

L'importance des extraits d'*Urtica dioica* L. dans la lutte contre *Culex pipiens* (Linné, 1758)

S. Toubal^{1*}, Dj. Elhaddad¹, O. Bouchenak¹, K. Yahiaoui¹, N. Sadaoui², K. Arab¹

¹ Université M'Hamed Bougara Boumerdes, Département de Biologie, Boumerdès- Algérie
Laboratoire de Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques (VALCOR).

² Université Abderrahmane Mira, Bédjaia

*Corresponding author: toubalsouheyla@hotmail.fr ; Tel.: +213 790 273 127

ARTICLE INFO

Article History :

Received : 25/11/2018

Accepted : 15/01/2019

Mots clés:

Alcaloïdes;
Culex pipiens L.;
Extrait aqueux;
Lutte biologique;
Urtica dioica L.

Key words:

Alkaloids;
Culex pipiens L.;
Aqueous extract;
Biological control;
Urtica dioica L.

ABSTRACT/RESUME

Résumé: En terme d'importance épidémiologique mondiale pour l'homme, les moustiques sont considérés comme le premier groupe de vecteurs. Ils sont responsable de la nuisance (piques douloureuses et gênantes) et de la transmission des maladies parasitaires comme le paludisme, le chikungunya, la fièvre jaune. La lutte contre les culicidés, comprend plusieurs méthodes, mais la lutte biologique reste la plus sûre et la plus sélective, car elle dépend des ennemis naturels sans provoquer des dégâts sur l'environnement. Dans le cadre de ce travail une extraction, une analyse spectrale par infrarouge (IR) ainsi que l'évaluation de l'effet de l'extrait aqueux extraits et des alcaloïdes de la Grande ortie contre les moustiques *Culex pipiens* ont été effectués. L'analyse spectrale par infrarouge montre l'existence d'une diversité de groupement fonctionnel caractéristiques des alcaloïdes tel que le groupement alcyn, nitrile, ester et amide. Les résultats du test insecticide montrent également que l'extrait aqueux et celui des alcaloïdes d'*Urtica dioica* L., présentent des propriétés insecticides importantes dont les valeurs de la DL_{50} pour les larves L4 sont de 4,48 mg/ml pour l'extrait aqueux, et de 6,91 mg/ml pour les alcaloïdes.

Abstract: In terms of global epidemiological importance for humans, mosquitoes are considered the first group of vectors. They are responsible for nuisance (painful and uncomfortable stings) and transmission of parasitic diseases such as malaria, chikungunya, yellow fever. The fight against Culicidae includes several methods, but biological control remains the safest and most selective, because it depends on natural enemies without causing damage to the environment. As part of this work an extraction, spectral analysis by infrared (IR) as well as evaluation of the effect of extracted aqueous extracts and alkaloids of the Great Nettle against *Culex pipiens* mosquitoes were performed. The infrared spectral analysis shows the existence of a functional group diversity characteristic of alkaloids such as the alkyn, nitrile, ester and amide groups. The results of the insecticidal test also show that the aqueous extract and that of alkaloids of *Urtica dioica* L., have important insecticidal properties whose LD50 values for L4 larvae are 4.48 mg / ml for the extract aqueous, and 6.91 mg / ml for alkaloids.

