



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة زيان عاشور-الجلفة

Université Ziane Achour – Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Filière : Sciences biologiques

Projet de fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Parasitologie  
Option : Parasitologie

## Thème

**Evaluation de l'effet larvicide et nymphicide des huiles essentielles et des extraits aqueux de quelques plantes contre *Culex pipiens* (Linné, 1758) (Diptera, Culicidae) à Djelfa**

Présenté par : M<sup>lle</sup> ABDELALI Salma Kaoutar  
M<sup>lle</sup> ARAB Asma

Devant le jury :

Président :	M <sup>me</sup> SENNI R.	Maître de Conférences B (Univ. Djelfa)
Directeur de mémoire :	M. SOUTTOU K.	Professeur (Univ. Djelfa)
Examineurs :	M <sup>me</sup> HABITA A.	Maître Assistante A (Univ. Djelfa)
	M. BELABBAS Z.	Maître Assistant A (Univ. Djelfa)

Année Universitaire 2018/2019

## *Remerciements*

*Tout d'abord, la plus grande gratitude va au généreux Allah, qui nous a donné la force d'accomplir cette étude.*

*Nous avons l'honneur d'exprimer nos profondes reconnaissances les plus distinguées et nos sincères remerciements à notre promoteur, Professeur SOUTTOU Karim, pour l'intéressant sujet qu'il nous a proposé, pour son orientation et son appui à chaque étape. Grâce à ses critiques constructives, sa compétence, sa rigueur scientifique, sa patience et son encadrement exemplaire on a pu réaliser cette thèse.*

*On doit remercier aussi, le Professeur HAKEM Ahcen pour nous avoir chaleureusement accueillis au sein de son laboratoire, en mettant à notre disposition le matériel et tous les produits nécessaires.*

*Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche, en acceptant d'examiner notre travail et l'enrichir par leurs propositions, En commençant par le président Mme SENNI R, MCA et les deux examinateurs Mme HABITA A. MAA et M. BELABBAS Z. MAA.*

*Nous remercions vivement aussi M. KACIMI Mohamed pour sa précieuse aide et contribution concernant la réalisation des analyses chimiques des huiles essentielles.*

*A M. Brague Ahmed pour l'initiation à l'identification botanique des espèces végétales.*

*Nous remercions aussi tous les membres de l'équipe du laboratoire de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie surtout M.BENHOUMIDA Aissa et M.BENDACHOU Hamid.*

*Nous voudrions également exprimer nos sincères remerciements à tous les enseignants pour leurs conseils et leur dévotion totale à nous enseigner et toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

*M<sup>lles</sup> ABDELALI Salma Kaoutar & ARAB Asma*



# *Dédicace*

*À ma très chère Mère, qui m'a comblée avec sa tendresse et son affection tout au long de ma vie, qui n'a cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études, qui a toujours été présente à mes côtés.*

*Je te remercie mon modèle, ma force et mon courage pour tout ce que tu as fait pour moi, reçois ce travail en signe de ma vive reconnaissance et mon profond amour. Que le tout Puissant te donne santé, bonheur et longue vie afin que je puisse te combler à mon tour.*

*SELMA*



*Dédicace*

*A mes chers parents*

*en témoignage de ma reconnaissance pour leur patience, leurs sacrifices  
et leur soutien tout au long de mes études. Que Dieu leurs prête santé.*

*A mon cher frère BRAHIM et ma chère sœur FATIHA  
en témoignage de mes sentiments les meilleurs.*

*Que dieu les protège*

**ASMA**



## Sommaire

<b>Liste des abréviations</b> .....	D
<b>Liste des figures</b> .....	E
<b>Liste des tableaux</b> .....	F
<b>Introduction</b> .....	1
<b>Chapitre 1 : Données bibliographiques sur <i>Culex pipiens</i> Linné 1758</b> .....	5
1.1. – Description morphologique de <i>Culex pipiens</i> .....	6
1.1.1. – Les œufs.....	6
1.1.2. – Les Larves.....	6
1.1.2.1. – La tête.....	7
1.1.2.2. – Le thorax.....	7
1.1.2.3. – L’abdomen.....	7
1.1.3. – Les nymphes.....	8
1.1.4. – L’adulte.....	8
1.1.4.1. – Tête.....	9
1.1.4.2. – Thorax.....	10
1.1.4.3. – Abdomen.....	11
1.2. – Position systématique de <i>Culex pipiens</i> .....	11
1.3. – Répartition géographique de <i>Culex pipiens</i> en Algérie.....	12
1.4. – Bio écologie et cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> .....	12
1.5. – Rôle de <i>Culex pipiens</i> à la transmission des maladies vectorielles.....	16
1.6. – Maladies transmises par <i>Culex pipiens</i> en Algérie.....	16
1.7. – Moyens de lutte anti-vectorielle.....	17
1.7.1. – Lutte anti-imaginale.....	17
1.7.2. – La lutte anti-larvaire.....	18
1.7.3. – Résistance des moustiques aux insecticides synthétiques.....	19
1.8. – Contrôle des moustiques par les extraits de plantes.....	21
<b>Chapitre 2 : Matériel et méthodes</b> .....	22
2.1. – Choix et description des sites de prélèvement des moustiques.....	23
2.2. – Méthodes de capture des moustiques sur le terrain.....	24
2.2.1. – Méthode de capture des larves.....	24
2.2.2. – Méthode de capture des adultes.....	24
2.2.3. – Trie et identification des espèces capturées.....	25
2.3. – Description de la technique d’élevage des moustiques au laboratoire.....	26
2.4. – Choix et description des plantes choisies.....	28
2.4.1. – <i>Artemisia herba alba</i> Asso, 1779.....	29
2.4.2. – <i>Atriplex halimus</i> Linné, 1753.....	30
2.4.3. – <i>Rosmarinus officinalis</i> Linné, 1753.....	31
2.4.4. – <i>Thymus vulgaris</i> Linné, 1753.....	32
2.5. – Méthodologie adoptée pour la préparation des extraits aqueux.....	33
2.6. – Méthodologie adoptée pour l’extraction des huiles essentielles.....	34
2.6.1. – Hydrodistillation.....	34
2.6.2. – Extraction liquide-liquide.....	35

2.6.3. – Elimination de l'eau .....	36
2.6.4. – Elimination du solvant .....	36
2.7. – Analyse de la composition chimique par chromatographie en phase gazeuse et.....	
couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse .....	37
2.7.1. – Préparation des échantillons.....	37
2.7.2 – Conditions analytiques .....	37
2.8. – Réalisation des tests toxicologiques .....	38
2.8.1. – Choix des doses.....	38
2.8.1.1. – Traitement des larves et des nymphes par les huiles essentielles .....	38
2.8.1.2. – Traitement des larves et des nymphes par les extraits aqueux.....	39
2.8.2. – Méthode d'application.....	39
2.9. – Analyse numérique des données .....	40
2.9.1. – Rendement d'extraction des huiles essentielles et des extraits aqueux.....	41
2.9.2. – Taux de mortalité des larves et des nymphes.....	41
2.9.3. – Analyse statistique des données .....	41
<b>Chapitre 3 : Résultat sur l'effet des extraits de plantes et les huiles essentielles sur les larves et les nymphes de <i>Culex pipiens</i> .....</b>	<b>42</b>
3.1. – Rendement d'extraction des huiles essentielles .....	43
3.2. – Rendement de lyophilisation des extraits aqueux .....	43
3.3. – Taux de mortalité des larves traitées par les extraits aqueux et les huiles .....	44
essentiels.....	44
3.3.1. – Taux de mortalité des larves du 4 <sup>ème</sup> stade traitées par les extraits aqueux.....	44
3.3.2. – Taux de mortalité des larves du 4 <sup>ème</sup> stade traitées par les huiles essentielles .....	45
3.4. – Taux de mortalité des nymphes traitées par les extraits aqueux et les huiles .....	46
essentiels.....	46
3.4.1. – Taux de mortalité des nymphes traitées par les extraits aqueux .....	46
3.4.2. – Taux de mortalité des nymphes traitées par les huiles essentielles.....	48
3.5. – Estimation de la dose létale 50 (DL50) et 90 (DL90) .....	49
3.5.1. – Estimation de DL50 et DL90 obtenue après le traitement des larves (L4) par .....	
les extraits aqueux .....	49
3.5.2. – Estimation de DL50 et DL90 obtenue après le traitement des larves (L4) par .....	
les huiles essentielles.....	50
3.5.3. – Estimation de DL50 et DL90 obtenue après le traitement des nymphes par les.....	
extraits aqueux.....	51
3.5.4. – Estimation de DL50 et DL90 obtenue après le traitement des nymphes par les.....	
huiles essentielles .....	52
3.6. – Estimation du temps léthal 50 (TL50) et 90 (TL90) .....	53
3.6.1. – Estimation de la TL50 et TL90 après le traitement des larves (L4) par les .....	
extraits aqueux.....	53
3.6.2. – Estimation de la TL50 et TL90 après le traitement des larves (L4) par les .....	
huiles essentielles .....	54
3.6.3. – Estimation de la TL50 et TL90 après le traitement des nymphes par les extraits.....	
aqueux .....	55
3.6.4 – Estimation de la TL50 et TL90 après le traitement des nymphes par les huiles.....	

essentielles.....	55
3.7. – Composition chimique des huiles essentielles .....	56
3.8. – Etude comparative des doses des huiles essentielles et des extraits aqueux utilisées.....	
contre les larves de <i>Culex pipiens</i> .....	57
3.8.1. – Etude comparative des doses des huiles essentielles utilisées contre les larves de.....	
<i>Culex pipiens</i> .....	57
3.8.2. – Etude comparative des doses des extraits aqueux utilisées contre les larves de.....	
<i>Culex pipiens</i> .....	58
3.9. – Etude comparative des doses des huiles essentielles et des extraits aqueux utilisées.....	
contre les nymphes de <i>Culex pipiens</i> .....	59
3.9.1. – Etude comparative des doses des huiles essentielles utilisées contre les nymphes ....	
de <i>Culex pipiens</i> .....	59
3.9.2. – Etude comparative des doses des extraits aqueux utilisées contre les nymphes.....	
de <i>Culex pipiens</i> .....	59
<b>Chapitre 4</b> : Discussion sur l’effet des extraits de plantes et des huiles essentielles sur les	
larves et les nymphes de <i>Culex pipiens</i> .....	61
4.1. – Taux de mortalité des larves et des nymphes traitées par les extraits aqueux et les .....	62
huiles essentielles .....	62
4.2. – Estimation de la dose létale 50 (DL50) et 90 (DL90) .....	63
4.3. – Estimation du temps létal 50 (TL50) et 90 (TL90) .....	67
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	70
<b>Références bibliographiques</b> .....	73
<b>Résumés</b> .....	86

## Liste des abréviations

AChE	Acétylcholinestérase
ANOVA	Analyse de la variance
C	Carbone
C	Cymbopogon
C	Concentration
°C	Degré Celsius
CG/MS	Chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse
CL <sub>50</sub>	Concentration létale 50
D	Dose
Df	Différence
D.D.L	Degré de liberté
DL <sub>50</sub>	Dose létale 50
DL <sub>90</sub>	Dose létale
F	Valeur de fisher
Fig.	Figure
GABA	Acide gamma-aminobutyrique
g	Gramme
H	Heure
Hr	Humidité relative
ITU	Unité toxique international
KOH	Hydroxyde de potassium
L <sub>4</sub>	4 <sup>ème</sup> stade larvaire
M.C.	Mortalité corrigée
M.O.	Mortalité observée
mg	Milligramme
ml	Millilitre
N°	Numéro
O	Oxygène
O.M.S.	Organisation mondiale de la santé
P	Probabilité
PCIs	Les perturbateurs de croissance d'insectes
Ppm	Partie par million
µl	Microlitre
R	Rendement
R	Coefficients de corrélations
R <sup>2</sup>	Coefficient de détermination
RVFV	Fièvre de la vallée du rift
Sig	Seuil de signification
TL <sub>50</sub>	Temps létale 50
TL <sub>90</sub>	Temps létale 90
WNV	Virus west nile
P%	Pourcentage
<	Inférieur
=	Egale
>	Supérieur
SIT	Technique de libération d'insectes stériles



## Liste des figures

<b>Figure 1</b> : Radeau d'œufs de <i>Culex pipiens</i> .....	6
<b>Figure 2</b> : Morphologie générale d'une larve du 4 <sup>ème</sup> stade de <i>Culex pipiens</i> .....	7
<b>Figure 3</b> : Aspect général d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i> .....	8
<b>Figure 4</b> : Morphologie générale d'un imago de <i>Culex pipiens</i> .....	9
<b>Figure 5</b> : Morphologie de la tête de <i>Culex pipiens</i> .....	10
<b>Figure 6</b> : Morphologie du thorax de <i>Culex pipiens</i> .....	10
<b>Figure 7</b> : Morphologie de l'abdomen de <i>Culex pipiens</i> .....	11
<b>Figure 8</b> : Répartition géographique de <i>Culex pipiens</i> en Algérie .....	12
<b>Figure 9</b> : Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> .....	13
<b>Figure 10</b> : De gauche à droite, larve 3 (de profil), larve 4 (de face) de <i>Culex pipiens</i> .....	15
<b>Figure 11</b> : Nymphe de <i>Culex pipiens</i> . À droite, émergence .....	15
<b>Figure 12</b> : Mâle de <i>Culex pipiens</i> adulte après émergence .....	15
<b>Figure 13</b> : Nombre cumulé d'espèces résistantes aux insecticides, d'insecticides pour lesquels il y a résistante et d'OGM dont la résistance a été rapportée .....	20
<b>Figure 14</b> : Présentation du site de prélèvement des larves .....	23
<b>Figure 15</b> : Présentation de différentes gites larvaires .....	24
<b>Figure 16</b> : Les outils utilisés pour la capture des larves .....	25
<b>Figure 17</b> : Matériels utilisés pour l'identification des larves .....	26
<b>Figure 18</b> : Méthode d'élevage des larves .....	27
<b>Figure 19</b> : Méthode d'élevage des adultes .....	28
<b>Figure 20</b> : <i>Artemisia herba alba</i> .....	29
<b>Figure 21</b> : <i>Atriplex halimus</i> .....	30
<b>Figure 22</b> : <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	31
<b>Figure 23</b> : <i>Thymus vulgaris</i> .....	32
<b>Figure 24</b> : L'extrait aqueux préparé après filtration du mélange .....	33
<b>Figure 25</b> : Photographie représentant l'appareil lyophilisateur .....	34
<b>Figure 26</b> : Photographie représentant le montage de l'hydrodistillation .....	35
<b>Figure 27</b> : Photographie représentant le distillat obtenu .....	35
<b>Figure 28</b> : Photographie représentant l'extraction liquide-liquide .....	36
<b>Figure 29</b> : Photographie représentant un appareil Rotavapor .....	36
<b>Figure 30</b> : Les huiles essentielles obtenues .....	37
<b>Figure 31</b> : Photographie représentant les essais effectués sur les larves et les nymphes au laboratoire .....	40
<b>Figure 32</b> : Evolution de la mortalité chez les larves (L4) de <i>Culex pipiens</i> traitées par les différentes doses des extraits aqueux de 4 plantes .....	45
<b>Figure 33</b> : Evolution de la mortalité chez les larves (L4) de <i>Culex pipiens</i> .....	46
<b>Figure 34</b> : Evolution de la mortalité chez les nymphes de <i>Culex pipiens</i> traitées par les différentes doses des extraits aqueux de 4 plantes .....	47
<b>Figure 35</b> : Evolution de mortalité chez les nymphes de <i>Culex pipiens</i> traitées par les différentes doses des huiles essentielles de 4 plantes .....	49

