

EFFETS LARVICIDES DES PRODUITS DE NEEM  
(HUILE DE NEEM PURE ET NEEMIX) COMPARES  
A DEUX INSECTICIDES CHIMIQUES DE  
SYNTHESE (LA DELTAMETHRINE ET LE  
FENITROTHION) SUR LES LARVES DU  
MOUSTIQUE CULEX QUINQUEFASCIATUS  
(DIPTERA : CULICIDAE)

LARVICIDAL EFFECTS OF NEEM PRODUCTS  
(NEEM OIL AND NEEMIX), COMPARED TO  
CHEMICAL SYNTHETICS INSECTICIDES  
(DELTAMETHRIN AND FENITROTHION) ON THE  
MOSQUITO LARVAE CULEX QUINQUEFASCIATUS  
DIPTERA : CULICIDAE)

Seye F<sup>1\*</sup>., Ndione R.D<sup>1</sup>., Ndiaye M<sup>1</sup>.

*Résumé :*

Suite aux problèmes posés par certains insecticides de synthèse, la Science est à la recherche d'autres produits naturels à caractère insecticide. Pour cela, des produits à base d'azadirachtine sont formulés par diverses industries chimiques. L'huile de neem pure et le Neemix formulés par une industrie sénégalaise (SENCHEM) ont montré une forte toxicité sur les larves de *Culex quinquefasciatus*. Les travaux effectués dans les conditions du laboratoire ont montré que la DL100 (Dose létale 100) de l'huile de neem pure en 24 h était de 9% alors qu'elle était de 0,028% pour le Neemix. Notre étude a révélé de façon inattendue que, le solvant utilisé (Solvesso 100) pour la formulation du Neemix était très toxique pour les larves.

Par ailleurs, la comparaison de ces produits (huile de neem pure Neemix) avec deux insecticides de synthèse (Fénitrothion et Deltaméthrine) a donné qu'aux doubles : impact sur l'environnement et coût des traitements, l'utilisation des produits naturels à base de neem apparaît plus rentable contre les larves du moustique *Culex quinquefasciatus*.

*Mots clés :*

*Azadirachta indica, Culex quinquefasciatus, Fénitrothion, Deltaméthrine, effets larvicides.*

*Abstract*

With the drawbacks of most synthetic chemical insecticides, Scientists are in searching other insecticidal formulations as neem (*Azadirachta indica*) products. For that, various chemical industries have been formulated Azadirachtin-based products. Laboratory bioassays showed that Neem oil and Neemix formulated by a senegalese industry (SENCHEM) were very toxic against *Culex quinquefasciatus* larvae. Under laboratory conditions, the LD100 (lethal Dose 100) of neem oil was 9% in 24h, and 0,028% for Neemix. However, our study revealed in an unexpected way that solvent used (Solvesso 100) for Neemix formulation was very toxic for mosquito larvae. In addition, the comparison between neem products (neem oil and Neemix) and two synthetic insecticides (Fenitrothion and Deltamethrin) revealed by considering the environment impact and treatments cost, it is desirable to investigate the neem products usefulness against mosquito larvae *Culex quinquefasciatus*.

*Keywords :*

*Azadirachta indica, Culex quinquefasciatus, Fenitrothion, Deltamethrin, Larvicidal effects.*

<sup>1</sup> Laboratoire de Biologie de la Reproduction (LBR),  
Unité d'Entomologie, Rickettsiologie, Bactériologie et  
Virologie (UERBV), Département de Biologie  
Animale, Faculté des Sciences et Techniques,  
Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005 –  
Dakar-Fann.

## INTRODUCTION

En dehors de leur nuisance, les moustiques causent aussi des maladies vectorielles. Les principaux genres de moustique sont : *Anopheles*, *Aedes*, *Culex* et *Mansonia*. Dans les pays en développement, les maladies vectorielles les plus fréquentes sont le paludisme (malaria) et la fièvre jaune. Le moustique *Culex quinquefasciatus* est le principal vecteur de la Filariose de Bancroft et de maladies virales comme les encéphalites.

Dans le cadre de la lutte contre ces maladies vectorielles, des quantités très importantes de larvicides sous forme de produits chimiques de synthèse sont déversées dans le milieu aquatique. Cependant, en dehors de leur toxicité, certains produits chimiques utilisés dans cette lutte sont devenus moins efficaces du fait de la résistance développée par certains moustiques (OMS [1]; Chandre et al. [2]; Rodriguez et al. [3], Konan et al. [4]). A cela, s'ajoute la résistance du parasite *Plasmodium falciparum* (responsable du paludisme) à la chloroquine (Nuwala [5]).