I. Introduction

La faune Culicidienne, par sa large distribution et ses fortes abondances, est responsable de la nuisance (piques douloureuses et gênantes) et de la transmission des maladies telles que, la fièvre de la vallée du Rift, la fièvre du Nil occidental (West Nile Virus), et d'encéphalites [1]. En dépit de l'efficacité de la lutte anti-moustique par des insecticides de synthèse, elle présente plusieurs inconvénients. En effet, ils peuvent avoir un effet néfaste sur la vie aquatique en engendrant divers problèmes environnementaux [2], et peuvent aussi être à l'origine d'autres phénomènes notamment la résistance des insectes aux insecticides de synthèses [3 ; 4]. Selon le comité d'experts des insecticides [5], chez les *Culicidae* : 19 espèces sont devenues résistantes dont 16 au DDT, 12 à la dièldrine et 9 aux composés organophosphorés (y compris *Culex pipiens* et *Aedes aegypti*). Ainsi, pour contribuer à une gestion durable de l'environnement, la mise en place de nouvelles alternatives de lutte contre les moustiques est davantage encouragée. La lutte biologique prend diverses formes, mais celles qui attirent l'attention des chercheurs à l'heure actuelle est l'utilisation de substances naturelles d'origines végétales comme bio-insecticides. Les substances naturelles présentent un large spectre d'action en pharmacologie, ils peuvent agir comme anti-malaria, bactéricides, fongicides, acaricides, etc., ils peuvent être aussi utilisées comme insecticides de remplacement [6]. Appartenant à la famille des Urticaceae, *Urtica dioica* L., est une plante très riche en métabolites secondaires et qui est dotée de plusieurs vertus thérapeutiques [7 ; 8]. Elle est très riche en protéines et renferme aussi des flavonoïdes (dérivés du quercétol, du kaempférol et de l'isorhamnétol), des sels minéraux (calcium, potassium, silice), des vitamines (A et C), et des acides phénols (acide caféique, acide cafényl-malique, acide chlorogénique). Les racines renferment des polysaccharides, une lectine [9], des lignanes [10], des stérols comme le sitostérol [11] et des terpènes [9]. L'effet insecticide des métabolites secondaires extraits à partir des différentes plantes a fait l'objet d'études de divers travaux à travers le monde [12; 13; 14; 15].

Dans ce contexte, nous nous sommes intéressés à étudier l'effet insecticide des extraits aqueux et des alcaloïdes extraits de la Grande ortie (*U. dioica* L.) contre les larves de moustique de quatrième stade (L4) *Culex pipiens*.

II. Matériel et méthodes

II.1. Matériel biologique

Le matériel biologique est représenté par la plante *U. dioica* L. et par les larves du quatrième stade (L4) de *C. pipiens*. La plante est récoltée pendant le mois de février dans la ville de Dellys (Algérie). Les

larves L4 soumises aux tests de toxicité proviennent d'un gîte larvaire non traité au niveau d'Alger.

II.2. Préparation des extraits

II.2.1. Extrait aqueux

Selon Bnouham *et al.* [16], 10g de la poudre végétale est mélangée à 100ml d'eau distillée préalablement portée à ébullition. Le filtrat récupéré, après 20 à 30 minutes, représente une solution stock initiale à 10%. Dans le but de se débarrasser du solvant d'extraction, une évaporation sous vide au moyen d'un rotavapeur de type STUART à 40°C a été effectuée.

II.2.2. Extraction des alcaloïdes

Le protocole d'extraction consiste à introduire 30g de la poudre de la Grande ortie dans un bécher de 250 ml, et verser 125 ml de H₂SO₄ à 10 %. Agiter et laisser macérer 24 h à température ambiante puis filtrer. Après une alcalinisation à pH=9 par NaOH à 30 %, le contenu est transvasé dans une ampoule à décanter puis procéder à une extraction liquide-liquide par deux fois 40 ml de chloroforme. Les phases organiques réunies sont séchées sur sulfate de sodium anhydre puis filtrées. Le solvant est évaporé de la solution restante sous pression réduite. Le rendement de l'extraction est calculé selon la formule suivante:

$$R\% = \frac{M - M_0}{M_t} \times 100 \quad (1)$$

R%: Taux de la matière extraite; M: Masse du ballon avec l'extrait (g); M₀: Masse du ballon vide (g); M_t: Masse végétale totale utilisée à l'extraction.