## Liste des tableaux

<b>Tableau 1</b> – Différents types de la lutte anti-vectorielle (anti-imaginale) .....	18
<b>Tableau 2</b> – Différents types de la lutte anti-vectorielle (anti-larvaire) .....	19
<b>Tableau 3</b> – Les trois types majeurs de mécanismes de résistance .....	21
<b>Tableau 4</b> – Choix des doses des huiles essentielles appliquées contre les larves et les nymphes de <i>Culex pipiens</i> .....	39
<b>Tableau 5</b> – Choix des doses des extraits aqueux appliqués contre les larves et les nymphes de <i>Culex pipiens</i> .....	39
<b>Tableau 6</b> – Rendement d'extraction des huiles essentielles de chaque plante .....	43
<b>Tableau 7</b> – Rendement de lyophilisation des extraits aqueux de chaque plante .....	43
<b>Tableau 8</b> – Toxicité des extraits aqueux sur les larves (L4) de <i>Culex pipiens</i> .....	44
<b>Tableau 9</b> – Toxicité des huiles essentielles sur les larves (L4) de <i>Culex pipiens</i> .....	45
<b>Tableau 10</b> – Toxicité des extraits aqueux sur les nymphes de <i>Culex pipiens</i> .....	47
<b>Tableau 11</b> – Toxicité des huiles essentielles sur les nymphes de <i>Culex pipiens</i> .....	48
<b>Tableau 12</b> – Dose létale 50 et 90 des différents extraits aqueux (probits en fonction de la dose) .....	49
<b>Tableau 13</b> – Dose létale 50 et 90 des différentes huiles essentielles (probits en fonction de la dose) .....	50
<b>Tableau 14</b> – Dose létale 50 et 90 des différents extraits aqueux (probits en fonction de la dose) .....	51
<b>Tableau 15</b> – Dose létale 50 et 90 des différents huiles essentielles (probits en fonction de la dose) .....	52
<b>Tableau 16</b> – Temps léthal 50 et 90 des différents extraits aqueux (probits en fonction du temps) .....	53
<b>Tableau 17</b> – Temps léthal 50 et 90 des différentes huiles essentielles (probits en fonction du temps) .....	54
<b>Tableau 18</b> – Temps léthal 50 et 90 des différents extraits aqueux (probits en fonction du temps) .....	55
<b>Tableau 19</b> – Temps léthal 50 et 90 des différentes huiles essentielles (probits en fonction du temps) .....	56
<b>Tableau 20</b> – Pourcentage des molécules dominantes dans les huiles essentielles analysées .....	56
<b>Tableau 21</b> – Analyse de la variance appliquée aux variations du taux de mortalité des larves (L4) selon les doses des huiles essentielles utilisées .....	57
<b>Tableau 22</b> – Comparaison deux à deux entre les doses par le test de Fisher (LSD) .....	58
<b>Tableau 23</b> – Analyse de la variance appliquée aux variations du taux de mortalité des larves (L4) selon les doses des extraits aqueux utilisées .....	58
<b>Tableau 24</b> – Comparaison deux à deux entre les doses par le test de Fisher (LSD) .....	58
<b>Tableau 25</b> – Analyse de la variance appliquée aux variations du taux de mortalité des nymphes selon les doses des huiles essentielles utilisées .....	59
<b>Tableau 26</b> – Comparaison deux à deux entre les doses par le test de Fisher (LSD) .....	59
<b>Tableau 27</b> – Analyse de la variance appliquée aux variations du taux de mortalité des nymphes selon les doses des extraits aqueux utilisées .....	60
<b>Tableau 28</b> – Comparaison deux à deux entre les doses par le test de Fisher (LSD) .....	60



# *Introduction*



## Introduction

Les moustiques regroupent plus de 3.000 espèces réparties dans le monde entier dont la plupart se retrouvent dans les régions tropicales et subtropicales (KEMASSI *et al.*, 2013). Leur importance dans l'entomologie médicale font de ces insectes un bon matériel d'étude pour les biologistes (MERABTI *et al.*, 2015).

Les femelles en période de reproduction ont besoin de sang pour le développement des œufs et certaines espèces ont une préférence marquée pour le sang humain. En effet elles sont capables de contracter et véhiculer trois types d'agents infectieux selon les espèces de moustiques: des virus responsables de nombreuses arboviroses, des protozoaires du genre *Plasmodium*, et des nématodes responsables de filarioses. Parmi les espèces connues dans la transmission des maladies à l'homme, nous citons celles appartenant aux genres *Culex*, *Aedes* et *Anopheles* (AOUINTY *et al.*, 2006 ; BAWIN, 2015).

La lutte contre les moustiques a toujours été une préoccupation majeure pour se protéger contre l'agression de ces insectes hématophages. L'approche la plus efficace de la lutte est basée sur la réduction suffisante de populations larvaires de moustiques. Cette lutte doit être adaptée à la connaissance de leurs gîtes larvaires, de leurs comportements et de leurs écologies est donc fondamentale pour assurer l'efficacité de cette action (MERABTI *et al.*, 2015).

La lutte chimique a toujours le grand avantage de pouvoir bénéficier d'une gamme étendue d'insecticides appartenant à plusieurs familles (organochlorés, organophosphorés, pyréthrinoïdes, carbamates) (MOUCHET, 1980). Ces grandes familles, agissant toutes au niveau du système nerveux des insectes et permettant une lutte contre de nombreuses espèces d'insectes nuisibles tant en lutte anti-vectorielle qu'en agriculture (BAWIN *et al.*, 2015)

De par leur nature, les insecticides présentent un potentiel toxique. Etant des substances destinées à lutter contre des organismes vivants, ils agissent sur les fonctions vitales du fait de leurs usage étendu, de leur caractère persistant et de la présence de résidus dans différents milieux (air, eau, sol) et dans l'alimentation (AIR PARIF, 2016) et des effets neurotoxiques par ce qu'elles agissent sur plusieurs systèmes physiologiques (croissance, reproduction et métabolisme) chez les organismes non visés. Cette neurotoxicité a été décelée sur les populations humaines qui se traduisent chez ces derniers par une perturbation du développement du système nerveux (embryons, fœtus et enfants) (AOUATI, 2015).

S'ajoute aussi à ces à inconvénients, le problème de développement de résistance aux insecticides chimiques, chez les insectes traités (KEMASSI *et al.*, 2013). Une fois que la

résistance est développée chez les moustiques, elles peuvent exposer une résistance croisée aux produits chimiques auxquels une population d'insecte particulière n'a jamais été exposée auparavant, il n'y a pas beaucoup d'insecticides disponibles sur le marché et le nombre de nouveaux produits chimiques à introduire est également limitée (KARUNARATNE *et al.*, 2018)

L'utilisation d'autres moyens de lutte que les insecticides de synthèse afin de contrôler les populations d'insectes nuisibles devienne de plus en plus nécessaire afin de préserver la santé des populations non ciblées. C'est pourquoi, on se focalise de plus en plus vers les composés naturels issus des plantes pour la mise au point des nouvelles molécules bioinsecticides. (HABBACHI *et al.*, 2013). Plus de 2.000 espèces végétales possédant une activité insecticide sont déjà identifiées (MERABTI *et al.*, 2015). Certaines plantes ont évolué dans un large éventail de conditions physiques et des défenses chimiques contre une variété d'insectes. Ces substances (phénols et polyphénols, terpénoïdes, alcaloïdes, par exemple) peuvent être isolées à l'aide de diverses méthodes d'extraction, notamment la simple macération de la plante, extraction à l'aide de solvants organiques de diverses polarités, extraction par fluide supercritique ou différents types de distillation (DUBEY, 2011).

Les extraits de plantes agissent de deux façons possibles ; une action larvicide pouvant causer une mortalité appréciable des larves en 1 à 12 jours, ou une action juvénile mimétique de l'hormone juvénile, avec allongement de la durée de la vie larvaire pouvant inhiber la nymphose (RAGEAU et DELAVEAU, 1980).

Les expériences de PRANATI *et al.* (2018) ont montré l'effet larvicide et nymphocide des extraits de feuilles de *Clerodendrum philippinum* contre *Aedes aegypti* et *Anopheles stephensi* avec des taux de mortalités considérables. Une étude réalisée par KAURA *et al.* (2019) révèle l'effet larvicide et nymphocide de l'huile essentielle de *Eucalyptus globulus* qui agit rapidement sur les larves et les nymphes d'*Aedes aegypti* et *Aedes albopictus*. Des changements sont observés dans le comportement général des larves ; ces dernières deviennent inactives juste après quelques heures de traitement. En Algérie, MERABTI *et al.* (2015) ont testés l'activité larvicide de l'extrait aqueux de fruits de *Citrullus colocynthis* sur les larves de deux espèces de moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*) élevées au laboratoire. Les résultats préliminaires ont montré que l'extrait utilisé a une grande efficacité par rapport aux produits naturels d'origine végétale ou microbienne. Cette efficacité s'exprime par les paramètres toxicologiques calculés qui sont successivement la CL<sub>50</sub> et la CL<sub>90</sub>, avec 3,83 et 5,20 mg/l pour *Culex pipiens* et 5,05 et 5,64 mg/l pour *Culiseta longiareolata*.

Dans le cadre de la lutte biologique anti-culicidiene et afin de contribuer à la valorisation de la flore steppique Algérienne. Nous nous sommes intéressés à étudier l'activité toxique des extraits aqueux et des huiles essentielles de quatre plantes (*Artemisia herba alba*, *Atriplex halimus*, *Rosmarinus officinalis* et *thymus*) sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade et les nymphes de *Culex pipiens* vecteurs des maladies parasitaires qui sont très commune en Algérie et surtout au niveau des sites urbains.

Ces expérimentations ont été menées au niveau de laboratoire de recherche d'exploration et de valorisation des écosystèmes steppique (Faculté SNV, Université de Ziane Achour de Djelfa) dont les objectifs est de répondre à certaines questions telles que :

- Existe-il un effet toxique contre les larves et les nymphes dû à ses extraits ?
- Existe-il une différence entre les doses choisies ?
- Quelle est l'extrait le plus efficace parmi les huiles essentielles ?
- Quelle est l'extrait le plus efficace parmi les extraits aqueux ?
- Quelles sont les doses létales à 50% et 90% ?
- Quelles sont les temps létaux à 50% et 90% ?

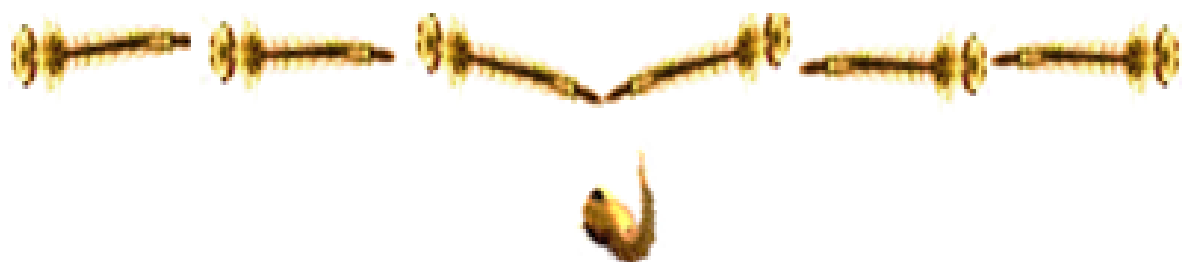
Notre plan de travail est subdivisé en 4 chapitres. Dans le premier chapitre nous présentons une synthèse bibliographique sur les moustiques. Par la suite dans le chapitre 2 matériels et méthodes nous développons le matériel végétal utilisé pour l'extraction des huiles, la méthode d'extraction et la méthode d'application sur les larves de moustiques. L'élevage de ces larves est expliqué dans le même chapitre, ainsi que les analyses chimiques des huiles essentielles et les analyses statistiques des résultats sont détaillées vers la fin de ce chapitre. Le troisième chapitre regroupe les résultats obtenus. Ces derniers sont discutés dans le chapitre 4. Enfin une conclusion assortie de perspectives clôture le présent travail.



# *Chapitre 1 : Données*

*bibliographiques sur Culex*

*pipiens*



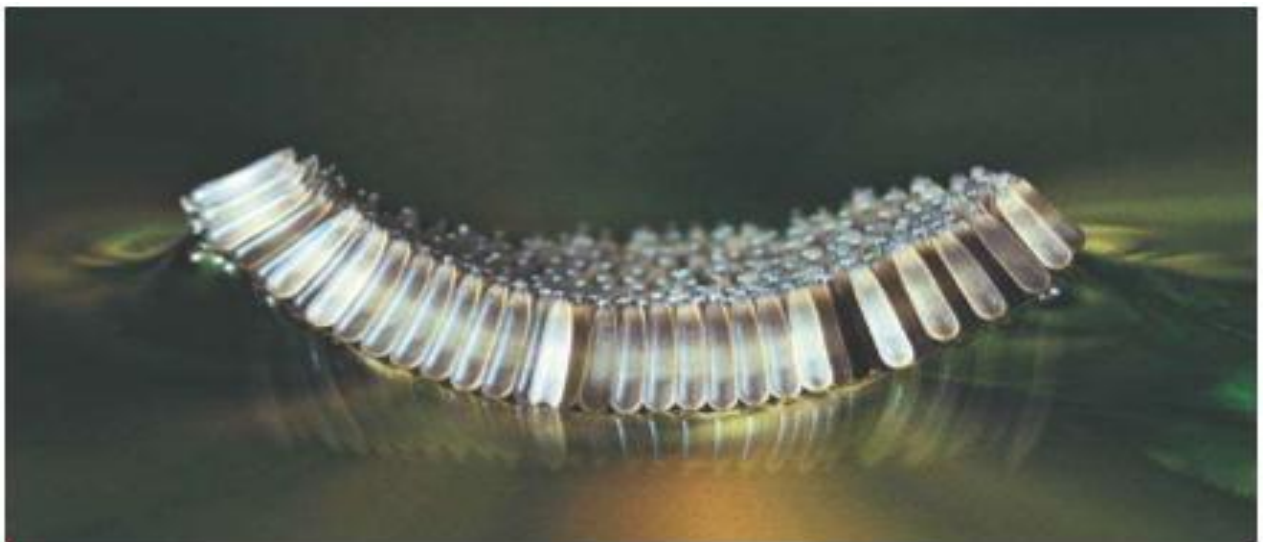
## Chapitre 1 : Données bibliographiques sur *Culex pipiens* Linné 1758

### 1.1. – Description morphologique de *Culex pipiens*

*Culex pipiens* sont des insectes à métamorphose complète. Cela signifie que, durant leur vie, ils passent successivement par des stades bien différenciés : œuf, larve, nymphe puis adulte (imago) (DELAUNAY et al., 2001).