Les Scientifiques tentent alors de trouver d'autres produits accessibles, moins toxiques (produits naturels surtout) pour mener cette lutte. D'importants résultats ont été trouvés dans le cadre de l'utilisation des produits naturels contre les insectes. Le neem est généralement utilisé dans la lutte contre les insectes. L'effet antifertilisant de l'huile de neem a été démontré sur le rat male (Upadhyay [6]). Les travaux de Koua [7] ont montré l'effet larvicide d'une plante (*Persea americana*) sur des larves du moustique *Anopheles gambiae*. Pushpalata et Muthukrishnan [8] ont montré l'effet insecticide d'autres plantes tropicales sur des larves de moustique. En plus de l'activité larvicide, le neem a une action d'oviposition négative sur les moustiques (Tianyun et Mir [9]). Sa principale matière active est l'Azadirachtine mais d'autres substances (triterpénoïdes) ont montré leur

activité insecticide (Bina [10]). Le neem agit par ses effets antiappétants, répulsifs (Ravindra et al. [11]) et d'inhibition de la croissance des insectes. L'effet larvicide des différentes pièces du neem (feuilles, graines et tige) sur des larves d'anophèles a été démontré par Aliero [12]. Des extraits aqueux de neem ont montré des effets néfastes sur la fertilité, la fécondité et le développement post-embryonnaire de certains diptères (Shivendra [13]). Par ailleurs, la comparaison des produits naturels avec les produits chimiques de synthèse permettrait de mieux valoriser ces insecticides naturels, même si l'utilisation de produits naturels n'est sans risques. Une étude comparative d'insecticides naturels et chimiques de synthèse dirigée par Mittal et al. [14] a montré que l'utilisation de la Deltaméthrine a été plus toxique sur les poissons que l'utilisation des biocides (Spherix et bactoculicide). Le Fénirothion a une capacité de perturber la différenciation sexuelle androgène-dépendante chez le rat (Turner et al. [15]) et a un effet toxique chez des bivalves marins (Pena-Lopes et al. [16]). A une certaine dose, Il a une toxicité aiguë sur *Corydoras paleatus* (Sarikaya et al. [17]).

Dans nos travaux, nous avons fait des investigations sur l'effet larvicide de deux produits de neem (Neemix et huile de neem pure), ensuite nous les avons comparés à deux insecticides chimiques de synthèse (Deltaméthrine et Fénirothion).

## MATERIEL ET METHODES

### Les produits utilisés

Les produits (huile de neem pure 0,3g/l, Neemix ® 1%, Deltaméthrine 25% et Fénirothion 4%) sont fournis par une industrie chimique Sénégalaise : la SENCHIM. La Deltaméthrine est une formulation CE 25% (Concentrée Emulsionnable 25%). A partir du Fénirothion 4% (en poudre), nous avons fait une bouillie 0,08% (p/v) en mélangeant 2g de produit dans 10ml d'eau.

## Matériel biologique

Des oeufs de *Culex quinquefasciatus* sous forme de barquettes sont récoltés au niveau des bacs du département de Biologie Animale. Ces œufs sont mis à l'éclosion dans des bocaux remplis d'eau du robinet. Après l'éclosion, les larves de premier stade sont nourries avec de la poudre de pain en prenant le soin de changer l'eau de culture deux fois par semaine pour empêcher un développement éventuel des champignons qui pourraient les tuer. Après chaque mue, nous avons isolé les larves de même génération dans un autre milieu de culture. Nous avons obtenu ainsi successivement les larves de stades I, II, III, et IV séparées par des mues.

## Traitement avec les huiles

Nous avons utilisé 11 bocaux de 10 cm de côté et 7 cm de hauteur.

Avec les produits de neem, nous avons traité dans les 10 premiers bocaux les larves avec les produits en prenant des doses correspondant à des concentrations en matière active pour chaque produit. Nous avons utilisé des pas allant de 0,1ml à 0,19ml pour le Neemix et de 5 à 50 ml pour l'huile pure. Ces valeurs sont choisies dans le but de chercher les doses létales 100 (DL100). Après chaque traitement, les constats de mortalité sont faits toutes les 24 h et le nombre cumulé de larves mortes est consigné dans un tableau. Nous avons

effectué deux séries de tests, les valeurs représentent la moyenne des deux séries.

Pour calculer le pourcentage de mortalité (mortalité corrigée) des larves, nous avons appliqué la formule d'Abbott (Abbott, [18]).

$$\% m = \frac{NLm - NLT}{NLtotal - NLmT} \times 100$$

% m = pourcentage de mortalité  
NLm = nombre de larves mortes  
NLtotal = nombre de larves total  
NLmT = nombre de larves mortes dans le témoin

## Traitement de comparaison

Pour la comparaison des différents produits, nous avons fixé la quantité de matière active (ma) à une dose légèrement supérieure à la CL50 de la Deltaméthrine (6mg/l). Avec cette dose, nous avons eut une mortalité de 59,4% en 24 h au laboratoire. Nous avons fait 4 séries de tests. Pour chaque série, nous avons utilisé 6 bocaux avec 25 larves et 500ml d'eau. Les quatre bocaux ont servis à tester les produits, les deux autres étant les témoins (solvant et eau). Nous avons fait un constat de mortalité 24 h après pour chaque bocal. Les résultats obtenus sont traités avec le test d'ANOVA et présentés sous forme de figure.