II.3. Caractérisation des groupements fonctionnels par IR

Les spectres infrarouges ont été réalisés à l'aide d'un spectromètre Nicolet 560 pour une gamme de fréquences comprises entre 400 et 4000 cm⁻¹. Les échantillons sont déposés sur pastilles de KBr. Pour se faire, les pastilles sont préparées en mélangeant 3 à 10 mg d'alcaloïdes puis les mettre dans l'appareil à infrarouge. Les résultats sont exprimés sous forme d'un spectre.

II.4. Tests de toxicité

La méthodologie adoptée est inspirée de la technique des tests de sensibilité normalisés par l'OMS (1963) [17]. Afin de tester l'effet de l'extrait aqueux et des alcaloïdes de la Grande Ortie sur les larves L4, les doses ont été préparées en utilisant l'eau du gîte larvaire. Pour l'extrait aqueux les doses 10%, 5%, 4%, 3%, 2% et 1% correspondent à 27mg/ml ; 13,5 mg/ml ; 10,8 mg/ml ; 8,1 mg/ml ; 5,4 mg/ml et 2,7 mg/ml respectivement. Pour les alcaloïdes les doses 100% ; 70% ; 50%, 25% et 10% correspondent à 10 mg/ml ; 7 mg/ml ; 5 mg/ml ; 2,5

mg/ml et 1 mg/ml respectivement. Le test consiste à introduire 10 larves de moustiques du stade L4 dans 100ml d'eau du gîte larvaire de chaque dose. Afin de rendre les tests fiables, quatre répétitions sont réalisées pour chacune des doses testées. Le taux de mortalité est calculé en terme de moyenne après 2h, 4h, 24h, 48h, et 72h.

II.5. Traitement des données

L'analyse de la variance ANOVA à un facteur suivi par le test de Tukey à l'aide du logiciel Statistica version 6 ont été utilisés. Les valeurs de $P < 0,05$ sont considérées comme significatives. Le pourcentage de mortalité et la mortalité corrigée sont calculés suivant la formule d'Abbott [18].

$$\text{Taux de mortalité \%} = \left(\frac{\text{Nombre de mort}}{\text{nombre total d'individus}} \right) \times 100 \quad (2)$$

$$Mc = \left[\frac{(\text{mortalité dans le groupe traité} - \text{mortalité dans le groupe témoin})}{\text{mortalité dans le groupe témoin}} \right] \times 100 \quad (3)$$

Afin de déterminer les doses qui causent la moitié de mortalité (DL_{50}), des droites de régression Probits = $f(\log \text{ dose})$ ont été tracés. Les doses sont exprimées en mg/ml.

III. Résultats et discussion

III.1. Rendement

Le rendement d'extraction obtenu est de $1,62 \pm 1,25$ % pour l'extrait aqueux et de $4,8 \pm 0,18$ % pour les alcaloïdes. Bensella (2015) [19], a obtenu un rendement en polyphénol, à partir des racines de la Grande ortie récolté à Dellys, nettement supérieur soit une valeur de 8,34%.

III.2. Infrarouge

Le spectre infrarouge, représentant la transmittance (T %) en fonction du nombre d'onde (cm^{-1}), est représenté dans la figure suivante:

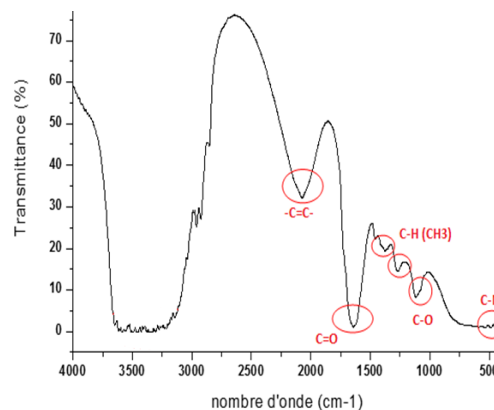


Figure 1. Spectre d'analyse des alcaloïdes par infrarouge

Les résultats montrent l'existence d'une diversité de groupements fonctionnels, en effet cinq bandes sont présentes dans les alcaloïdes de la Grande ortie correspondant aux groupes alcyn, nitrile, ester et amide qui appartiennent au groupe d'alcaloïdes tropaniques comme l'atropine, l'aconitine.