#### 1.1.1. – Les œufs

Les femelles de *Culex* déposent leurs œufs sous forme de radeaux (MICHAELAKIS *et al.*, 2005). Fusiformes, ils mesurent environ 1 mm de long (Fig. 1). Blanchâtres au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent. Une corolla est présente au niveau du pôle inférieur de l'œuf. Ils sont pondus dans l'eau, réunis par 200 à 400 en nacelle dont l'arrangement leur permet d'être insubmersibles (MURIEL, 2005).



(BALENGHIEN, 2007)

Figure 1 : Radeau d'œufs de *Culex pipiens*

#### 1.1.2. – Les Larves

Les larves ont trois parties du corps : une petite tête, un thorax élargi (la partie médiane) et un long abdomen en forme de cylindre (JACKMAN et OLSON, 2002). D'aspect vermiforme, sa taille varie de 2 mm à 12 mm en moyenne en fonction des stades (Fig. 2) (MURIEL, 2005).



### 1.1.2.1. – La tête

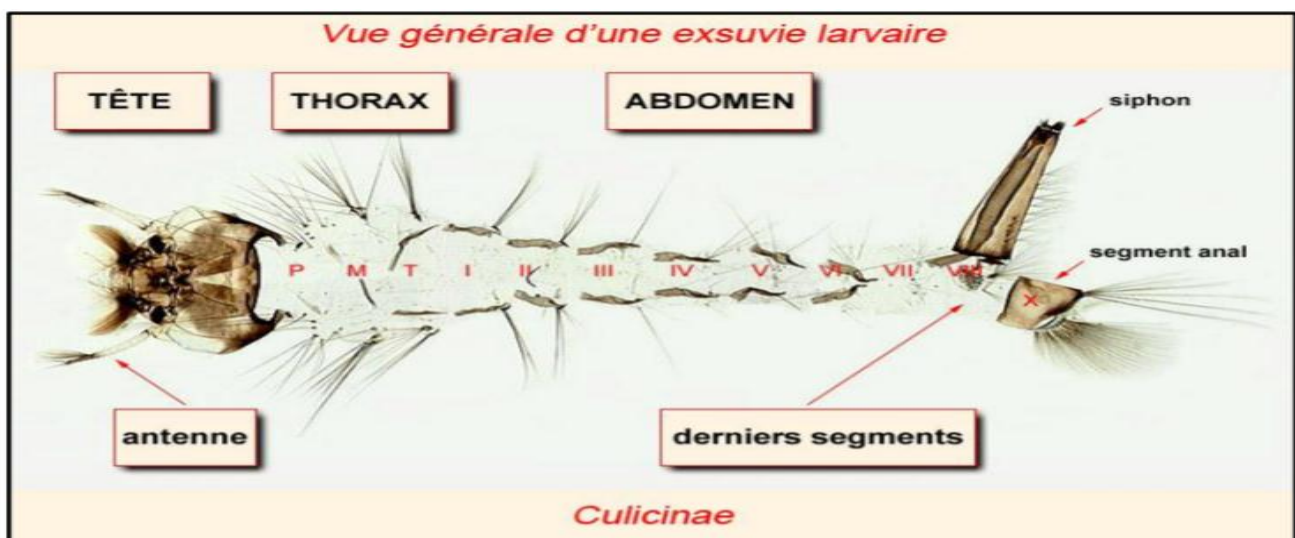
Elle est composée d'une paire d'antennes et de deux paires d'yeux composés, dont une non fonctionnelle, prémices des futurs yeux de l'adulte (GOULU, 2015) et de pièces buccales comportant une variété de brosses, de peignes et de balayuses utilisées pour l'alimentation. Les brosses palatines latérales sur le labrum créent des courants d'eau qui attirent les particules en suspension ou flottantes vers la bouche (Fig. 2). Des balayuses et des brosses sur les mandibules, ainsi que des brosses sur les maxillaires, collectent et emballent des particules pour créer un bol alimentaire dans le pharynx (FOSTER et WALKER, 2019).

### 1.1.2.2. – Le thorax

Le thorax est large, avec trois segments indistincts, sans pattes (FOSTER et WALKER, 2019). Représenté par une masse indivise de forme légèrement globuleuse, aplatie dorso ventralement, sur laquelle s'insèrent des paires de soies longues ou courtes, plus au moins ramifiées (Fig. 2) (OUDAINIA, 2014).

### 1.1.2.3. – L'abdomen

L'abdomen larvaire est plus étroit que le thorax, cylindrique (FOSTER et WALKER, 2019). Se décompose en neuf segments. Le 8<sup>ème</sup> segment possède des excroissances servant à peigner ses brosses buccales (Fig. 2). Le 9<sup>ème</sup> segment porte une brosse ventrale natatoire et ainsi qu'un siphon respiratoire entraînant une position de repos oblique (GOULU, 2015).



(BRUNHES *et al.*, 1999)

Figure 2 : Morphologie générale d'une larve du 4<sup>ème</sup> stade de *Culex pipiens*

### 1.1.3. – Les nymphes

Les nymphes sont en forme de virgule, la tête et le thorax étant soudés pour former un céphalothorax et l'abdomen enroulé dessous. Du mésothorax dorsal font saillie une paire de tubes respiratoires, ou trompettes à air, par lesquels la nymphe obtient de l'oxygène à la surface de l'eau (FOSTER et WALKER, 2019). À l'intérieur du céphalothorax, on peut généralement voir les appendices en développement de la tête et du thorax de l'adulte enroulés ventralement ; ils enveloppent une poche d'air, l'espace aérien ventral qui fournit la flottabilité pour aider à maintenir la nymphe à la surface de l'eau au repos (Fig. 3). Au bout de l'abdomen, deux larges palettes sont attachées au huitième segment. La nymphe peut fléchir ses segments abdominaux, provoquant le battement des palettes vers le bas, la propulsant dans l'eau lorsqu'elle est perturbée (FOSTER et WALKER, 2019).

Il existe un dimorphisme sexuel. En effet, les nymphes mâles sont plus petites et se développent plus vite (GOULU, 2015).

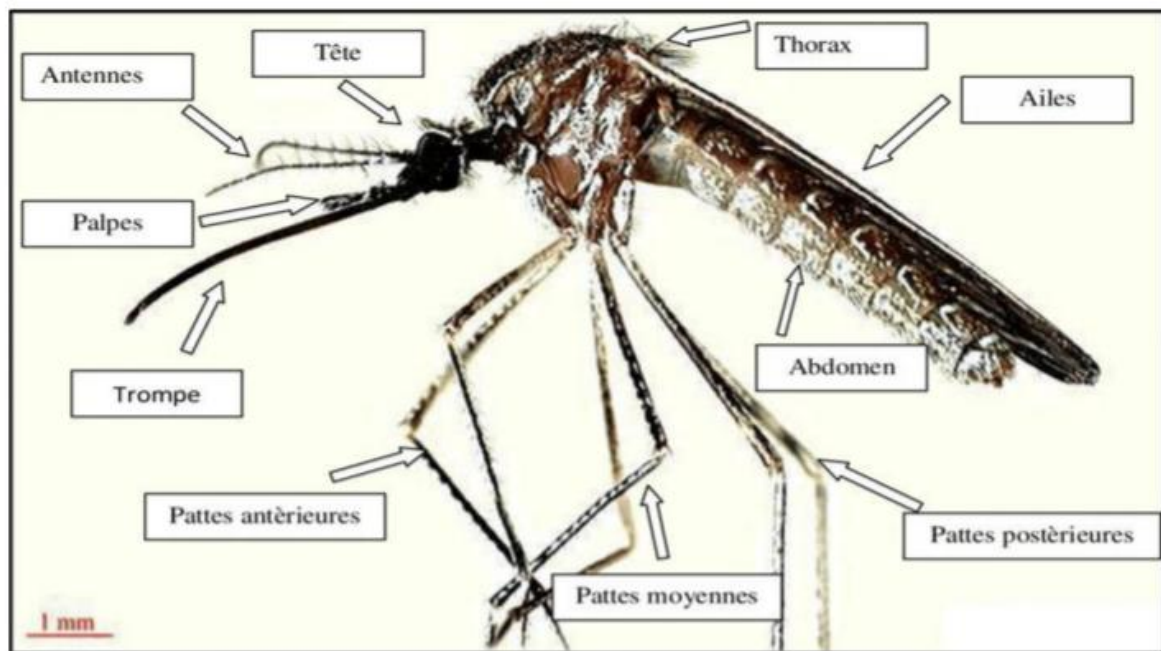


(BERCHI, 2000)

Figure 3 : Aspect général d'une nymphe de *Culex pipiens*

### 1.1.4. – L'adulte

Les adultes sont minces, avec les jambes minces et les ailes étroites et allongées. La surface du corps est recouverte d'écailles, de soies et de poils fins (FOSTER et WALKER, 2019). Il mesure 3 à 6 mm de long (AOUATI, 2016). Le mâle est généralement plus petit que la femelle (GOISLARD, 2012). Le dimorphisme sexuel est largement clair. L'antenne du mâle est velue, chez la femelle est glabre. L'adulte qui vient d'émerger, est en générale plus mou. Avant de s'envoler (OUDAINIA, 2014). Le corps est constitué de trois parties ou tagmes bien individualisés : la tête, le thorax et l'abdomen (Fig. 4) (BERCHI, 2000).



(BRUNHES *et al.*, 1999)

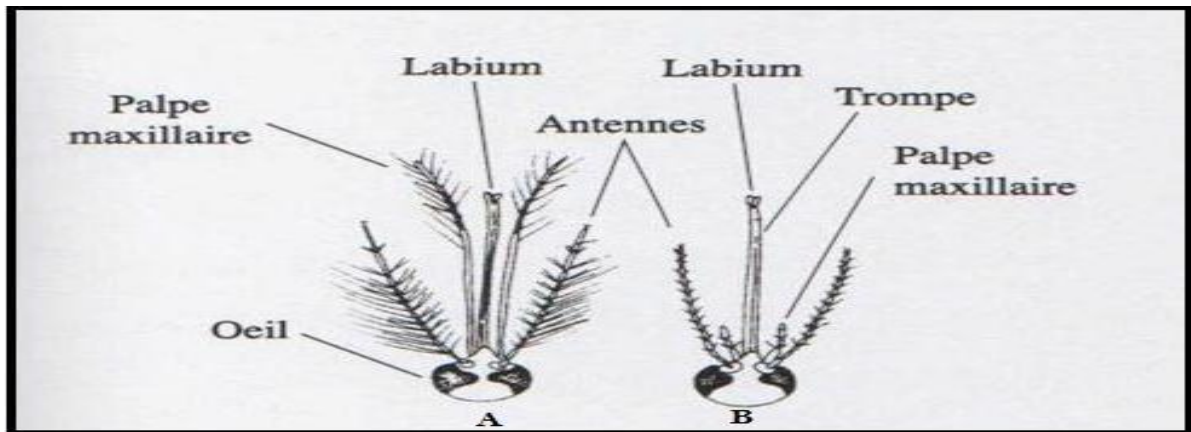
**Figure 4 :** Morphologie générale d'un imagon de *Culex pipiens*

#### 1.1.4.1. – Tête

De forme générale globuleuse, elle porte (Fig. 5) :

Les deux yeux composés, représentés chacun par des lentilles ommatidies, s'enroulent autour de l'avant et des côtés de la tête (FOSTER et WALKER, 2019). Volumineux et presque jointifs (séparés par une bande frontale étroite) souvent de couleur bleue ou vert métallique (AOUATI, 2016). Une paire d'antennes (de 14 articles) plumeuses chez le mâle, verticillées (et de 15 articles) chez la femelle (BALENGHIEN, 2007). L'appareil buccal diffère selon le sexe du moustique. Chez le mâle, il s'agit d'un appareil buccal de type suceur qui lui permet de se nourrir du nectar ou de la sève des plantes. L'appareil buccal des femelles est de type vulnérant (GOULU, 2015).

L'ensemble des pièces buccales, de type piqueur, formant la trompe, ou proboscis. L'hypopharynx contenant un canal de petit diamètre (canal salivaire) et le labre en forme de gouttière, constitue, une fois fermée un canal de grand diamètre (canal alimentaire). Ces pièces buccales, au repos, sont protégées par une enveloppe souple, en forme de gouttière : le labium, terminé à son extrémité distale par deux petites languettes : les labelles. Une paire de palpes maxillaires (OUDAINIA, 2014).



(AOUATI, 2016)

**Figure 5 :** Morphologie de la tête de *Culex pipiens* (A : Male / B : Femelle)

#### 1.1.4.2. – Thorax

Il forme une seule unité locomotrice musclée, relativement rigide (FOSTER et WALKER, 2019). Composé de trois segments soudés (le prothorax, le mésothorax et le métathorax), il porte les ailes et les pattes. Le thorax est brun recouvert d'écailles fauves foncées avec quelques écailles claires sur les côtés (Fig. 6). Les pattes grêles sont brunes et non annelées, le fémur est noir au-dessus et blanc au-dessous, et on peut distinguer une tache blanche au niveau du genou. Elles sont formées de 5 pièces en tout, et le tarse, à 5 articles, porte 2 griffes. Les ailes sont non tachées. Comme le corps et les pattes, les ailes sont recouvertes d'écailles fixées sur les nervures et sur le bord postérieur. Au repos, elles sont repliées sur l'abdomen. En arrière des ailes se trouvent les balanciers, qui sont de petits organes sensoriels oscillatoires servant au contrôle du vol (MURIEL, 2005).