RESULTATS :

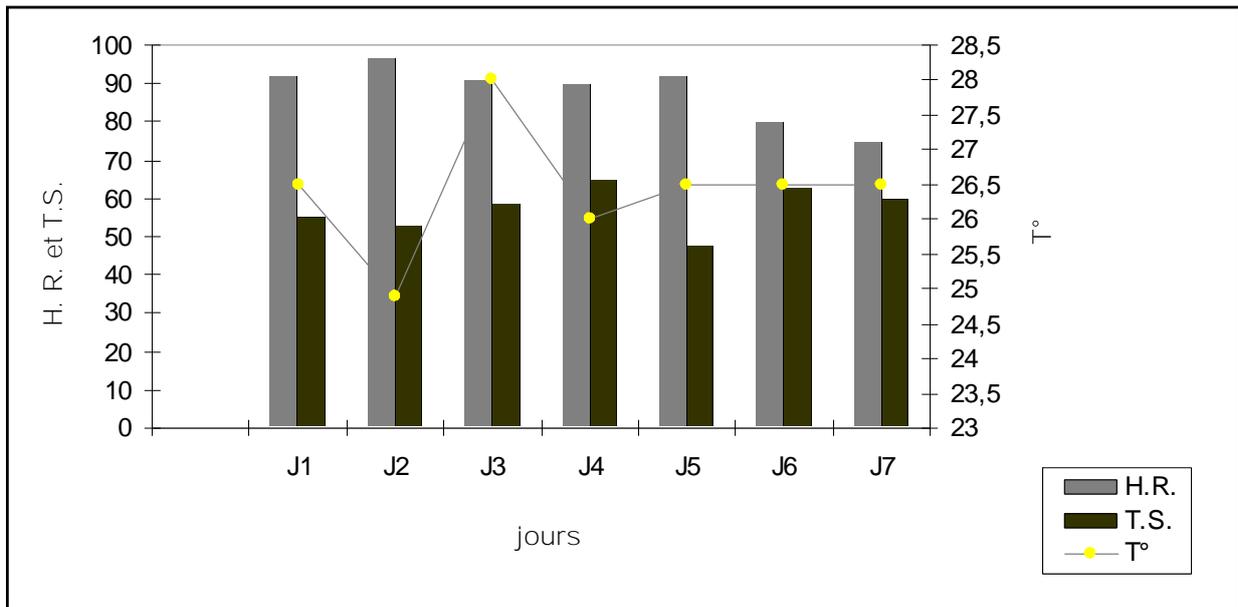


Figure 1 : Conditions de la première série de traitement

Moyenne Température = 26 °C, Ecart moyen = 0,5  
 Moyenne Humidité relative = 88%, Ecart moyen = 6  
 Moyenne Taux de saturation = 57 %, Ecart moyen = 4

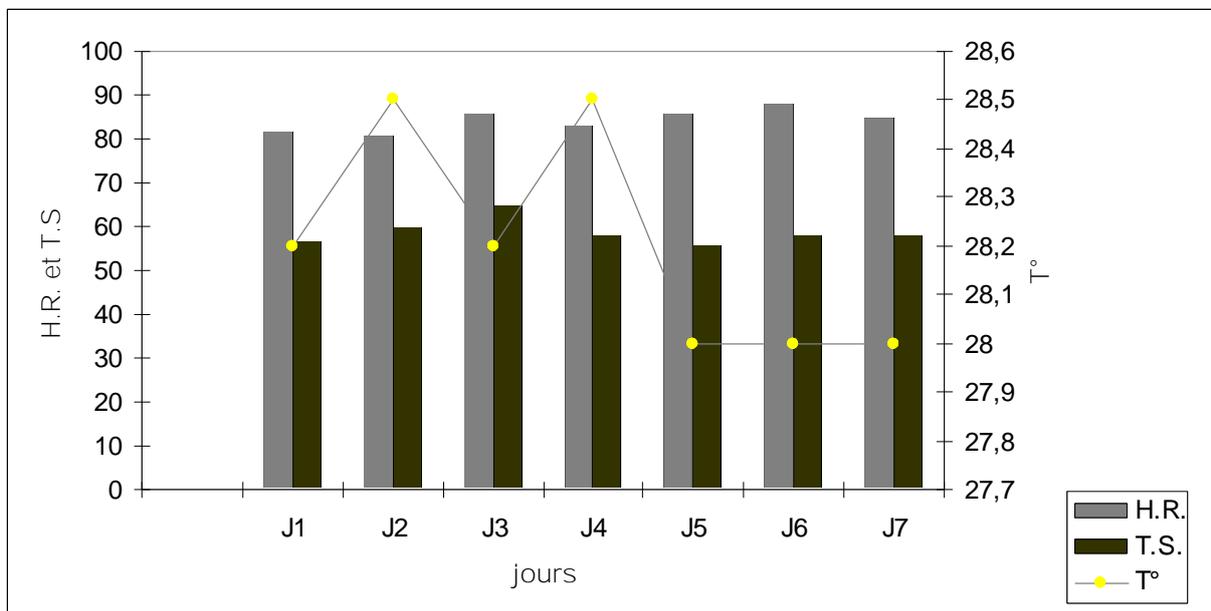


Figure 2 : Conditions de la deuxième série de traitement

Moyenne température = 28°C, Ecart moyen = 0,1  
 Moyenne Humidité relative = 84%, Ecart moyen = 2  
 Moyenne Taux de saturation = 58 %, Ecart moyen = 2  
 H.R.= Humidité Relative, T.S. = Taux de Saturation, T° = Température