III.3. Le taux de mortalité

Le pourcentage de mortalité obtenu est proportionnel aux doses utilisées. L'augmentation du taux de mortalité augmente avec l'augmentation de la dose (Tab.1 et 2).

Il en ressort des résultats que l'extrait aqueux de la Grande ortie ainsi que les alcaloïdes présentent une bonne activité larvicide. Cette sensibilité est dépendante du facteur temps et des doses des extraits. L'extrait aqueux semble très toxique vis-à-vis des larves L4 de *C. pipiens*. En effet, cet extrait a donné 100% de mortalité après 24h d'exposition à la dose la plus élevée 10%. En revanche, la moitié de la population ($56,67 \pm 2,72$) s'est montré sensible après 24h d'exposition à la dose la plus élevée des alcaloïdes. Dans ce cas, la totalité de mortalité n'a été obtenue qu'après 72h de contact. Il est important de signaler qu'aucune mortalité n'a été enregistrée dans le lot témoin.

Tableau 1. Pourcentage de mortalité corrigé des larves L4 traités par l'extrait aqueux

T (h)	Témoin	10% (27 mg/ml)	5% (13,5 mg/ml)	4% (10,8 mg/ml)	3% (8,1 mg/ml)	2% (5,4 mg/ml)	1% (2,7 mg/ml)
2h	0%	13,33±2,72	10±4,72	6,67±2,72	3,33±2,72	0	0
4h	0%	23,33±2,72	16,67±5,45	10±4,72	6,67±5,45	0	0
24h	0%	100±0	70±9,44	43,33±10,90	33,33±7,21	16±6,745	13,33±7,21
48h	0%	100±0	100±0	73,33±11,88	66,67±5,45	43,33±5,45	40±12,49

Tableau 2. Taux de mortalité corrigé des larves L4 traitées par les alcaloïdes

	Témoin	100% (10 mg/ml)	70% (7 mg/ml)	50% (5 mg/ml)	25% (2,5 mg/ml)	10% (1 mg/ml)
30min	0%	0	0	0	0	0
1h	0%	6,67±2,72	3,33±2,72	0	0	0
24h	0%	56,67±2,72	16,67±5,44	10±4,71	3,33±2,72	0
48h	0%	76,67±2,72	30±4,71	23,33±2,72	13,33±2,72	0
72h	0%	100±0	70±4,71	40±4,71	26,67±9,81	16,67±2,72

III.4. Estimation des DL₅₀

Le traçage des droites de régression Probits= f (log doses), nous a permis d'obtenir les courbes illustrées dans la Figure 2 et 3 avec Y : valeur de probit correspondant à l'effet insecticide (probit de mortalités corrigées) ; X : dose des extraits testés ; a : la pente.

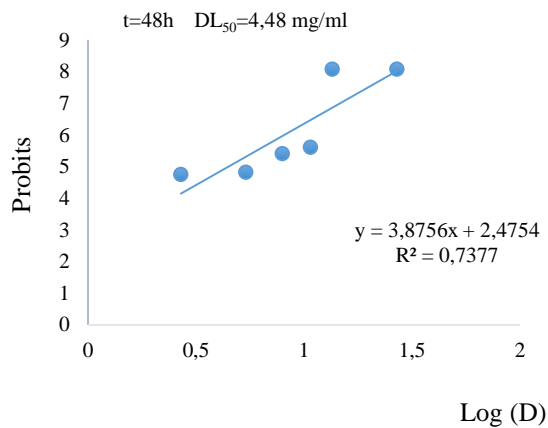


Figure 2. Droites de régression des larves L4 traitées par l'extrait aqueux après 48h de contact

