et Des DL90 des huiles essentielles et des insecticides chimiques.

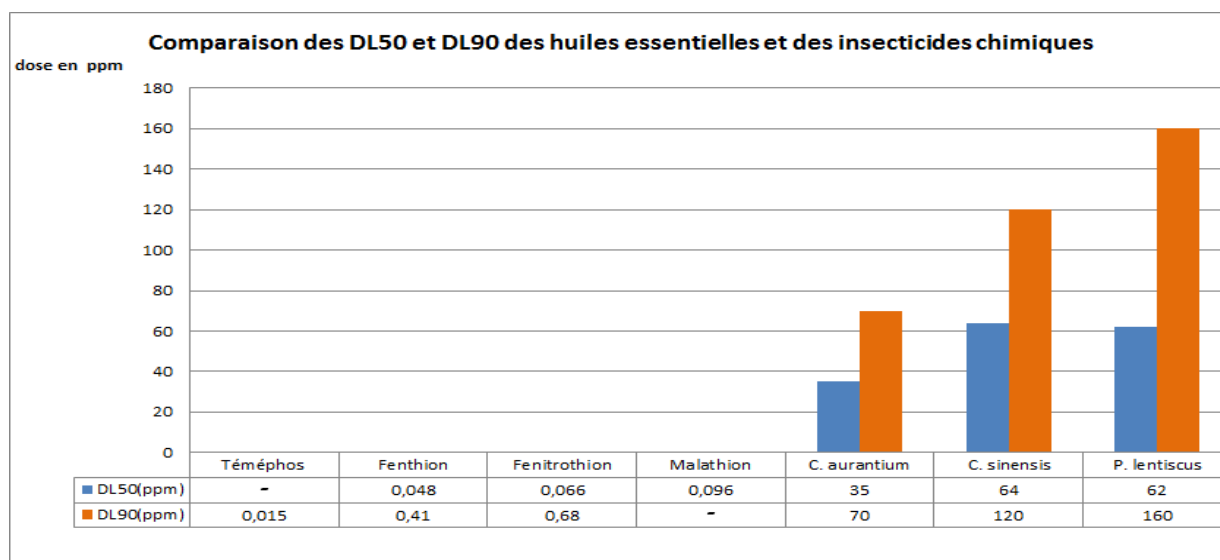


Fig. 4. Comparaison des doses létales (DL50 et DL90) des huiles essentielles et des insecticides chimiques.

Les insecticides possèdent de très faibles valeurs de doses létales 50 et 90 par rapport à celles des huiles essentielles. Ceci montre leur grande efficacité comme insecticide. Nous constatons aussi que l'huile essentielle *Citrus aurantium* présente une valeur de DL90 de l'ordre de 70 ppm. Malgré les différences des DL50 et DL90 entre les huiles essentielles et les insecticides chimiques vis-à-vis des larves du *Culex pipiens*. L'activité larvicide des huiles essentielles pourrait présenter un grand intérêt dans le domaine de la lutte antivectorielle. Ceci en raison des problèmes engendrés par l'utilisation des insecticides chimiques (pollution de l'environnement, résistance, dangers pour la santé humaine).

## 4 CONCLUSION

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

Dans notre étude, nous avons évalué et comparé par rapport aux insecticides chimiques, l'activité larvicide sur les larves de *Culex pipiens* de trois huiles essentielles. Les huiles essentielles évaluées, ont montré une intéressante activité larvicide du *Citrus aurantium* envers les *Culex pipiens*. Les doses létales, DL50 et DL90, sont respectivement de 35ppm et 70 ppm pour l'huile essentielle du *Citrus aurantium*, celles du *Citrus sinensis* est 64ppm et 120ppm, alors que les DL50 et DL90 du *Pistacia lentiscus* sont respectivement 62ppm et 160ppm. Les résultats des tests de sensibilité employant les insecticides, ont montré une importante activité larvicide, notamment le Téméphos avec une DL90 = 0,0015 ppm. Les insecticides chimiques ont présenté une grande efficacité en termes de toxicité vis-à-vis de l'espèce *Culex pipiens* par rapport aux huiles essentielles. Ces résultats ouvrent des perspectives intéressantes pour l'application des huiles essentielles et extraits aqueux des poudres végétales dans la production des biopesticides.