Tableau I : mortalité des larves de *Culex quinquefasciatus* traitées avec l'huile de neem pure 0,3g/l

Jours	Pourcentages en Huile de neem pure (%)										Bocal témoin
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
J1	72.35	58.15	73.8	86.5	80.75	88.75	95.40	98.45	100	100	1
J2	90.95	83	90	91	98.5	100	100	100	-	-	1
J3	95.80	86.95	95.3	95.8	100	-	-	-	-	-	3
J4	97.27	93.95	97.25	96.15	-	-	-	-	-	-	5.5
J5	98.85	94.25	97.25	97.7	-	-	-	-	-	-	7.5
J6	98.85	94.8	97.25	98.25	-	-	-	-	-	-	7.5
J7	98.85	95.85	98.2	98.25	-	-	-	-	-	-	8.5

Tableau II: mortalité des larves de *Culex quinquefasciatus* traitées avec le Neemix 1%

Jours	Pourcentages en Neemix (%)										Bocal témoin
	0,020	0,022	0,024	0,026	0,028	0,03	0,032	0,034	0,036	0,038	
J1	66,7	69,3	85,5	91,4	100	100	100	100	100	100	40
J2	78	80,7	92,3	96,7	-	-	-	-	-	-	43
J3	81,3	83,3	92,3	96,7	-	-	-	-	-	-	45,5
J4	87,1	89,2	92,3	96,9	-	-	-	-	-	-	48
J5	88,9	92,6	93,3	97	-	-	-	-	-	-	49
J6	92,5	94,7	96	98,4	-	-	-	-	-	-	49,5
J7	94,5	97,6	96	-	-	-	-	-	-	-	51

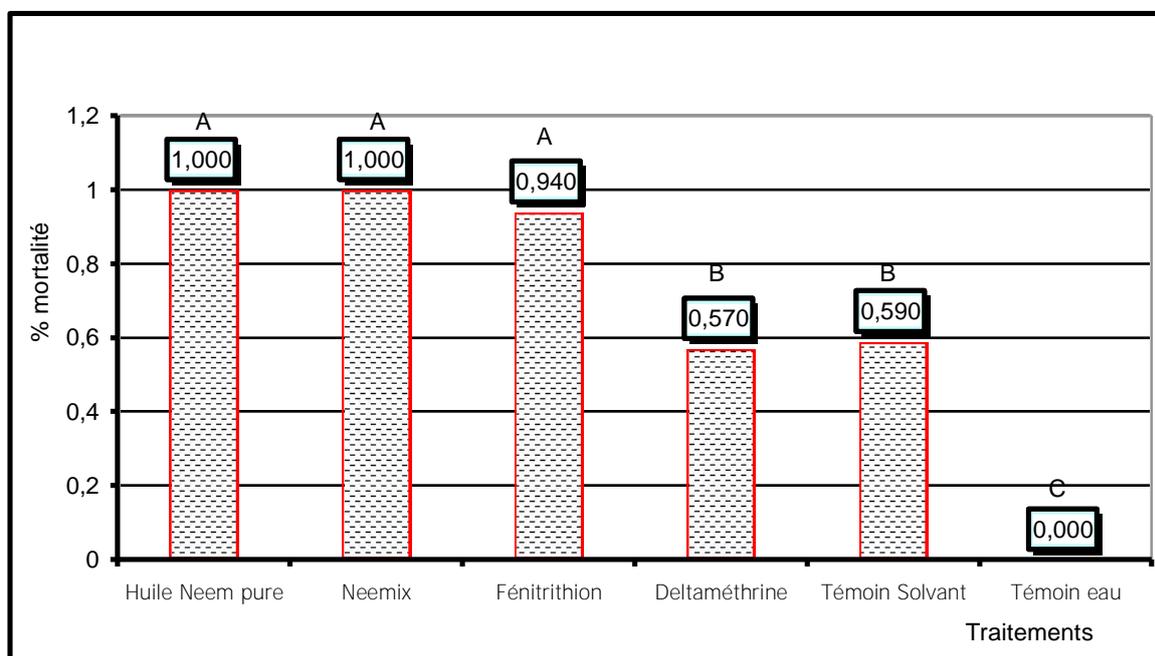


Figure 3 : Classement par groupe des produits naturels et chimiques de synthèse selon leur efficacité sur les larves.