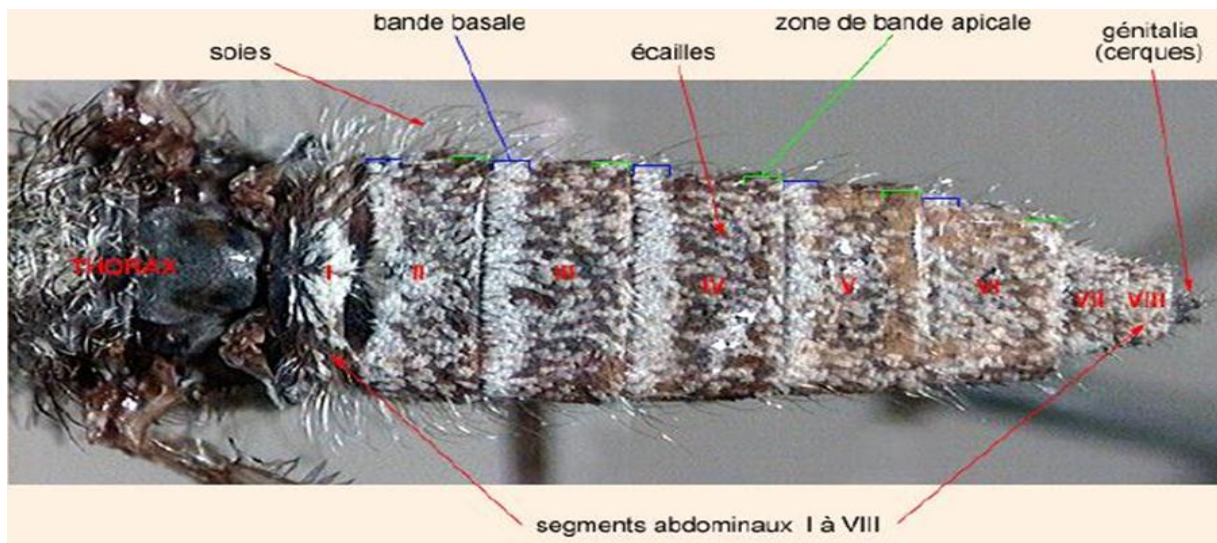
(AOUATI, 2016)

**Figure 6 :** Morphologie du thorax de *Culex pipiens*



### 1.1.4.3. – Abdomen

Il est grêle et allongé. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale. Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les côtés ornent la face ventrale (MURIEL, 2005). Composé de dix segments dont les neuvième et dixième formant les génitalia (ou hypopygium) assurant les fonctions sexuelles (Fig. 7) (AOUATI, 2016). Capable d'une expansion importante et d'un certain mouvement en raison des zones membraneuses situées entre chaque groupe de tergites et de sternites. Cela permet une expansion de la paroi abdominale pour accueillir de gros le repas de sang et de sucre et des couvées d'œufs en développement (FOSTER et WALKER, 2019).



(AOUATI, 2016)

**Figure 7 :** Morphologie de l'abdomen de *Culex pipiens*

## 1.2. – Position systématique de *Culex pipiens*

La position systématique de *Culex pipiens* est la suivante (BENSERRADJ, 2015) :

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Sous embranchement : Antennata

Classe : Insecta

Sous classe : Pterygota

Ordre : Diptera

Sous ordre : Nematocera

Famille : Culicidae

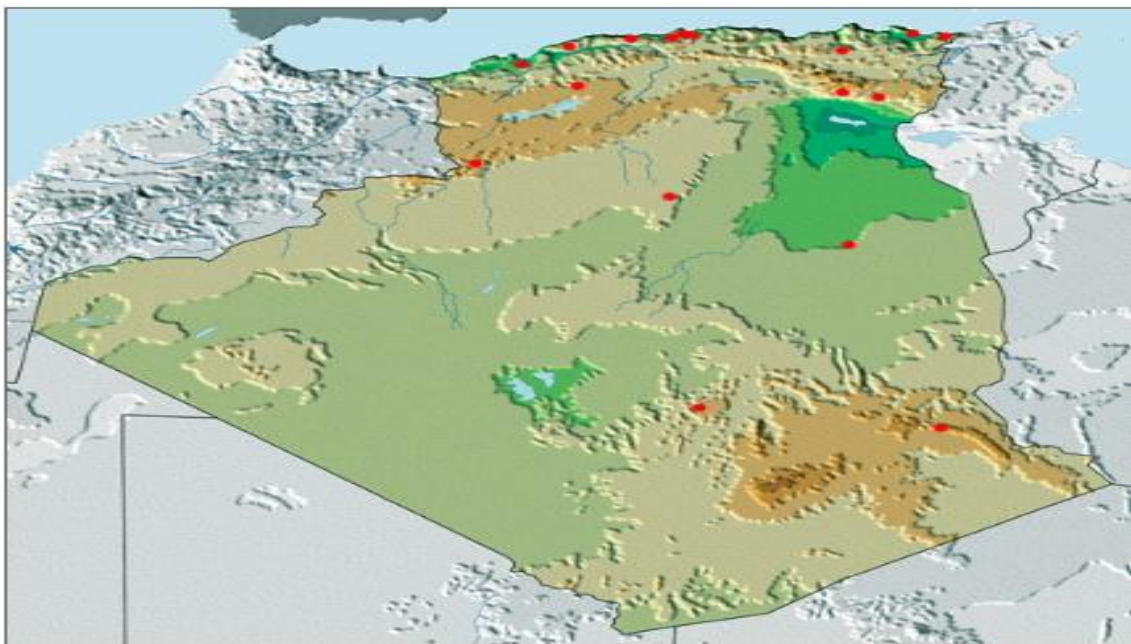
Sous famille : Culicinae

Genre : *Culex*

Espèce : *Culex pipiens* Linné, 1758

### 1.3. – Répartition géographique de *Culex pipiens* en Algérie

D'après HASSAINE (2002), le peuplement culicidien de l'Afrique méditerranéenne est composé de 67 espèces appartenant à deux sous-familles et à sept genres différents. En Algérie seules les deux sous-familles Culicinae et Anophelinae sont représentées avec six genres (BERCHI, 2000). *Culex pipiens* est considérée parmi les espèces de moustiques les plus répandues en Algérie (Fig. 8) (BERCHI *et al.*, 2012).



(BRUNHES *et al.*, 1999)

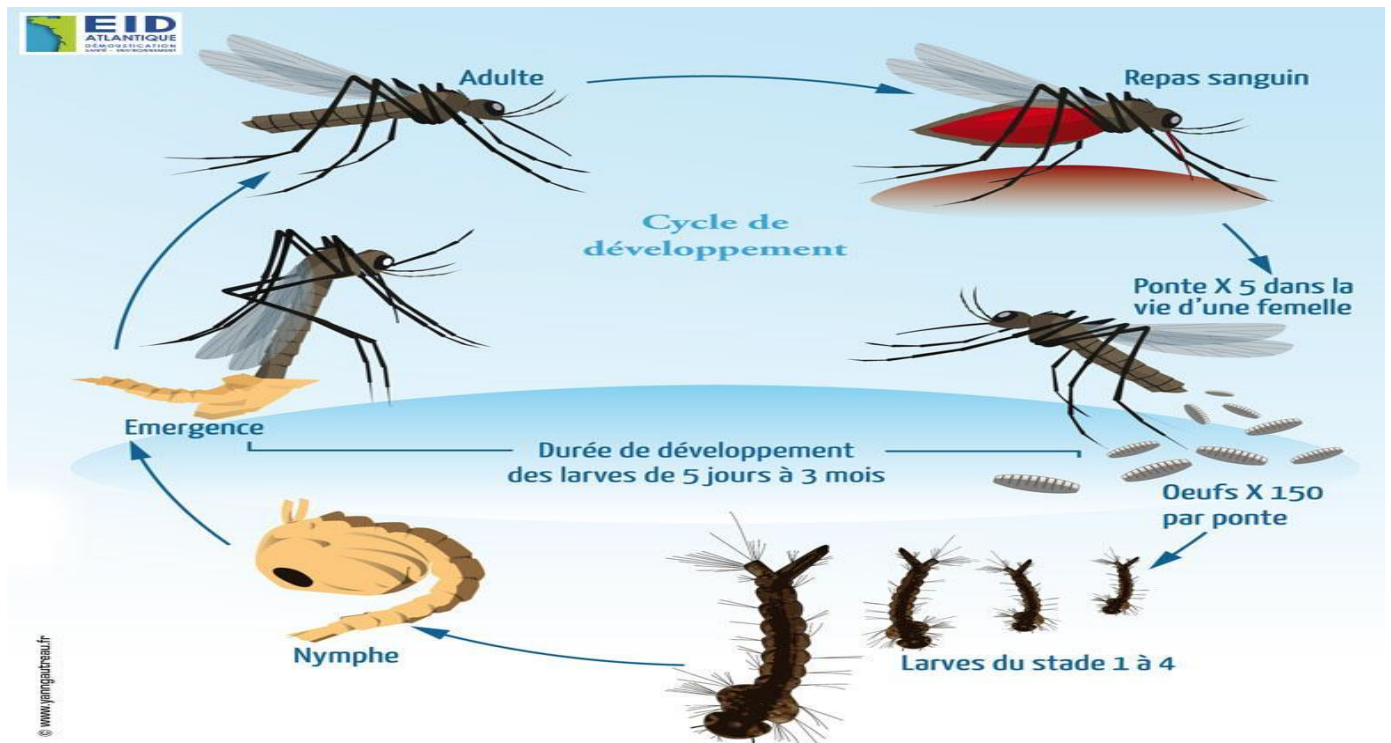
- : Présence de *Culex pipiens*

**Figure 8** : Répartition géographique de *Culex pipiens* en Algérie

### 1.4. – Bio écologie et cycle de développement de *Culex pipiens*

Le cycle de *Culex pipiens* comporte, comme celui de tous les insectes, 4 stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago ou adulte. Il se décompose en deux phases : une phase aquatique pour les trois premiers stades, et une phase aérienne pour le dernier stade. Dans les conditions optimales, le cycle dure de 10 à 14 jours (Fig. 9) (RESSEGUIER, 2011).

Les stades de leur vie immatures préfèrent les habitats aquatiques avec un contenu organique élevé (JIAFENG *et al.*, 2011).



(GOISLARD, 2012)

**Figure 9 :** Cycle de développement de *Culex pipiens*

Après accouplement, la femelle fécondée fait un premier repas de sang pour prélever les nutriments nécessaires à la maturation de ses œufs. Elle n'a besoin d'être fécondée qu'une fois puisqu'elle dispose d'un système de stockage des spermatozoïdes qui lui permet de pondre de façon répétée jusqu'à la fin de sa vie (GOISLARD, 2012).

Les femelles pondent tous leurs œufs dans une ponte qui flotte comme un radeau. Cette étape dure habituellement de deux à trois jours. Chaque ponte contient environ 50 à 500 œufs, ce qui signifie qu'au cours de sa vie une femelle peut pondre entre 1000 et 2500 œufs dans plusieurs pontes. Lorsque l'œuf éclot, encore dans l'eau, la larve est libérée. Les moustiques sont soumis à quatre stades larvaires successifs, qui sont séparés chacun par une mue, ce qui permet une augmentation soudaine de la taille de 2 mm pour les larves au premier stade à environ 12 mm pour les larves au quatrième stade (RODHAIN, 2015). Les larves de *Culex pipiens* se retrouvent dans les gîtes les plus divers des milieux urbain et périurbain, plus particulièrement ceux riches en matières organiques (BERCHI *et al.*, 2012). Ces larves très mobiles se nourrissent de micro-organismes (bactéries, algues, protozoaires, et parfois de grosses proies vivantes), telles que les larves d'autres insectes ou des espèces de moustiques. Lorsque les conditions météorologiques sont favorables, la durée totale du stade larvaire est

d'environ 8 à 12 jours. Lorsque le temps est défavorable, comme pendant l'hiver en Eurasie, le développement larvaire peut prendre plusieurs mois (Fig. 10).

A la fin du quatrième stade larvaire, une mue transforme l'insecte en une nymphe : un organisme aquatique mobile qui ne se nourrit pas pendant les deux ou trois jours qu'il faut pour devenir un adulte (Fig. 11) (RODHAIN, 2015).

Dans un phénomène appelé « émergence » l'adulte devient « libre » et passe d'une existence aquatique à une existence aérienne. L'émergence doit avoir lieu loin de toute perturbation ; au cours de cette phase, l'insecte est souvent sans défense contre les prédateurs de surface (Fig. 12) (RODHAIN, 2015).

La première distinction qui doit être faite chez les adultes entre les mâles et les femelles. Les mâles ne sont pas hématophages et ont une courte durée de vie et une faible dispersion. Les femelles sont la plupart du temps hématophage avec une durée de vie moyenne d'environ deux mois (parfois beaucoup plus), et de leur dispersion est régie par la recherche d'un hôte vertébré (mammifères, oiseaux, reptiles ou amphibiens, selon l'espèce) et un site de reproduction (RODHAIN, 2015). Pour les moustiques, la dispersion de vol varie de quelques centaines de mètres à plusieurs kilomètres, mais, en plus de cette dispersion active, il y a dispersion passive par les vents et les moyens humains de transport (RODHAIN, 2015).

*Culex pipiens* plus abondant à la fin de l'été et au début de l'automne (MICHAEL et WILSON, 2008). Les femelles en diapause peuvent obtenir suffisamment d'énergie à partir d'un seul repas de sang pour survivre à l'hiver (CARL et HANS, 1989). Il se développe aussi bien dans les milieux urbains que ruraux, dans les eaux polluées que propres. Dans plusieurs régions, il est actif pendant toute l'année et atteint son maximum de développement pendant les saisons chaudes. Ses préférences trophiques sont très variables car il est plutôt ornithophile, mais il s'attaque volontiers aux humains et aux mammifères lorsqu'ils cohabitent (FARAJ *et al.*, 2006).

*Culex pipiens* est une espèce qui se reproduit dans des habitats naturels et artificiels de différentes tailles (BERCHI *et al.*, 2012).





(BALENGHIEN, 2007)

**Figure 10 :** De gauche à droite, larve 3 (de profil), larve 4 (de face) de *Culex pipiens*



(BALENGHIEN, 2007)

**Figure 11 :** Nympe de *Culex pipiens*. À droite, émergence



(BALENGHIEN, 2007)

**Figure 12 :** Mâle de *Culex pipiens* adulte après émergence

### **1.5. – Rôle de *Culex pipiens* à la transmission des maladies vectorielles**

Sa capacité à s'adapter à tous les biotopes lui permet d'être vecteur de plusieurs agents pathogènes responsables de maladies infectieuses parfois mortelles. *Culex pipiens* est l'un des principaux vecteurs de l'encéphalite de Saint-Louis aux États-Unis, il a été considéré aussi comme le principal vecteur du virus West Nile en Roumanie, aux États-Unis, en Bulgarie et en République Tchèque. Le Maroc a été touché en 1996 et en 2003 (FARAJ *et al.*, 2006). d'autres cas humains et équins ont été signalés en Tunisie en 1997 (KORBA *et al.*, 2016). La compétence vectorielle de *Culex pipiens* pour cette maladie a été prouvée expérimentalement dans plusieurs régions du monde. Par ailleurs, en plus de cette compétence vectorielle, les femelles infectées de cette espèce sont capables de transmettre le virus à leur progéniture ce qui fait de ce moustique le premier suspect du maintien et de la transmission de l'enzootie du virus West Nile (FARAJ *et al.*, 2006).