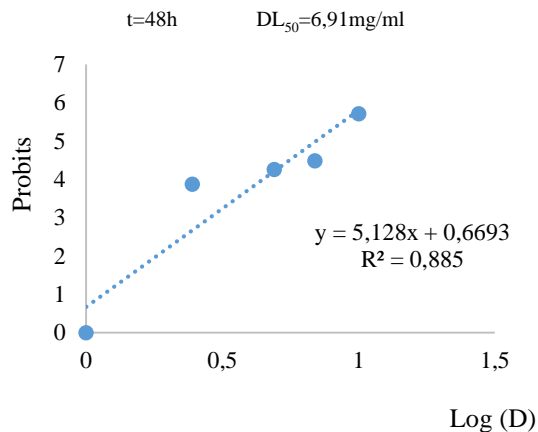


Figure 3. Droites de régression des larves L4 traitées par les alcaloïdes après 48h de contact

Les résultats du calcul des DL₅₀ sont illustrés dans le tableau 3 comme suit:

Tableau 3. DL₅₀ de l'extrait aqueux et des alcaloïdes

Extraits	Equations	Coefficients de régressions (R ²)	DL ₅₀ (mg/ml)
Aqueux	Y=3,8756x + 2,4754	R ² = 0,7377	4,48
Alcaloïdes	Y= 5,128x+ 0,6693	R ² = 0,885	6,91

Il est noté que les concentrations qui causent 50% de mortalité sont de l'ordre de 4,48 mg/ml de l'extrait aqueux, et 6,91 mg/ml pour les alcaloïdes.

Nos résultats concordent avec ceux obtenus par Bellagh *et al.* [20], en travaillant sur le purin d'Ortie comme agent de lutte biologique contre la mineuse de la tomate *Tuta absoluta*. L'effet insecticide est noté aussi par Benoufella-Kitous [21] sur l'effet de l'extrait aqueux des feuilles de l'Ortie sur le puceron noir *Aphisfabae* après trois jours de traitement.

IV. Conclusion

L'ensemble des tests effectués contre *C. pipiens* indiquent que l'extrait aqueux de la Grande ortie possède des propriétés insecticides meilleures par rapport à celui des alcaloïdes. Les résultats obtenus laissent suggérer l'utilisation des métabolites secondaires d'*U. dioica* L. comme bioinsecticide.

V. Références

1. Amraoui, F. Le moustique *Culex pipiens*, vecteur potentiel des virus West Nile et fièvre de la vallée du Rift dans la région du Maghreb. Université Mohammad V-AGDAL, Faculté des sciences de Rabat, 2012.
2. Aouinty, B.; Oufara, S.; Mellouki, F.; Mahari, S. Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl)

- Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicides : *Culex pipiens* (Linne), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnologie, agronomie, société et environnement* 10 (2006) 67-71.
3. Kioulos, I.; Kampouraki, A.; Morou, E.; Skavdis, G.; Vontas, J. Insecticide resistance status in the major West Nile virus vector *Culex pipiens* from Greece. *Pest management science* 70 (2013) 623-627.
 4. El Ouali Lalami, A.; El Akhal, F.; El Amri, N.; Maniar, S.; Faraj, C. Etat de la résistance du moustique *Culex pipiens* vis-à-vis du téméphos au centre du Maroc. *Bulletin de la Société de pathologie exotique* 107 (2014) 194-198.
 5. Organisation Mondiale de la Santé. Résistance aux insecticides et lutte anti vectorielle. *Série de Rapport Technique* (1970) 443.
 6. Diakite, B. La susceptibilité des larves d'Anophèles Gambiæ S.L.A à des extraits de plantes médicinales du Mali. Thèses de Doctorat en médecine, Université de Bamako, Mali, 2008.
 7. Draghi, F. L'Ortie dioïque (*Urtica dioica* L.): étude bibliographique. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université Henri Poincaré Nancy, France, 2005.
 8. Delahaye, J. Utilisations de l'ortie- *Urtica dioica* L. Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Rouen UFR de médecine et de pharmacie, France, 2015.
 9. Kraus, R.; Spiteller, G. Phenolic compounds from roots of *Urtica dioica*. *Phytochemistry* 29 (1990) 1653-1659.
 10. Bombardelli, E.; Morazzoni, P. *Urtica dioica* L. *Fitoterapia* 68 (1997) 387-402.
 11. Chaurasia, N.; Wichtl, M. Flavonolglykoside aus *Urtica dioica* 1.2. *Planta Medica* 53 (1987) 432-434.
 12. Divya, T. M.; Soorya, V. C.; Amithamol, K. K.; Juliet, S.; Ravindran, R.; Nair, S. N.; Ajithkumar, K. G. Acaricidal activity of alkaloid fractions of *Leucas indica* Spreng against *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* tick. *Tropical biomedicine* 31 (2014) 46-53.
 13. Kemassi, A.; Boukhari, K.; Cherif, R.; Ghada, K.; Bendaken, N.; Bouziane, N.; Boual, Z.; Bouras, N.; Ould Elhadj-Khelil, A.; Ould Elhadh, E.M. Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.) (Euphorbiaceae). *Revue El Wahat pour les Recherches et les Etudes* 8 (2015) 44-61.
 14. Estrela, D.D.S.; de Oliveira, R.P.; de Matos, J.G.; Cardoso, D.P.; de Sousa, P.F.P.; de Souza, J.S.N.; Farias, M.P.O. *In vitro* evaluation of the acaricidal effect of ethanolic extract of *Hyptis suaveolens* (L.) Poit (Lamiaceae) leaves on engorged females of *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille, 1806) (Acari: Ixodidae). *Pubvet* 11 (2017) 854-859.
 15. Fouché, G.; Eloff, J.N.; Wellington, K. Evaluation of South African Plants with acaricide activity against ticks. *World Academy of Science, Engineering and Technology, International Journal of Medical, Health, Biomedical, Bioengineering and Pharmaceutical Engineering* 11 (2017) 381-385.
 16. Bnouham, M.; Merhfour, F.Z.; Ziyat, A.; Mekhfi, H.; Aziz, A.; Legssyer, A. Antihyperglycemic activity of the aqueous extract of *Urtica dioica*. *Phytoterapia* 74 (2003) 677-681.
 17. 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. *Série de Rapport Technique* 265 (1963) 55-60.
 18. Abbott, W.A. Method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18 (1925) 265-267.
 19. Bensella, F. Quantification des polyphénols des racines d'*Urtica dioica* L. récoltée à Dellys et évaluation de l'activité antioxydante et anti-inflammatoire. Mémoire de Master en Biologie des populations et des organismes, Université M'hamed Bougara de Boumerdès, Algérie, 2015.
 20. Bellagh, N.; Beghdali, M.; Baghdali, S. Evaluation de l'activité antimicrobienne des polyphénols des grains d'*Urtica dioica* L. et essais préliminaires de l'activité larvicide du purin d'ortie sur la mineuse de la tomate « *Tuta absoluta* ». Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie, Université de Boumerdès, Algérie, 2015.
 21. Benoufella-Kitous, K. Bioécologie des pucerons de différentes cultures et de leurs ennemis naturels à Oued Aïssi et Draâ Ben Khedda (Tizi-Ouzou). Thèse en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Agronomie, Université de Tizi-Ouzou, Algérie, 2015.

Please cite this Article as:

Toubal S., Elhaddad Dj., Bouchenak O., Yahiaoui K., Sadaoui N., Arab K., *L'importance des extraits d'Urtica dioica L. dans la lutte contre Culex pipiens (Linné, 1758)*, **Algerian J. Env. Sc. Technology**, 5:1 (2019) 868-872