(Conditions de traitement : Température = 28°C, Humidité Relative = 88%, Taux de Saturation = 56%)

Groupe A : Huile de neem pure, Neemix, Fénirothion

Groupe B : Deltaméthrine, Témoin solvant,

Groupe C : Témoin eau

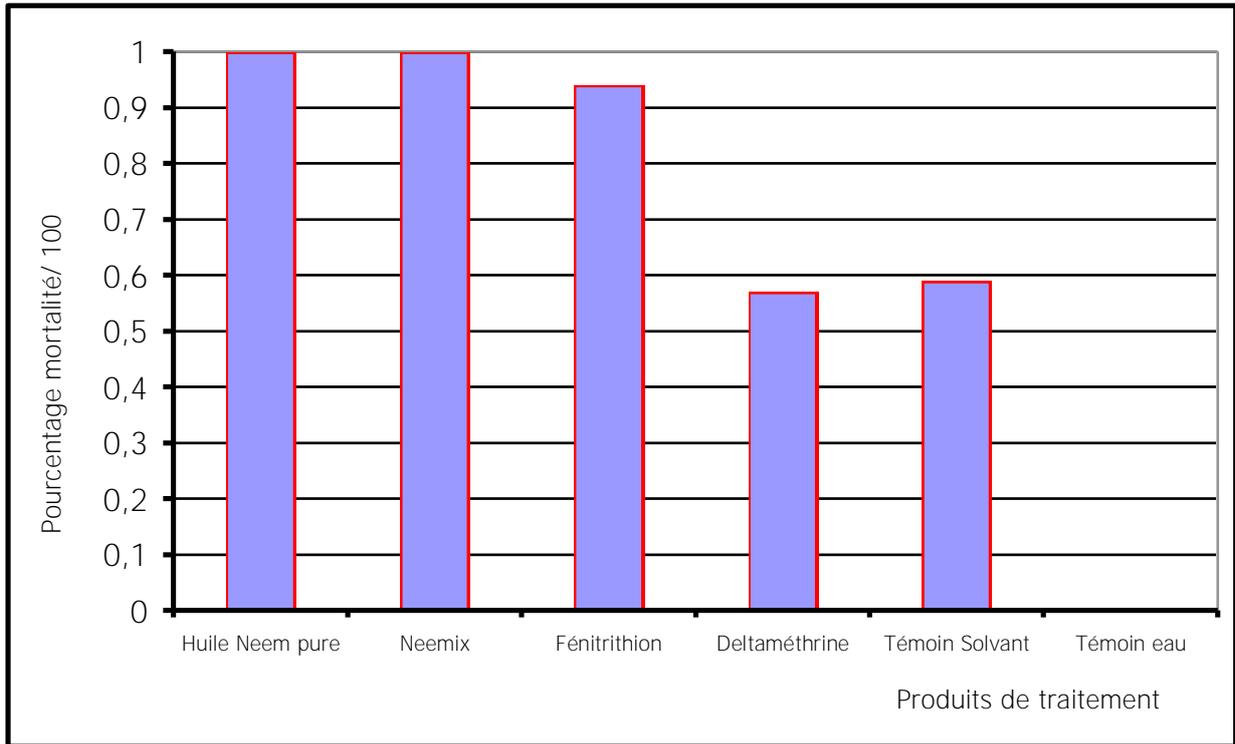


Figure 4 : Courbe des pourcentages de mortalité suivant les produits

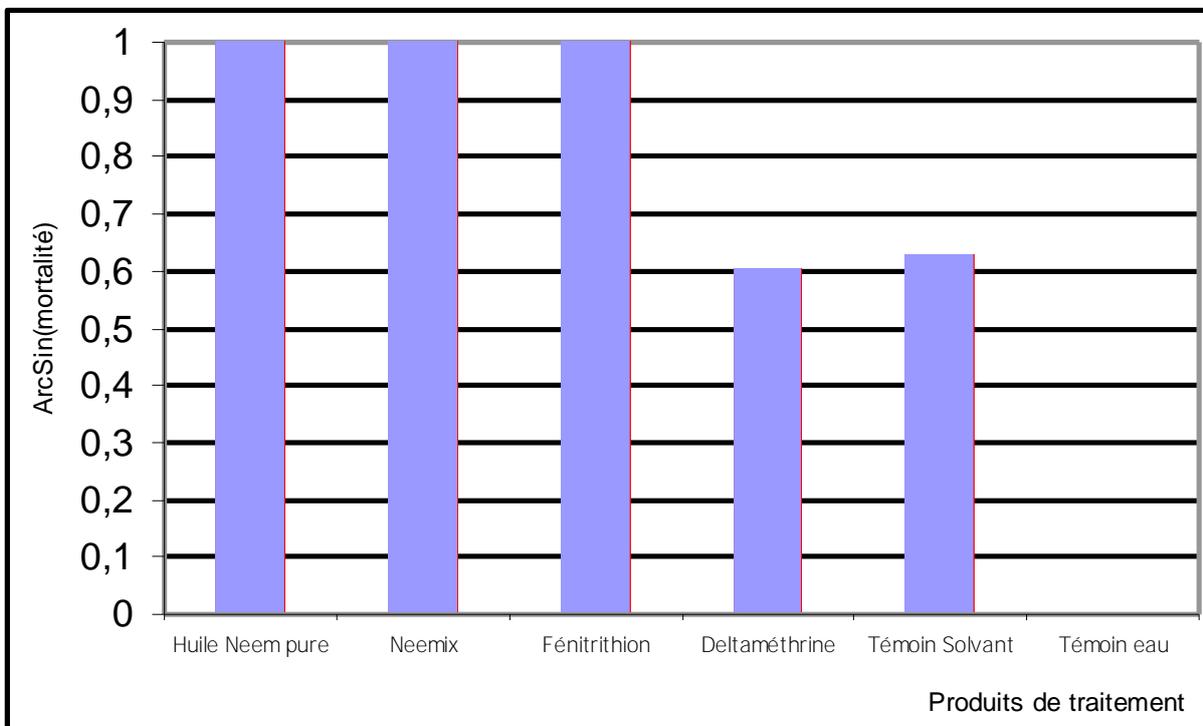


Figure 5 : Arc sinus des mortalités suivant les produits

Les résultats donnés par le traitement des larves avec les produits de neem dans les conditions du laboratoire (figures 1 et 2) montrent que la Dose létale100 (DL100) de l'huile de neem pure en 24 h est de 9% soit 2,47 mg/l (tableau I). Avec le Neemix, cette DL100 se situe à 0.028% soit une concentration de 2,8 mg/l (tableau II). Le taux de mortalité des larves 7 jours après traitement pour les deux produits montre des valeurs entre 94 et 98% (tableaux I et II). Cependant, la mortalité des larves au niveau des deux témoins (solvant et eau) indique des valeurs allant de 1 à 8,5 % pour le témoin eau et de 40 à 51% pour le témoin solvant.

Après application de l'huile de neem pure, les larves se regroupaient dans une zone où la couche huileuse était moins importante. La mort des larves s'est manifestée d'abord par une diminution progressive des mouvements et enfin une immobilisation complète au fond des bocaux. Au moment où les larves de stade avancé dans le bocal témoin (eau) passaient rapidement en nymphes puis en adultes, certaines traitées avec les huiles n'ont subies aucune mue et celles qui sont passées en nymphes n'ont pas pu s'échapper.

Avec le traitement de comparaison, le test d'ANOVA nous a permis de faire un classement des groupes non significativement différents avec un intervalle de confiance à 95% (fig. 3). Les résultats montrent que le solvant (Solvesso 100) est aussi toxique que la Deltaméthrine avec respectivement des pourcentages de mortalité 57% et 59%. Cependant, les mortalités pour l'Huile de neem pure, le Neemix et le Fénitrothion sont respectivement 100%, 100% et 94%. Les figures 4 et 5 montrent l'ordre de l'efficacité des produits de comparaison.