Ils sont aussi des vecteurs de *Wuchereria bancrofti*, responsable de la filariose lymphatique chez l'homme (MURIEL, 2005). En Afrique du Nord, *Culex pipiens* est un vecteur compétent de plusieurs agents pathogènes infectant les animaux et les humains, y compris le virus de la fièvre de la vallée du Rift (RVFV) (KORBA *et al.*, 2016).

### **1.6. – Maladies transmises par *Culex pipiens* en Algérie**

En Algérie, le virus West Nile a provoqué une épidémie importante dans la région de Timimoune en 1994, des cas isolés d'encéphalite chez l'homme avec des cas mortels (BERCHI *et al.*, 2012).

*Culex pipiens* est l'espèce de moustique la plus répandue et un vecteur efficace du virus West Nile et, dans une moindre mesure, du RVFV dans des conditions expérimentales. Le premier isolement du WNV en Algérie a eu lieu à Djanet, au sud-est du pays, en 1968. Le virus a été isolé dans un pool de 215 moustiques appartenant au genre *Culex*. En 1994, le virus est à nouveau apparu, provoquant une épidémie impliquant 50 cas humains, dont huit décès à Tinerkouk (département d'Adrar, sud-est de l'Algérie) (KORBA *et al.*, 2016).

Ce moustique présente le plus d'intérêt en raison de son abondance et sa nuisance réelle dans les zones urbaines. Son développement dans certaines régions est continu pendant toute l'année (BERCHI *et al.*, 2012).

## **1.7. – Moyens de lutte anti-vectorielle**

Une lutte anti-vectorielle efficace passe par une forte surveillance entomologique et des approches intégrées qui s'attaquent à chacune des étapes de la vie du moustique, et impliquent à part entière les communautés (WASH, 2016). En sélectionnant la méthode de lutte anti-vectorielle la plus appropriée, ou une combinaison de méthodes, on doit s'assurer de prendre en compte l'écosystème local et le comportement des espèces ciblées, les ressources disponibles pour l'implémentation de ces méthodes, le contexte culturel dans lequel ces interventions sont réalisées, la perception et les comportements de la population affectée, la faisabilité de les appliquer en temps opportun, ainsi que le juste niveau de couverture (WASH, 2016).

La lutte anti-vectorielle peut être dirigée contre les larves ou les adultes (CARNEVAL, 1995). Cependant la prévention de la transmission des maladies transmises par les moustiques peut être atteinte par le biais du contrôle des immatures moustiques, ce contrôle est avantageux parce que les larves sont habituellement concentrées relativement immobiles et occupent un habitat minimal comparativement aux adultes (IMBAHALE *et al.*, 2011).

Une gestion des gîtes larvaires correctement réalisée peut contribuer à réduire le nombre des moustiques endophages et exophages et elle est utile dans la lutte contre les maladies à transmission vectorielle (O.M.S, 2013).

D'après BALDACCHINO *et al.* (2015), les méthodes de lutte peuvent être divisées en plusieurs catégories :

- Gestion de l'environnement par la réduction des sources de propagation et la protection personnelle ;
- Chimique par l'utilisation des régulateurs de croissance d'insectes et des larvicides ;
- Biologique par l'introduction d'organismes pouvant être des prédateurs, des parasites, afin de concurrencer ou réduire les populations des espèces ciblées ;
- Génétique : technique de l'insecte stérile et des moustiques génétiquement modifiés.

### **1.7.1. – Lutte anti-imaginale**

La lutte contre les adultes peut faire appel à des méthodes physiques, chimiques ou génétiques (BAWIN *et al.*, 2015) qui ont leurs avantages et inconvénients mais dont il importe de connaître les conditions d'emploi et les limites en termes d'efficience et d'efficacité (CARNEVAL, 1995). Dans le tableau 1 sont résumés les différents types de la lutte anti-imaginale.

**Tableau 1** – Différents types de la lutte anti-vectorielle (anti-imaginale)

Type de lutte	Principe	Méthode / mode d'action
Anti-imaginale	Physique Rendre les lieux de ponte inaccessibles aux moustiques adultes (W.H.O O.M.S, 1999) Empêcher le moustique de piquer l'homme (CARNEVAL, 1995)	Installer les habitations humaines à distance des gîtes larvaires (CARNEVAL, 1995) Interposer une barrière (grillage de fenêtres. moustiquaires) (CARNEVAL, 1995) Disposer du bétail entre les gîtes larvaires et les maisons (CARNEVAL, 1995)
	Chimique Elle fait appel à des produits sélectifs comme les pesticides et les perturbateurs de croissance des insectes (PCIs) (SOLTANI, 2015)	Généralement appliqués sous forme de pulvérisations grossières ou fines de solutions d'huile, émulsions, les poussières ou poudres mouillables (O.M.S, 1999)
	Génétique Altération ou un remplacement du matériel héréditaire des moustiques (RESNIK, 2012)	Technique de libération d'insectes stériles (SIT) Introduction de facteurs génétiques dans les populations sauvages qui rendent les parasites inoffensifs pour les humains (PATES et CURTIS, 2005)

### 1.7.2. – La lutte anti-larvaire

La méthode la plus efficace de lutte contre les moustiques est le "larvicide", ou le traitement des endroits où les larves de moustiques sont présentes (DEBESS, 2003). Cette lutte peut faire appel à des méthodes physiques, chimiques et biologiques (CARNEVAL, 1995). Cependant la compréhension du choix des sites de ponte et du comportement de dispersion est importante pour la conception avec succès des programmes de lutte contre les larves (PATES et CURTIS, 2005). En milieu urbain, la lutte anti-larvaire est souvent plus économique que la destruction des imagos (O.M.S, 1999). Dans le tableau 2 sont résumés les différents types de la lutte anti-larvaire.

**Tableau 2** – Différents types de la lutte anti-vectorielle (anti-larvaire)

Type de lutte	Principe	Méthode / mode d'action	
Anti-larvaire	Physique	Eliminer les lieux de ponte ou les modifier pour que les larves ne puissent plus s'y développer	Comblant ou en asséchant définitivement les mares et les marécages (O.M.S, 1999)
		Modifier les lieux susceptibles de servir de gîtes larvaires (O.M.S, 1999)	- désherbant et en curant périodiquement les étangs et les canaux (O.M.S, 1999)
	Chimique	Utilisation des larvicides (molécules chimiques neurotoxiques) (SOLTANI, 2015)	Agissant sur le système nerveux et les muscles (SOLTANI, 2015)
	Biologique	Régulation des populations d'un ravageur par ses ennemis naturels qui est un organisme entomophage (prédateur ou parasitoïdes) ou entomo-pathogène (champignon, bactérie, virus ou nématode) (ABBOUBAKAR, 2018)	Entomophage : l'utilisation à succès de Copépodes du genre <i>Mesocyclops</i> dans des récipients de stockage d'eau permettant d'éliminer les stades immatures d' <i>Aedes aegypti</i> au Vietnam (NAM <i>et al.</i> , 2012) Entomo-pathogène : Ces pathogènes possèdent la capacité de surpasser les défenses de l'insecte hôte et de l'infecter ; ils s'y multiplient ensuite et provoquent sa mort à long terme que ce soit par l'émission de substances toxiques et/ou la destruction de certains tissus (BAWIN <i>et al.</i> , 2015)

### 1.7.3. – Résistance des moustiques aux insecticides synthétiques

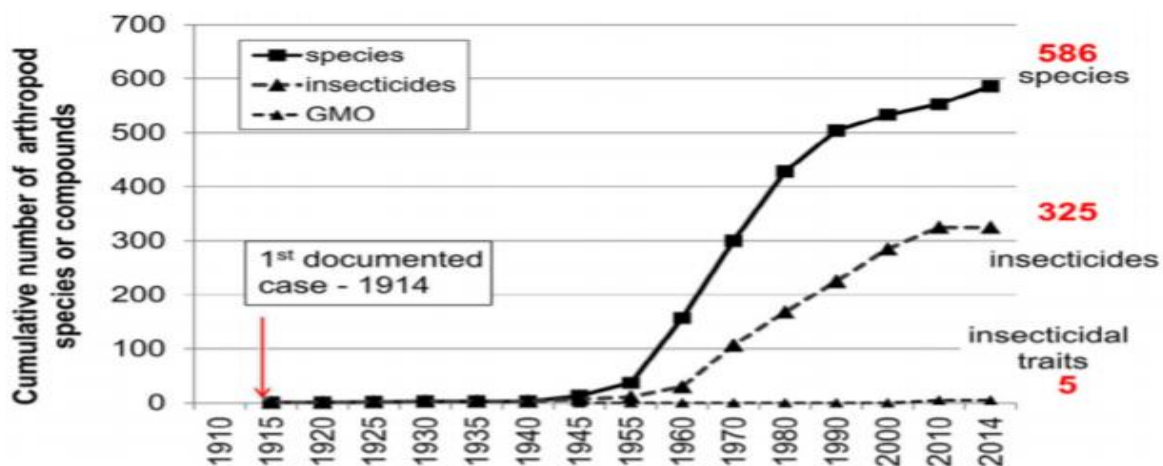
Depuis le premier rapport sur la résistance des moustiques aux insecticides à hydrocarbures chlorés, l'effort de recherche visant à comprendre le développement de la résistance aux insecticides chez les moustiques a été intense, avec un total de plus de 1.500 documents de recherche originaux et revues publiées dans des revues scientifiques (LIU, 2015). La résistance, en particulier, et la résistance croisée qui s'ensuit à d'autres insecticides

sont des questions cruciales et ont entraîné la réémergence de vecteurs d'insectes – maladies transmises dans de nombreuses régions du monde. La résistance accrue des moustiques aux insecticides a été dans plus de 60 pays, affectant toutes les principales espèces vectorielles et toutes les classes d'insecticides (LIU, 2015).

La résistance aux insecticides peut être définie comme «un changement héréditaire de la sensibilité d'une population de parasite qui se reflète dans l'échec répété d'un produit pour atteindre le niveau attendu en fonction de la recommandation de l'étiquette pour cette espèce de parasite. Cette résistance résulte de la surutilisation ou l'utilisation abusive d'un insecticide contre une espèce de parasite et les résultats sont une sélection des formes résistantes nuisibles de l'organisme et l'évolution conséquente des populations résistantes à cet insecticide (IRAC, 2018).

Les principaux facteurs favorisant le développement de la résistance sont la fréquence d'application, la dose, la pérennité de l'effet en plus les moustiques ont toutes les caractéristiques qui conviennent la sélection de résistance, y compris les cycles de vie courts progéniture abondante et d'autres caractéristiques inhérentes. C'est pourquoi, le développement de nouvelles molécules à faible risque écotoxicologique est recherché (SOLTANI, 2015 ; KARUNARATNE *et al.*, 2018).

Selon SPARKS et NAUEN (2014), le nombre cumulé d'espèces résistantes aux insecticides s'élève à 586. Tandis que le nombre d'insecticides pour lesquels il y a résistance est de 325 molécules.



(SPARKS et NAUEN, 2014)

**Figure 13 :** Nombre cumulé d'espèces résistantes aux insecticides, d'insecticides pour lesquels il y a résistance et d'OGM dont la résistance a été rapportée

Dans le tableau 3 se résumé le principe de chaque mécanisme de résistance.

**Tableau 3** – Les trois types majeurs de mécanismes de résistance (LIU, 2015 ; KARUNARATNE *et al.*, 2018)

Mécanisme	Principe
Résistance métabolique	Changements dans les systèmes enzymatiques d'insectes conduisant à une rapide détoxification ou séquestration d'insecticides
Résistance au site ciblé	Altérations des sites cibles empêchant leur liaison aux insecticides
Résistance cuticulaire	Réduction de la pénétration des insecticides en épaissement ou modification de la composition chimique de la cuticule

### 1.8. – Contrôle des moustiques par les extraits de plantes

Certaines plantes sont connues pour leur capacité à synthétiser des métabolites secondaires à propriétés insecticides. Ces métabolites pourront être exploités dans le domaine de la lutte contre les insectes ravageurs ou vecteurs d'agents infectieux (ACHEUK, 2017).

Depuis des siècles l'homme a utilisé certaines plantes comme insecticides naturels tels que l'hellébore et le tabac, en effet le pyrèthre, la nicotine et la roténone sont déjà connus comme agents de lutte contre les insectes (GROSBY, 1966)

L'efficacité des extraits de plantes se résident dans la nature de la matière active, d'une molécule d'origine commune (Terpénoïdes, tanins et composées phénoliques), ou spécifique à chaque plante (MERABTI, 2015). Leurs activités sont multiples. Ils induisent une toxicité fumigante et topique aussi des effets anti-appétant ou répulsifs. Ils sont toxiques pour les adultes mais inhibent également la reproduction (REGNAULT-ROGER, 1997).

La toxicité de ces produits naturels peut varier en fonction des facteurs intrinsèques des insectes. C'est-à-dire, les moustiques peuvent être plus résistants que d'autres (MERABTI, 2015). En Algérie l'utilisation des produits naturels, spécifiquement les extraits des plantes, comme type de lutte contre les moustiques a commencé de se développer, à travers une multitude des travaux récentes (MERABTI *et al.*,2015 ; AOUATI,2016 ; ACHEUK *et al.*,2017 ; MERABTI *et al.*,2017; MATOUG *et al.*,2017 ; BENHISSEN *et al.*, 2018)





# *Chapitre 2 : Matériel*

## *et Méthodes*





## Chapitre 2 : Matériel et méthodes

### 2.1. – Choix et description des sites de prélèvement des moustiques

La collecte des moustiques est réalisée pendant le mois d'avril au niveau de l'hippodrome Sidi Nail ou se fait l'élevage des chevaux et la course, situé à Djelfa centre et occupe une superficie environ de 75216.88 m<sup>2</sup> dont les coordonnées géographiques sont 34° 40' de latitude Nord et 3 ° 15' de longitude Est (Fig. 14) (GOOGLE EARTH, 2019).

Le choix a été basé sur quelques critères tels que :

- ✓ Il est bordé par Oued El Maleh riche en matière organique ;
- ✓ La disponibilité des conditions de vie des moustiques (la présence de l'homme et des chevaux en vie collective, la verdure, les bassins d'eaux ...) ;
- ✓ Des prospections préliminaires prouvant la présence des larves.

Ces eaux de bassins constituent des gîtes larvaires artificielles se renouvèlent chaque 15 jours et même plus contenant de l'eau non traité mélangé avec des feuilles d'arbres, quelques résidus de l'alimentation des chevaux et quelques arthropodes morts (Fig. 15).

Les espèces rencontrées au cours de nos prospections sont *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*. La première espèce est la plus fréquente et abondante. C'est pour cette raison que nous avons choisi de travailler sur le *Culex pipiens*.