## REFERENCES

- [1] Organisation Mondiale de la Santé. La Revue de Santé de la Méditerranée orientale, Vol. 14, NO 4, 2008.
- [2] El Harrack M E. Le Guenno B & Le. Gounon P, "Isolement du virus West Nile au Maroc", *Virologie*, vol. 1. pp. 248-249, 1997.
- [3] Schuffenecker I. Peyrefitte Cn. El Harrak M. Murri S. Leblond A & Zeller Hg, "West Nile virus in Morocco", *Emerg Infect Dis*, vol. 11. 306-309, 2003.
- [4] HIMMI O., DAKKI M., TRARI B. et EL AGBANI M.A, Les Culicidae du Maroc : Clés d'identification, avec données biologiques et écologiques. *Trav. Inst. Sci., série Zool.*, 44, Rabat : 50p, 1995.
- [5] Organisation Mondiale de la Santé. Méthode à suivre pour déterminer la sensibilité ou la résistance des larves de moustiques aux insecticides. *In Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. Treizième rapport du comité OMS d'experts des insecticides*, Genève : OMS, *Sér. Rapp. Techn.* 265, p. 55–60, 1963.
- [6] ABBOTT, W.S, "A method of computing the effectiveness of an insecticide", *J. Econ. Entomo.* vol. 18, pp. 265-267, 1925.
- [7] Organisation Mondiale de la Santé, Lutte contre les vecteurs du paludisme. WHO/CDS/WHOPES/2002. 5Rev.1, 2004.
- [8] Finney, D.J., *Probit Analysis: A statistical Treatment of the Sigmoid Response Curves*. 3rd Edn., Cambridge University Press, Cambridge, pp. 112-234, 1981.
- [9] Papachristos. D.P. Stamopoulos. D.C, "Repellent, toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera: Bruchidae)", *Journal of Stored Products Research*, vol. 38, pp. 117-128, 2002.
- [10] Eleni M, Antonies M, George K, Alexios-Leandos S, Prokopios M, "High quality bergamot oil from Greece: Chemical analysis using chiral gas chromatography and larvicidal activity against the West Nile virus vector", *Molecules*. Vol. 14(2), pp. 839-849, 2009.
- [11] Michaelakis A, Koliopoulos G, Milonas P, Kontodimas D, Polissiou M, Kimbaris A-C, Papachristos D, "Activity of nonoxygenated versus oxygenated monoterpenes against mosquitoes. An attempt to correlate toxicity with chemical structure", In: A 7th Joint meeting of AFERP, GA, PSE & SIF, Natural products with pharmaceutical, nutraceutical, cosmetic and agrochemical interest, Athens, 2008.
- [12] LUCIA Alejandro. GONZALEZ AUDINO Paola. LICASTRO Susana MASUH Hector, "Larvicidal effect of *Eucalyptus Grandis* essential oil and turpentine and their major components on *Aedes Aegypti* larvae", *Journal of the American Mosquito Control Association*, vol. 23, no3, pp. 299-303, 2007.
- [13] Michaelakis A, Papachristos D, Kimbaris A, Koliopoulos G, Giatropoulos A, Moschos G. Polissiou, "Citrus essential oils and four enantiomeric pinenes against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae)", *Parasitol Res*, vol. 105, pp. 769–773, 2009.
- [14] Roy A, Saraf S. Limonoids, "Overview of significant bioactive triterpenes distributed in plants kingdom", *Biol Pharm Bull*, vol. 29, pp. 191-201, 2006.