#### DISCUSSION :

L'application de l'huile de neem émulsionnable à 5% sur des larves de stades III et IV de *Culex quinquefasciatus* a entraîné des mortalités de 51,6 et 91,2% entre 1 et 14 jours (Batra et al. [19]). Les travaux de Aliero [12] ont montré que l'huile de neem à 20% a entraîné une mortalité à 100% des larves d'anophèle. Avec des larves de *Culex quinquefasciatus*, nous avons obtenu une mortalité de 100% en 24 h mais avec une dose de 9% soit 2,47 mg/l. Cependant, même à 1% soit 0,29 mg/l, nous avons obtenu 98,85% de mortalité des larves 5 jours après. Les travaux de Aliero [12] ont montré que l'huile des graines de neem était la plus mortelle parmi les diverses pièces de l'arbre neem. Nos résultats sur l'huile de neem pure ont montré que l'huile tue non seulement par ses composés chimiques (matières actives), mais aussi par une insuffisance d'oxygène. En effet, l'huile pure forme une couche à la surface de l'eau et empêche aux larves de respirer. Les travaux de Scott [20], ont montré l'effet insecticide d'une formulation du neem (Margosan-O®) sur des larves de *Culex sp.* en mixant 9,4 ml et 28,2 ml de ce produit avec 1 litre d'eau soit 10 et 30 mg/l. L'application de ce produit a entraîné en 13 h une mortalité de 100% des larves de *Culex sp.* avec la dose de 30 mg/l. Nos résultats avec le Neemix (R) ont donné le même taux de mortalité des larves de *Culex quinquefasciatus* mais en 24 h avec une dose de 0,028% soit 2,8 mg/l en Azadirachtine. La forte toxicité du Neemix (R) utilisé laisse croire que cette formulation est très efficace contre les larves de *C. quinquefasciatus*. Mais en fait, c'est le solvant utilisé (solvesso 100) qui est à l'origine de cette forte toxicité. L'action du solvant est révélée par la forte mortalité des larves dans le bocal témoin (40 à 51%) alors que le volume de solvant est faible (0,19ml du produit dans 500 ml d'eau). Ces résultats laissent supposer que certains insecticides chimiques formulés avec le Solvesso 100 sont efficaces du fait de l'effet toxique de ce solvant. Ce qui ne serait pas le cas avec l'éthanol déjà utilisé pour l'extraction de produit du neem (Carolina et al. [21]). Cependant, avec une dose faible en Neemix® (0,02%) soit 0,2 mg/l d'azadirachtine, nous avons obtenu 7 jours après une mortalité larvaire de 94.5 %. A ce niveau, l'effet de la matière active a joué son rôle toxique en provoquant une mortalité au cours du temps (7 jours). Cela s'explique par le fait que la teneur de ce produit en matière