(Google Earth, 2019)

**Figure 14 :** Présentation du site de prélèvement des larves



(Originale)

Figure 15 : Présentation de différentes gîtes larvaires

## 2.2. – Méthodes de capture des moustiques sur le terrain

### 2.2.1. – Méthode de capture des larves

Le prélèvement est effectué en suivant la méthode de trempage qui consiste à plonger dans l'eau une louche en plastique puis déplacer d'un mouvement uniforme, en repérant les larves par leur morphologie et par leur position horizontale à la surface de l'eau. Les larves regroupées sont élevées dans des récipients contenant de l'eau du gîte qui seront par la suite transportés directement au laboratoire (BENDALI et al. 2001).

### 2.2.2. – Méthode de capture des adultes

Dans le cas le plus fréquent, où la densité des moustiques est faible la récolte se fait manuellement à l'aide d'un aspirateur à bouche (BAILLY-CHOUMARA, 1973) au niveau des bords de bassins et des végétations. On le pose délicatement sur le moustique au repos,

lorsqu'on aspire l'insecte s'envole vers le fond, ensuite on les déplace dans des tubes fermés et aérés, après on les introduit à l'intérieur de la cage d'élevage (BENDALI-SAOUDI, 1989).



(Originale)

**Figure 16 :** Les outils utilisés pour la capture des larves

### **2.2.3. – Trie et identification des espèces capturées**

Au laboratoire, les larves capturées sont triées par stade larvaire puis transférées dans des récipients contenant de l'eau du gîte pour l'élevage. Seules les larves ayant atteint le quatrième stade font l'objet d'une identification fiable. Le montage s'est fait essentiellement par 4 étapes selon un protocole similaire à celui utilisé par Matile (1993) :

D'abord on procède à un éclaircissement dans une solution de potasse (10 g KOH /100 ml eau distillée) pendant 10 mn pour rendre la chitine transparente et détruire les tissus attachés aux cuticules facilitant ainsi l'observation (BENDALI-SAOUDI, 1989), puis on réalise un rinçage à l'eau distillée (3 bains de 2 à 5 minutes), par la suite on passe à la déshydratation par passage dans l'éthanol (96°) durant 15 minutes pour éliminer l'eau contenue dans l'échantillon et enfin le montage s'effectue entre lame et lamelle dans une goutte de Baume de Canada afin d'être observées sous la loupe binoculaire et le microscope numérique (MESSAI *et al.*, 2010).

Pour la détermination, nous avons utilisé le logiciel d'identification des Culicidae de l'Afrique méditerranéenne (BRHUNES *et al.*, 1999), qui permet l'identification en se basant sur un ensemble de critères et de descripteurs microscopiques très précis (Fig. 17).





(Originale)

**Figure 17 :** Matériels utilisés pour l'identification des larves

### 2.3. – Description de la technique d'élevage des moustiques au laboratoire

L'élevage des moustiques a fait, ces dernières années, des progrès considérables grâce surtout aux recherches sur les insecticides. Les succès d'un élevage dépendent, avant tout, de la possibilité d'obtenir, au laboratoire, des conditions favorables au développement de l'espèce à élever.

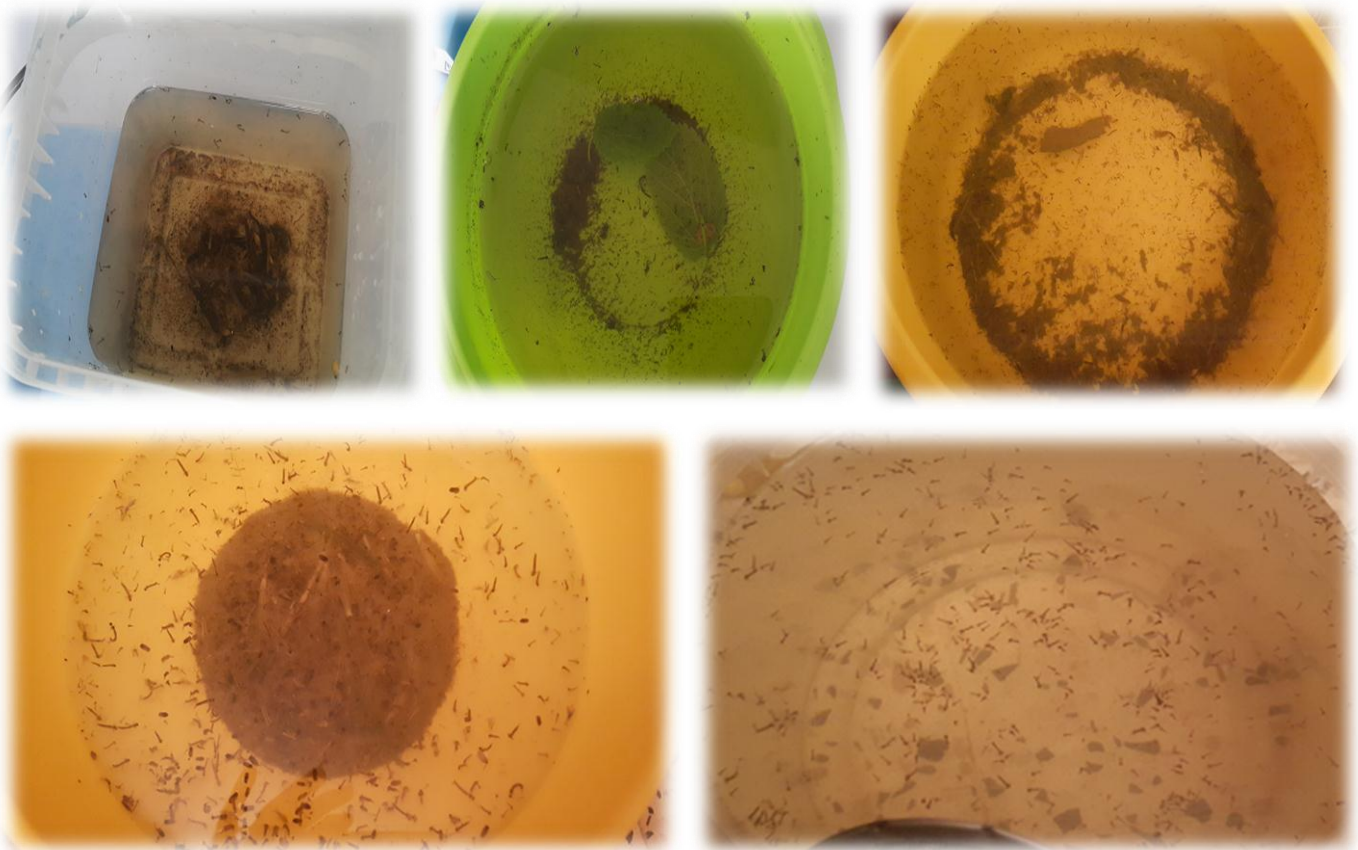
La mise au point d'un milieu de culture pour une espèce donnée de moustique devrait partir de certaines connaissances de base sur les besoins alimentaires des larves (COLUZZ, 1971).

Les larves de moustiques, quant à elles, ont pour la plupart une alimentation constituée de phytoplancton, de bactérioplancton, d'algues microscopiques et de particules de matière organique en suspension dans l'eau du gîte (HBM, 2014).

Pour cela ; on a effectué un élevage semi-naturel dans des récipients contenant de l'eau et de la nourriture avec renouvellement chaque deux jours (BENDALI, 1989). Afin d'être sûrs qu'elles aient presque les mêmes conditions de vie.

**A l'état larvaire:** Les œufs, les larves et les nymphes de moustiques récoltés au niveau de la station ont été ramenés au laboratoire, une partie d'entre elles a été identifiées, et une autre partie a été mise à l'élevage pour obtenir les stades adultes.

Les larves sont élevées dans des récipients contenant l'eau de gîte et pour assurer un bon développement, une petite quantité de nourriture est ajoutée.(Fig. 18). Cette dernière est un mélange de biscuit (75 %) et de levure de bière (25 %) (REHIMI et SOLTANI, 1999). Lorsque les larves atteignent le stade nymphal, elles sont disposées dans des cages où elles se transformeront en adultes (BENDALI-SAOUDI, 2006).



**(Originale)**

**Figure 18 : Méthode d'élevage des larves**

**A l'état adulte :** L'élevage des moustiques a été réalisé au laboratoire dans des cages de forme cubique avec une armature en bois couverte de verre. Le côté supérieur est pourvu d'un tulle permettant l'introduction de la main. Les Culicidae sont nourris de framboise et de tampons de coton imbibés d'eau sucrée, qui suffisent à leur survie, sans avoir recours à une alimentation sanguine (HBM, 2014).

Cependant, le repas sanguin, indispensable à la ponte a été fourni par l'introduction d'une boîte de Pétri contenant d'environ 5 ml de sang de cheval mélangé à de l'héparine (anticoagulant) recouverte d'un film plastique alimentaire que l'on étire (Fig. 19). Cette boîte de Pétri est alors placée sur la face supérieure de la cage, de manière à ce que le film alimentaire soit au contact du tulle, pour permettre aux femelles de le piquer afin de s'y alimenter (COUZIN, 2006), le sang donne un apport de protéines et de glucides, ce qui permettent à la femelle de pondre plus d'œufs par rapport aux femelles nourries de sucre seulement (WIGGLESWORTH, 1972).

Ainsi, des récipients contenant de l'eau de gîte plus des feuilles de plante dont les femelles effectuent leur ponte des œufs ont été déposés à l'intérieur des cages (BENDALI-SAOUDI, 1989)



(Originale)

Figure 19 : Méthode d'élevage des adultes

#### 2.4. – Choix et description des plantes choisies

Le choix des plantes est basé sur :

- ✓ L'utilisation traditionnelle et les propriétés pharmacologiques ;
- ✓ Les plantes steppiques abondantes de la région de Djelfa c'est-à-dire leurs disponibilités sur le terrain.

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué de la partie aérienne de 4 plantes : *Artemisia herba alba*, *Atriplex halimus*, *Rosmarinus officinalis* et *Thymus vulgaris*

Leur identification est faite par Mr. BRAGUE A., Inspecteur principal des forêts aux L'Institut National de Recherche Forestière de la wilaya de Djelfa.



Ces plantes ont été récoltées le mois de mai à partir des différentes régions de Djelfa. Après récupération des plantes, la partie aérienne a été bien nettoyée. Le séchage a été effectué naturellement à l'abri de la lumière et de l'humidité, à une température ambiante (environ 24°C), durant 15 jours, afin de préserver au maximum l'intégrité des molécules.

#### **2.4.1. – *Artemisia herba alba* Asso, 1779**

Le genre *Artemisia*, appartenant à la famille des Asteraceae, comprend environ 400 espèces, réparties dans les régions méditerranéennes, Afrique du Nord, Asie occidentale, Europe du Sud-Ouest et la péninsule Arabique. La flore algérienne comprend 13 espèces d'*Artemisia*, dont l'espèce la plus signalée, *A. herba-alba* Asso. (REKKAB *et al.*, 2016), communément connu comme absinthe blanche ou absinthe désertique (nom arabe Chih) (BELHATTAB *et al.*, 2012). C'est un arbuste nain vivace argenté qui pousse dans les zones arides et les climats semi-arides. Avec une croissance rapide dans les climats secs et chauds et dans les zones boueuses (TILAOU *et al.*, 2015).

En Algérie elle alterne avec des formations à Alfa occupant environ trois millions d'hectares et représente une importante ressource fourragère (BELHATTAB *et al.*, 2012). Les différentes espèces sont morphologiquement différentes les unes des autres en fonction de leur situation géographique, environnementale et climatique. (TILAOU *et al.*, 2015). *A. herba alba* est une herbe vivace d'argent verdâtre, pousse 20-40 cm de hauteur; c'est un chamaephyte, c'est à dire les bourgeons donnant lieu à une nouvelle croissance chaque année sont portés à proximité du sol (Fig. 20).



**(Originale)**

**Figure 20 : *Artemisia herba alba***

Les tiges sont rigides et dressées. Les feuilles grises, des pousses stériles sont pétiolées, ovales à orbiculaires en contour, tandis que les feuilles de floraison sont beaucoup plus petites, et sont caractérisées par une forte odeur aromatique. Les têtes fleurissantes sont sessiles, oblongues et effilée à la base. La floraison et la récolte a lieu vers mai-juin et se poursuit jusqu'en octobre dans certaines régions (HOUMANI *et al.*, 2004; MOHAMED *et al.*, 2010 ; TILAOU *et al.*, 2015).

#### **2.4.2. – *Atriplex halimus* Linné, 1753**

L'*Atriplex* (NO.M.S vernaculaires français : Arroche halime ou pourpier de mer, Arabe : g'ttaf) est une plante halophyte arbustive de la famille des chénopodiacées avec environ 417 espèces, dont 48 dans le bassin méditerranéen (BRINIS, 2010), principalement dans ses régions limitrophes du Sud et de l'Est. La croissance de cette plante débute au printemps et continue à travers une longue saison sèche dans les zones arides et les parcours semi-arides (NEDJIMI, 2012). Ces plantes sont cultivées naturellement dans les terres touchées par le sel, comme dans les lacs salés, les marais, les marécages, les sols salés et les rives de la mer (NEDJIMI *et al.*, 2012). *Atriplex halimus* est un arbuste qui se ramifie presque de la base, peut croître de 1 à 3 m de haut, très rameux, formant des touffes pouvant atteindre 1 à 3 m de diamètre (ORTI'Z-DORDA *et al.*, 2005). Les feuilles sont alternes et nettement pétiolées, assez grande en générale deux fois plus longues que larges, plus ou moins charnues, luisantes, couvertes de poils vésiculeux blanchâtres (trichomes), ovales, entièrement ou légèrement sinuées, de 0,5 à 1 cm de large sur 2 à 4 cm de long (CHIKHI, 2013). Selon le même auteur, les fleurs sont jaunâtres, en épis allongés formant une panicule terminale nue ou peu feuillée à la base. Les tiges sont érigées, dressées et ligneuses (Fig. 21).



(Originale)

**Figure 21 : *Atriplex halimus***



Il existerait deux types d'architecture florale de base, l'une est constituée de fleurs mâles pentamères et l'autre de fleurs femelles munies d'un unique carpelle inséré entre deux bractées opposées. Ces plantes sont monoïques et portent des inflorescences en panicules d'épis, terminales, avec des fleurs mâles pentamères au sommet et des fleurs femelles munies d'un unique carpelle inséré entre deux bractées opposées à la base (ORTI'Z-DORDA *et al.*, 2005 ; NEDJIMI *et al.*, 2013). La floraison et la fructification se déroulent de mai à décembre.

#### **2.4.3. – *Rosmarinus officinalis* Linné, 1753**

*Rosmarinus officinalis* appartient à la famille Lamiaceae (WANG *et al.*, 2012). Le romarin est une plante domestique commune cultivée dans de nombreuses régions du monde. Il est largement répandu en Algérie (BOUTEKEDJIRET *et al.*, 2003).