active (m.a.) est plus élevée (10 g/l) que l'huile de neem pure (0,03g/l). Néanmoins, la formulation d'autres produits à partir de cette huile pure peut améliorer son efficacité. Les fortes mortalités dues aux produits de neem sur les larves de *Culex quinquefasciatus* par rapport à la Deltaméthrine s'expliquent par le fait que l'huile de neem pure tue déjà à 100% pour une dose de 9% en 24 h soit 2,22 mg/l. Le Neemix tue aussi à 100% pour une dose très faible 0,028% soit 0,28 mg/l. Etant donné que l'huile de neem pure tue par asphyxie, la quantité de ce produit joue plus que sa teneur en matière active. Cependant, il faut noter que l'utilisation du Fénitrothion à 1mg/l a un effet très toxique sur d'autres organismes non ciblés (Ferrando et al. [22]). Les travaux de Wang [23] ont montré que la CL50 (Concentration Létale 50) de la Deltaméthrine sur les larves du moustique *Anopheles sinensis* était de 0,0209 ppm. Alors qu'avec les larves de *Culex quinquefasciatus*, nous avons obtenu 57% de mortalité pour une concentration de 6 mg/l soit 300 fois la CL50 obtenue par Wang [23]. Ce qui fait penser à une possibilité de résistance ou à une différence de sensibilité entre ces deux espèces vis à vis de la Deltaméthrine. Les travaux de Kreuzweiser et al. [24] ont montré qu'une formulation à base d'azadirachtine (Neemix® 4.5) n'a un effet toxique sur le zooplancton qu'avec des doses supérieures à 10 g/l. Ce qui est largement supérieure aux doses de produits de neem que nous avons choisis. Sur le plan environnemental, les produits chimiques de synthèse sont plus rémanents que les produits à base de neem. Les travaux de Szeto et Wan [25] ont montré que la demi-durée de vie de l'Azadirachtine est comprise entre 44 et 282 h pour des températures comprises entre 25 et 35°C. Ce qui montre l'effet des produits de neem au cours du temps (7 jours) dans les conditions du laboratoire (entre 24 et 28°C).

Par ailleurs, le prix commercial de la Deltaméthrine Decis EC 25 SC est aux environs de 7€ le litre, la Deltaméthrine K'othrine 24 € le litre, alors que certains insecticides à base de neem ont un prix compris entre 11,9 et 56,5€ le litre, selon la formulation (d'après [www.cityplantes.com](http://www.cityplantes.com)). Du fait de la baisse d'efficacité de certains insecticides chimiques, ces derniers sont utilisés en grande quantité pour avoir des résultats satisfaisants dans la lutte chimique. Cependant, le prix à payer pour l'utilisation de certains produits chimiques de synthèse toxiques est plus important que le prix d'achat des produits de neem. Sur le plan socio-économique et environnemental, il serait plus rentable d'utiliser ces produits naturels dans la lutte chimique, d'où un apport important dans le domaine de la lutte intégrée.

Remerciements :

Les auteurs remercient les autorités de la SENCHIM en particulier Docteur Abdoulaye DIEYE. Ils remercient également Docteur Saliou NDIAYE (ENSA de Thiès) pour son assistance dans le traitement statistique.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1]- O.M.S. Résistance aux insecticides et lutte contre les vecteurs. 3<sup>ème</sup> rapport du comité d'experts des insecticides OMS Ser. Rapport Tech. 265, 1963, 242p.

[2]- Chandre F., Darriet F, Manga L., Akogbatom M., Faye O., Mouchet J., et Guillet P. Situation de la résistance aux pyrethrinoïdes chez *Anopheles gambiae* sensu lato, Bull. of the W. Health Org. 1999, 77 (3) : 230-234.

[3]- Rodriguez M.M.; Bisset J.; De Ruiz M.; Soca A. Cross-Resistance to Pyrethroid and Organophosphorus Insecticides Induced by Selection with Temephos in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) from Cuba : J. of med. Entom. 2002, 39 (6) : 882-888.

[4]- KonanO Y.L., Koffi A.A., Doannio J.M.C., et Darriet F., Résistance de *Culex quinquefasciatus* (SAY, 1823) à la Deltaméthrine et l'utilisation de la moustiquaire imprégnée en milieu urbain de Bouaké, Côte d'ivoire. Ent. Méd. courte note n°2380, 2003: 128-129.

[5]- Nuwaha F., The challenge of chloroquine-resistant malaria in sub-Saharan Africa; Health policy and planning, 2001, 16 (1), p.1-12.

[6]- Upadhyay. S.N., Dhawan S. et Talwar G. P. Antifertility effects of neem (*Azadirachta indica*) oil in male rats by single intra-vas approach to vasectomy, Journal of Andrology, 1993, 14 (4),: 275-281).

[7]- Koua K.H. Mise en évidence de l'activité larvicide de *Persea americana* sur *Anopheles gambiae* s.l. un moustique d'importance médicale. Thèse de 3<sup>ème</sup> cycle. Université Abijan (Côte d'ivoire), 1994, 123 p.

[8]- Pushpalatha E. et Muthukrishnan J. Efficacy of two tropical plant extracts for the control of mosquitoes, J. of Applied Entom., 1999, 123 (6), p. 369.

[9]- Tianyun S.U; et Mir S. M., Oviposition bioassay responses of *Culex tarsalis* and *Culex quinquefasciatus* to neem products containing azadirachtin, Ent. Exp. et App., 1999, 91 (2) p. 337.

[10]- Bina S. Sidiki; Munawwer R., Ghiasuddin, Shaheen F;I, S.N.H. Naqvi et Tariq R.M., Biologically Active Triterpenoids of Biogenic interest from the Fresh fruit Coats of *Azadirachta indica*, Tetrahedron, 2000, 56 (22): 3547-3551.

[11]- Ravindran J., Eapen A., Kar I. Evaluation of repellent action of neem oil against the filarial vector, *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). Ind. J. Malariol. 2002, 39 (1-2), : 13-7.

[12]- Aliero, B.L.,- Larvaecidal effects of aqueous extracts of *Azadirachta indica* (neem) on the larvae of *Anopheles* mosquito. Af. J. of Biotech. 2003, 2 (9) : 325-327.

[13]- Shivendra S., Effects of aqueous extract of neem seed Kernel and azadirachtin on the fecundity, fertility and post-embryonic development of the melonfly, *Bactrocera cucurbitae* and the oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae), J. of App. Entomol., 2003, 127 (9-10), : 540-547.

[14]- Mittal P.K., ADAK T., SHARMA V.P.), Comparative toxicity of certain mosquitocidal compounds to larvivorous fish, *Poecilia reticulata*. : Ind. J. Malariol, 1994, 31 (2): 43-7.

[15]- Turner K.J, Barlow N.J., Struve M.F., Wallace D.G., Gaido K.W., Dorman D.C., Foster P.M. Effects of in utero exposure to the organophosphate insecticide fenitrothion on androgen-dependent reproductive development in the Crl: CD(SD)BR rat. Toxicol. Sci. 2002, 68 (1): 174-83.

[16]- Pena-Lopis S., Ferrando M.D., Pena J.B., Impaired glutathione redox status is associated with decreased survival in two organophosphate-poisoned marine bivalves Chemosphere. 2002, 47 (5): 485-97.

[17]- Sarikaya R., SELVI M., ERKOC F., Investigation of acute toxicity of fenitrothion on peppered corydoras (*Corydoras paleatus*), (Jennyns,1842). Chemosphere, 2004, 56 (7): 697-700.

[18]- Abbott, W. S., a methode of computing the effectiveness of an insecticide, J. Econ. Entomol. 1925, 18, 265-267.

[19]- BATRA C.P. Mittal P.K., Adak T., Sharma V.P. Efficacy of neem oil-water emulsion against mosquito immatures: Ind. J. Malariol, 1998, 35 (1): 15-21.

[20]- Scott .I.M. et Kaushik N.K. The toxicity of a neem insecticide to populations of culicidae and other aquatic invertebrates as assessed in situ microcosms; Contam. and Toxicol. 2000, 39 (3) : 329-336.

[21]- Carolina B. Wandscheer, Jonny E., Duque, Mario A.N. Da Silva, Yoshiyas F., Jonathan L., Wohlke, Adelman J. and Fontana J. D., Larvaecidal action of ethanolic extract from fruit endocarps of *Melia azedarach* and *Azadirachta indica* against the dengue mosquito *Aedes aegypti*. Toxicon, 2004, 44, (8): 829-835.

[22]- Ferrando M.D., Sanchoa E., Andreu-Moliner E. Chronic toxicity of fenitrothion to an algae (*Nannochloris oculata*), a rotifer (*Brachionus calyciflorus*), and the cladoceran (*Daphnia magna*). Ecotoxicol. Env. Saf. 1996, 35, (2) : 112 -20 (2):112-20.

[23]- Wang J. Resistance to two pyrethroids in *Anopheles sinensis* from Zhejiang, China. J. Am. Mosq. Control Assoc. 1999, 15 (3): 308-11.

[24]- Kreutzweiser D. P. Sutton T. M. Back R.C. Pangle K. L. Thompson D G. some ecological implications of a neem (azadirachtin) insecticide disturbance to zooplankton communities in forest pond enclosures, Aquatic. Toxicol. 2004, 67 (3): 239 – 254.

[25]- Szeto S.Y. et Wan M.T. Hydrolysis of Azadirachtin in buffered and natural waters; J. Agric. Food Chem. 1996, 44,: 1160-1163.