Le Romarin est un arbrisseau aromatique touffu, rameux, d'environ 1 mètre de hauteur, très odorant qui pousse à l'état sauvage ou cultivé. Avec une tige lignifiée, des feuilles persistantes et enroulés pouvant atteindre 3 cm de long et 4 mm de large ; vertes sur la face supérieure et blanches sur la face inférieure (Fig. 22).



**(Originale)**

**Figure 22 : *Rosmarinus officinalis***

Elles sont étroites, opposées et épaisses. Les fleurs apparaissent dès janvier, de couleur bleu mauve, sous forme de grappes symétriques, le fruit est un akène qui sent le camphre (FADI, 2011 ; AOUATI, 2016). Le romarin est une épice et plante médicinale largement utilisée dans le monde entier. C'est une importante plante médicinale et aromatique qui a été cultivée pendant une longue période. (HCINI *et al.*, 2013). Il est cultivé pour l'huile précieuse, qui

peut être extraite des plantes récoltées quand les fleurs sont en boutons (HANNOUR *et al.*, 2017).

#### 2.4.4. – *Thymus vulgaris* Linné, 1753

*Thymus vulgaris* (Zaatar en arabe) est une espèce de plante à fleurs de la famille de Lamiaceae, originaire du sud de l'Europe, de l'ouest de la Méditerranée jusqu'au sud de l'Italie (MIRAJ et KIANI, 2016). Le thym est représenté par plus de 300 espèces à travers le monde dont 12 sont localisées en Algérie et 9 d'entre elles sont endémiques (BENMADHI et ABIDA, 2018).

Le nom « Thymus » dérive du mot grec « thymos » qui signifie « parfumer » à cause de l'odeur agréable que la plante dégage, l'espèce *Thymus vulgaris* est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connu surtout pour ses qualités aromatiques (BENMADHI et ABIDA, 2018). C'est une plante herbacée de la section, se développe dans les régions montagneuses poussant bien dans un climat tempéré à chaud, sec et ensoleillé caractéristique de la garrigue, et partout où les plantes ne semblent pas être ombragées (CHARLES, 1989 ; DAUQAN et ABDULLAH, 2017). Le thym est un minuscule arbuste vivace au feuillage persistant couvre-sol qui atteint rarement (40 cm) à l'horizontale et habitudes droites, les tiges deviennent ligneuses avec l'âge (DAUQAN et ABDULLAH, 2017). Les feuilles de *T. vulgaris* sont ovales à forme rectangulaire selon la variété, chaque espèce ayant un parfum assez complètement différent, aux marges révolutes, sont linéaires ou étroitement lancéolées et de taille variable, ponctuées, glanduleuses et de couleur verte à gris bleu sur la face supérieure, elles sont velues et blanchâtres sur la face inférieure (Fig. 23).



(AOUATI, 2016)

**Figure 23 :** *Thymus vulgaris*

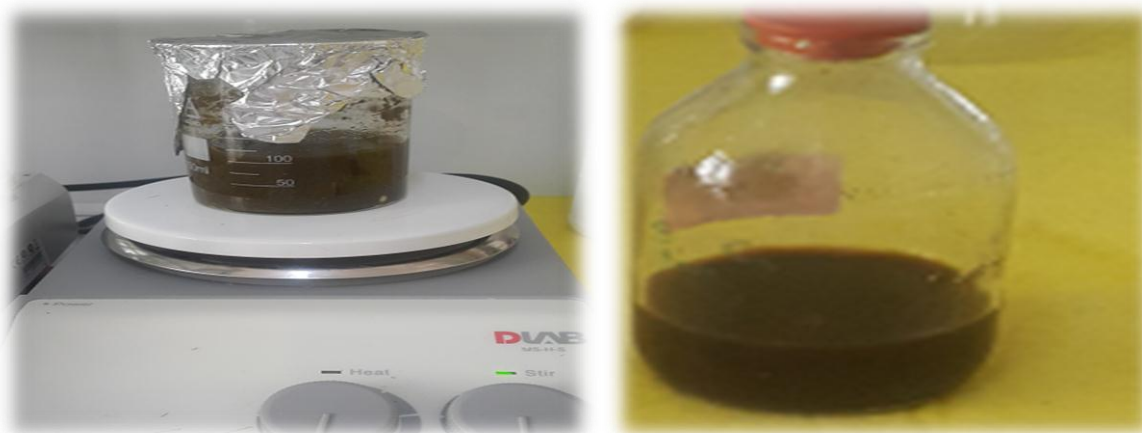
Les fleurs sont violettes ou roses au début de l'été et présentent des tailles différentes selon le sexe gynodioïque. Les feuilles, les fleurs et les tiges herbacées recèlent des poils glandulaires contenant l'huile essentielle, et d'autres poils protecteurs, constituant la villosité des feuilles et des tiges, les protègent de l'évaporation (ASSOUAD et VALDEYRON, 1975 ; CHARLES, 1989).

## 2.5. – Méthodologie adoptée pour la préparation des extraits aqueux

L'extraction a été réalisée par décoction. Cette méthode d'extraction a été effectuée selon le protocole décrit par KONKON *et al.* (2006) en y apportant quelques modifications :

- Broyer le matériel végétal dans un moulin électrique en poudre très fine (utilisé pour les extraits aqueux), pour augmenter la surface d'échange entre le solide et le solvant et faciliter l'extraction ;
- Peser 10 gramme de plantes séchées ;
- Ajouter 100 ml d'eau distillée, puis agiter doucement ;
- Chauffer le mélange pendant 30 minutes.
- Laisser le mélange refroidir à la température ambiante ;
- Filtrer sur un papier filtre Wathman n °1 ;
- Répéter la filtration 3 fois.

Après on obtient l'extrait aqueux (Fig. 24). Dans le but de donner une signification plus logique aux quantités de matières végétales solubles dans les extraits aqueux, ce dernier a été lyophilisé pour le réduire en poudre, dont la quantité est exprimée en mg. Cela permet d'exprimer les concentrations létales des résidus secs solubles dans l'eau en mg/l.



(Originale)

Figure 24 : L'extrait aqueux préparé

Selon GENIN (1966), la lyophilisation est un procédé de conservation d'une substance, d'un corps, et notamment de produits alimentaires et pharmaceutiques, consistant en une congélation rapide et une déshydratation presque totale du produit concerné, qui est ensuite conservé sous vide à température ambiante (Fig. 25). Le but de la lyophilisation est d'obtenir un produit facilement soluble dans l'eau et qui, après addition d'eau, présente les mêmes caractéristiques que le produit d'origine.



**(Originale)**

**Figure 25 :** Photographie représentant l'appareil lyophilisateur

## **2.6. – Méthodologie adoptée pour l'extraction des huiles essentielles**

L'huile essentielle a été obtenue après 4 étapes principales, l'hydrodistillation, l'extraction liquide-liquide, l'élimination de l'eau et l'élimination du solvant.

### **2.6.1. – Hydrodistillation**

On introduit une quantité de 50 g de la plante séchée préalablement découpée dans un ballon de 1000 ml, puis on transvase une quantité de 500 ml d'eau distillée et on agite l'ensemble (Fig. 26). Le ballon est ensuite placé dans un montage d'hydro distillation en utilisant un appareil de type Clevenger (CLEVENGER, 1928) selon les recommandations de la pharmacopée hellénique (HELLENIC PHARMACOPOEI, 2002).

Le principe consiste à les porter à ébullition. Les cellules végétales éclatent et libèrent les molécules odorantes, lesquelles sont alors entraînées par la vapeur d'eau créée. Au contact des parois du réfrigérant, les vapeurs chaudes se condensent et s'écoulent au goutte à goutte dans un récipient où elles forment le distillat (Fig. 27). Ce dernier est un mélange de deux phases non miscibles (huiles essentielle + eau) (TOUR, 2015).





(Originale)

**Figure 26** : Photographie représentant le montage de l'hydrodistillation



(Originale)

**Figure 27** : Photographie représentant le distillat obtenu

### 2.6.2. – Extraction liquide-liquide

L'extraction est simple, elle consiste à extraire en une seule étape le maximum de soluté initialement présent dans le distillat par un solvant (ABE, 2010). Ce solvant sera choisi en fonction de son pouvoir dissolvant vis-à-vis de l'huile essentielle (de l'éther di éthylique dans notre cas), on met le distillat dans une ampoule à décantier, puis on ajoute le solvant et on ferme l'ampoule, une agitation énergique est pratiquée pendant un temps nécessaire à l'établissement d'un équilibre de concentration entre les deux phases et on dégaze, après on la fixe sur un support avec l'enlèvement de couvercle (Fig. 28). À la fin on récupère chaque phase dans un récipient approprié (ABE, 2010).



(Originale)

**Figure 28** : Photographie représentant l'extraction liquide-liquide

### 2.6.3. – Elimination de l'eau

Pour éliminer toute trace d'eau, la phase organique est séchée par l'ajout de quelque gramme de sulfate de magnésium anhydre  $MgSO_4$ , puis on filtre à l'aide du papier filtre (FEKNOUS *et al.*, 2014).

### 2.6.4. – Elimination du solvant

Le liquide obtenu dans l'étape précédente est versé dans un ballon approprié, puis fixé à un évaporateur rotatif pour réaliser une distillation simple sous pression réduite avec une température de 37 °C (Fig. 29). Le solvant s'évapore et les vapeurs ainsi formées sont condensées par le réfrigérant et se liquéfie dans un récipient différent (MECQUENEM *et al.*, 2018). L'huile obtenue (Fig. 30) est conservée dans des flacons en verre stériles hermétiquement fermées à l'abri de la lumière et à une température de 4 °C.



(Originale)

**Figure 29** : Photographie représentant un appareil Rotavapor



(Originale)

**Figure 30 :** Les huiles essentielles obtenues

## **2.7. – Analyse de la composition chimique par chromatographie en phase gazeuse et couplage chromatographie en phase gazeuse – spectrométrie de masse**

La composition chimique de l'huile essentielle a été analysée par chromatographie en phase gazeuse couplé à la spectrométrie de masse (CG/MS), ce qui permet à la fois une détermination qualitative et quantitative des composés majoritaires.

Les analyses ont été élaborées par Monsieur KACIMI ELHASSANI M., responsable des analyses au niveau du laboratoire de recherche de Chimie Organique et Substances Naturelles dépendant de l'université de Djelfa. Les analyses ont été effectuées durant le mois de juin de l'année en cours. Un rapport d'analyse de chaque huile essentielle a été transmis aux demandeurs après interprétation des chromatogrammes et élucidation des compositions chimiques des échantillons en question.

### **2.7.1. – Préparation des échantillons**

Une partie de l'échantillon (2-5  $\mu$ l) a été transférée dans un flacon de GC, diluée dans de l'hexane (1-2 ml), puis scellée avec un septum haute performance (DELAZAR et al., 2004).

### **2.7.2 – Conditions analytiques**

L'identification des constituants a été réalisée par couplage d'un Chromatographe en phase gazeuse de type Clarus 680 Perkin Elmer couplé au spectromètre de masse Clarus SQ 8 T. La Rtx-5MS en silice fondue (30 mx 0,25 mm ID, 0,25  $\mu$ m df, RESTEK, USA) est directement couplée au spectromètre de masse (DELAZAR *et al.*, 2004).

Le gaz vecteur était de l'hélium (1 ml / min). Le programme utilisé était 2 min isotherme à 60 °C, puis 3 °C / min à 160 °C, puis 6 °C / min à 240 °C pendant 2 min. La température de



l'orifice d'injection était de 250 °C et la température du détecteur de 240 °C. L'ionisation des composants de l'échantillon a été réalisée en mode EI (70 eV). La plage de balayage MS allait de 30 à 300 amu (DELAZAR *et al.*, 2004).

Les constituants individuels ont été identifiés en comparant leurs spectres de masse aux spectres stockés dans la base de données spectrales de masse NIST / EPA / NIH. Version 2.0 g, version du 19 mai 2011.

## **2.8. – Réalisation des tests toxicologiques**

Les tests de sensibilité ont été réalisés conformément au protocole préconisé par l'Organisation Mondiale de la Santé, adoptée pour tester la sensibilité des larves, vis-à-vis des insecticides utilisés en campagnes de lutte (W.H.O, 2005). Ce test est réalisé sur 2 stades larvaires, les larves du 4<sup>ème</sup> stade et les nymphes de *Culex pipiens*.

Un test préliminaire (1 ml d'éthanol de 96° et 99 ml eau de gîte) est effectué pour mettre en évidence que le solvant (éthanol) n'a aucun effet larvicide. Le solvant joue le rôle d'agent de dispersion de l'huile essentielle dans l'eau.

En plus, des tests préliminaires du mélange (solvant + huile essentielle) avec différentes doses sont réalisés, afin de sélectionner une gamme de concentrations avant d'entamer le test de toxicité.

### **2.8.1. – Choix des doses**

Dans ce qui va suivre est développé le choix des doses pour le traitement des larves et des nymphes par les huiles essentielles. Par la suite nous exposons le choix des doses pour le traitement des larves et des nymphes par les extraits aqueux.

#### **2.8.1.1. – Traitement des larves et des nymphes par les huiles essentielles**

Conformément aux recommandations de l'Organisation mondiale de la Santé (O.M.S), trois dilutions de 10 %, 50 % et 100 % ont été préparées pour chaque plante à partir de l'extrait initial (solution stock 1 %) (Tab. 4).

**Tableau 4** – Choix des doses des huiles essentielles appliquées contre les larves et les nymphes de *Culex pipiens*

N°	Plante choisie	Stade à traiter	Dose de solution stock %	Concentration (µl/ml)	Temp. (°C)	Humidité relative (%)
1	<i>Artemisia herba alba</i>	Larve	1 %	1 µl/ml	25 - 26	25 - 30
	<i>Atriplex halimus</i>			5 µl/ml		
	<i>Rosmarinus officinalis</i>					
	<i>Thymus vulgaris</i>			10 µl/ml		
2	<i>Artemisia herba alba</i>	Nymphe	1 %	1 µl/ml	25 - 26	25 - 30
	<i>Atriplex halimus</i>			5 µl/ml		
	<i>Rosmarinus officinalis</i>					
	<i>Thymus vulgaris</i>			10 µl/ml		

#### 2.8.1.2. – Traitement des larves et des nymphes par les extraits aqueux

Conformément aux recommandations de l'organisation mondiale de la Santé (O.M.S), trois concentrations ont été choisies 20 mg/ml, 100 mg/ml, 200 mg/ml à partir d'une solution stock 10 % (Tab. 5).

**Tableau 5** – Choix des doses des extraits aqueux appliqués contre les larves et les nymphes de *Culex pipiens*

N°	Plante choisie	Stade à traiter	Dose de solution stock %	Concentration (mg/ml)	Temp. (°C)	Humidité relative (%)
1	<i>Artemisia herba alba</i>	Larve	10 %	20 mg/ml	25 - 26	25 - 30
	<i>Atriplex halimus</i>			100 mg/ml		
	<i>Rosmarinus officinalis</i>					
	<i>Thymus vulgaris</i>			200 mg/ml		
2	<i>Artemisia herba alba</i>	Nymphe	10 %	20 mg/ml	25 - 26	25 - 30
	<i>Atriplex halimus</i>			100 mg/ml		
	<i>Rosmarinus officinalis</i>					
	<i>Thymus vulgaris</i>			200 mg/ml		

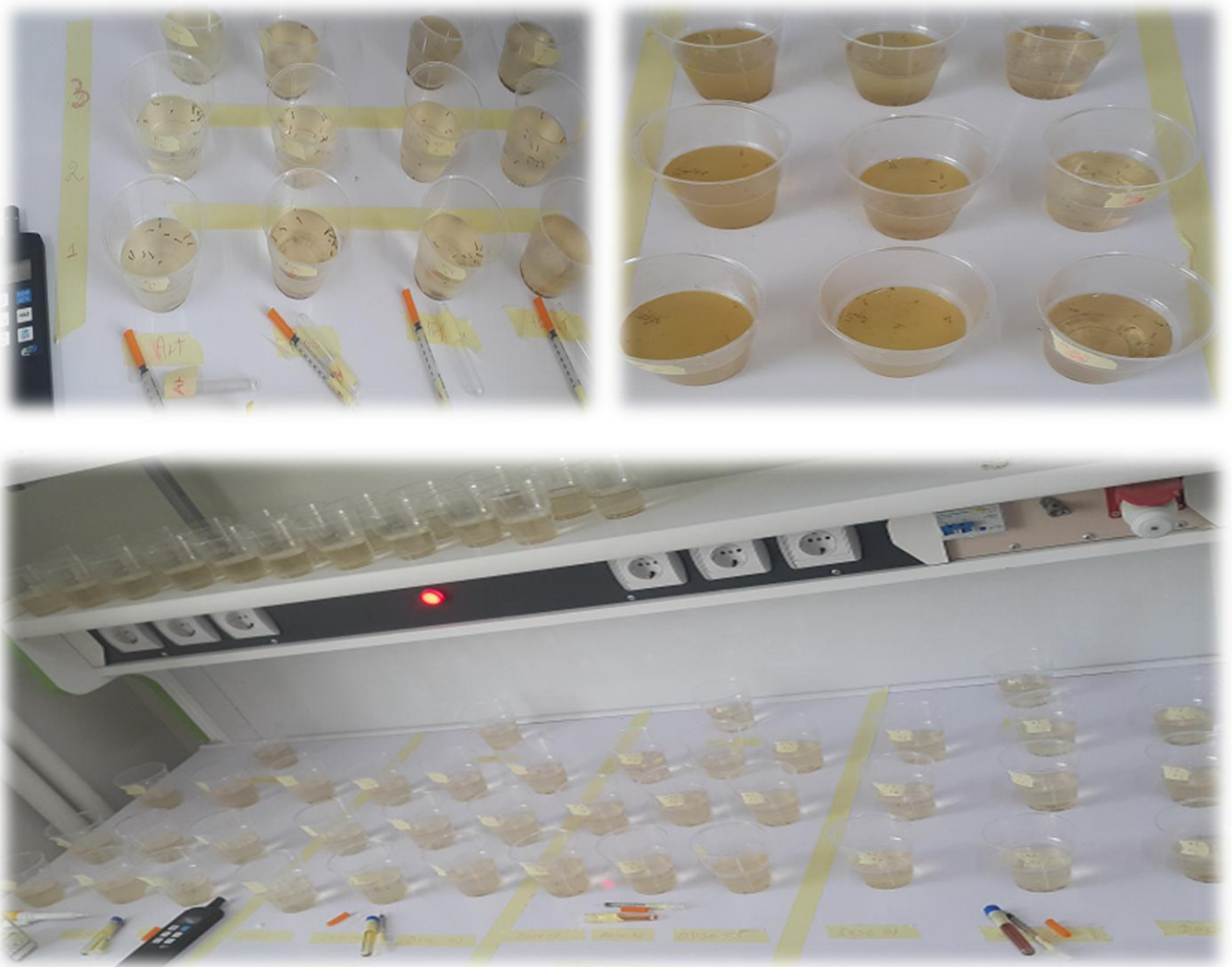
#### 2.8.2. – Méthode d'application

Au total 15 individus (larves\ nymphes) ont été prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur et mises dans des gobelets dont le diamètre varie entre 4,5 cm (la base) et 7,5 cm (sommet), contenant chacun 99 ml d'eau du gîte puis en ajoutant un millilitre de chaque solution ainsi diluée dans les gobelets précédemment préparés. Le même nombre des individus a été placé dans un gobelet témoin contenant 100 ml d'eau du gîte. Trois répétitions

ont été réalisées pour chaque dilution ainsi que pour le témoin. Les taux de mortalité ont été évalués après 24h, 48h et 72 h (Fig. 31).

## 2.9. – Analyse numérique des données

Afin de bien évaluer l'activité larvicide et nymphicide des extraits aqueux et des huiles essentielles sur les larves du 4<sup>ème</sup> stade et les nymphes, quelques mesures ont été faites commençant par le calcul du taux de mortalité qui présente le premier critère de jugement de l'efficacité d'un traitement chimique ou biologique.



(Originale)

**Figure 31** : Photographie représentant les essais effectués sur les larves et les nymphes au laboratoire

### 2.9.1. – Rendement d'extraction des huiles essentielles et des extraits aqueux

Le rendement d'extraction est calculé par la formule donnée par FALLEH *et al.* (2008) :

$$R (\%) = (M_{ext} / M_{éch.}) * 100$$

Où : R est le rendement en %;  $M_{ext}$  est la masse de l'extrait après évaporation du solvant en g et  $M_{éch.}$  est la masse sèche de l'échantillon végétal en g.

### 2.9.2. – Taux de mortalité des larves et des nymphes

Les larves et les nymphes moribondes sont celles qui présentent une réaction lente aux différentes excitations dont l'objectif est la distinguassions les vivantes de celle mortes.

Il est calculé par le rapport suivant :

$$\text{Taux de mortalité \%} = (\text{Nombre de larves mortes} / \text{Nombre total des larves}) \times 100$$

Le test est considéré valide si le pourcentage de mortalité chez les témoins est inférieur à 5 % ou compris entre 5% et 20%.

Si le pourcentage de mortalité chez les témoins est compris entre 5% et 20%, la mortalité après exposition doit être corrigée en utilisant la formule d'Abbott (ABBOTT, 1925) :

$$M_c = [(M_2 - M_1) / (100 - M_1)] \times 100$$

$M_c$  : pourcentage de mortalité corrigée ;

$M_1$  : pourcentage de mortalité dans le lot témoin ;

$M_2$  : pourcentage de mortalité dans le lot traité.

Si la mortalité chez les témoins excède 20 %, le test est invalide et doit être recommencé. (O.M.S, 2004).

### 2.9.3. – Analyse statistique des données

Selon MORICE (1972), il est indispensable de vérifier la normalité avant d'utiliser les tests statistiques, en appliquant le test de normalité pour examiner si des données réelles

suivent une loi normale ou non, permettant éventuellement d'être en mesure de juger que la population échantillonnée est probablement une population normalement distribuée.

La dose létale 50 (DL50) et 90 (DL90) sont les doses qui induisent la mortalité de 50% et 90% de la population ciblée, elles sont calculées à partir de la droite de régression des probits ( $y = ax + b$ ) correspondants aux nombres des mortalités en fonction des doses de traitement.

Le temps léthal 50 (TL50) et 90 (TL90) sont les temps nécessaires pour que périssent 50 % et 90 % des individus exposés à une dose déterminée (RAMADE, 2007). Ils sont calculés à partir de la droite de régression des probits correspondant aux nombres des mortalités en fonction des temps de traitement.

Les valeurs obtenues sont considérées en tant que moyennes. L'exploitation de ces résultats est étudiée par l'analyse de la variance, qui permet suivant le niveau de la signification de déterminer l'influence des facteurs étudiés ou des interactions entre les facteurs. C'est un cas d'ANOVA à un facteur (la dose) équilibré puisque le nombre de répétitions est le même pour les différentes doses utilisées.

La probabilité inférieure à 0,05 donne un effet significatif et une probabilité supérieure à 0,05 on considère que l'effet n'est pas significatif (SIEGEL, 2016).

La différence entre les doses a été testée en utilisant le test de Fisher. Ce test permet la comparaison multiple des doses des extraits aqueux et des huiles essentielles.

Les calculs et les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du programme IBM SPSS Statistics 23 sur Windows en suivant les recommandations d'un support méthodologique pour la pratique (LEFEVRE et MOREAU, 2009).



## *Chapitre 3 :*

## *Résultats*



**Chapitre 3** : Résultat sur l'effet des extraits de plantes et les huiles essentielles sur les larves et les nymphes de *Culex pipiens*

### 3.1. – Rendement d'extraction des huiles essentielles

Dans le tableau 6 est enregistré le rendement d'extraction des huiles essentielles de chaque plante.

**Tableau 6** – Rendement d'extraction des huiles essentielles de chaque plante

Espèce végétale	Poids de l'huile essentielle extraite (g)	Poids de la plante traitée (g)	Rendement %
<i>Artemisia herba alba</i>	3	200	1,5
	1,07	200	0,54
<i>Atriplex halimus</i>	0,75	350	0,21
<i>Rosmarinus officinalis</i>	2,97	200	1,49
	1,38	300	0,46
<i>Thymus vulgaris</i>	2,15	50	4,3

Il ressort du tableau 6 que la plante *Thymus vulgaris* possède un rendement plus élevé avec 4,3 % par rapport au rendement des autres plantes.

### 3.2. – Rendement de lyophilisation des extraits aqueux

Dans le tableau 7 est noté le rendement de lyophilisation des extraits aqueux de chaque plante.

**Tableau 7** – Rendement de lyophilisation des extraits aqueux de chaque plante

Espèce végétale	Poids de l'extrait récupéré (g)	Poids de la plante traitée (g)	Rendement %
<i>Artemisia herba alba</i>	2,34	10	23,4
<i>Atriplex halimus</i>	2,44	10	24,4
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,95	10	9,5
<i>Thymus vulgaris</i>	1,89	10	18,9

Il ressort du tableau 7 que la plante *Atriplex halimus* et *Artemisia herba alba* possèdent un rendement élevé avec des pourcentages respectifs de 24,4 % et 23,4 %.



### 3.3. – Taux de mortalité des larves traitées par les extraits aqueux et les huiles essentielles

Dans ce qui va suivre est présenté le taux de mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade traitées par les extraits aqueux, puis celle testées par les huiles essentielles.

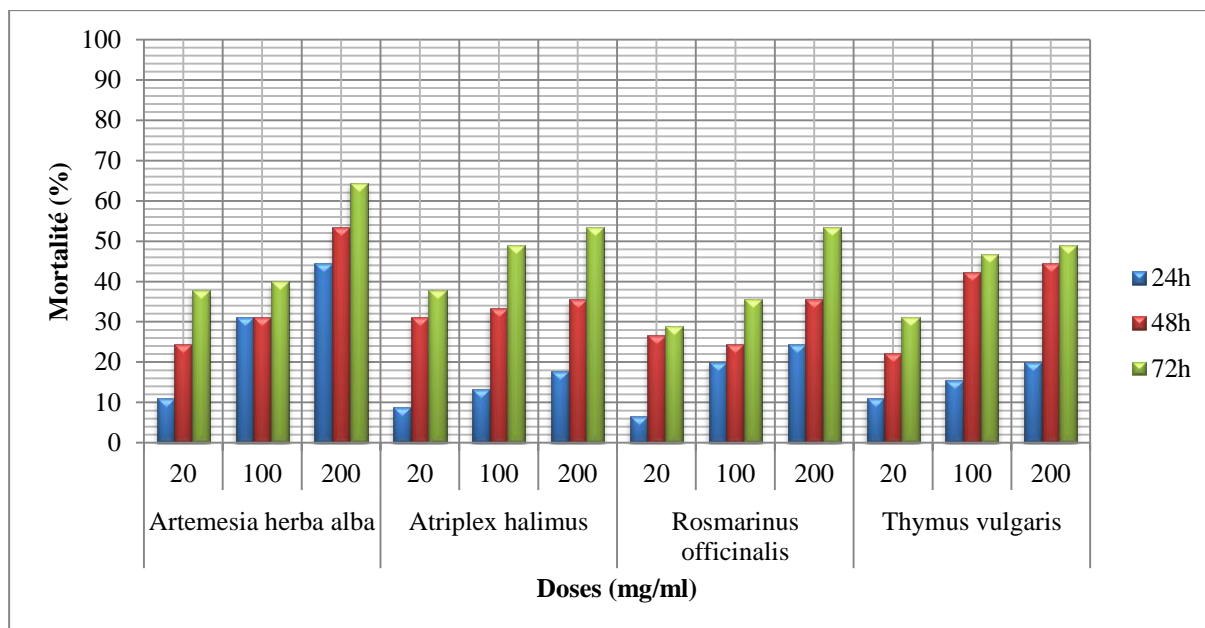
#### 3.3.1. – Taux de mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade traitées par les extrais aqueux

Dans le tableau 8 sont notés les taux de mortalité des larves (L4) obtenu après traitement par 4 extraits aqueux.

**Tableau 8** – Toxicité des extraits aqueux sur les larves (L4) de *Culex pipiens*

Essai	Extrait de la plante	Concentration (mg/ml)	Mortalité des larves traitées (%)			Mortalité de témoin %
			24h	48h	72h	24h, 48h, 72h
1	<i>Artemisia herba alba</i>	20	11,13	24,47	37,80	0
		100	31,13	31,13	40,00	0
		200	44,47	53,33	64,47	0
2	<i>Atriplex halimus</i>	20	8,87	31,13	37,80	0
		100	13,33	33,33	48,87	0
		200	17,80	35,53	53,33	0
3	<i>Rosmarinus officinalis</i>	20	6,67	26,67	28,87	0
		100	20,00	24,47	35,53	0
		200	24,47	35,53	53,33	0
4	<i>Thymus vulgaris</i>	20	11,13	22,20	31,13	0
		100	15,53	42,20	46,67	0
		200	20,00	44,47	48,87	0

Le taux de mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade traitées par les extrais aqueux varie entre 6,7 % et 64,5 %. Après 24 heures, 48 heures et 72 heures de traitement, l'extrait qui a le meilleur effet larvicide est celui d'*Artemisia herba alba* avec des taux respectifs de 44,5 %, de 53,33 % et de 64,5 % avec l'utilisation de la dose 200 mg/ml. Cependant l'extrait aqueux qui a le moindre effet est celui de *Rosmarinus officinalis* avec 6,7 % de mortalité après 24 heures avec la dose de 20 mg/ml et 28,9 % de mortalité après 72 heures avec la dose de 20 mg/ml (Fig. 32).



**Figure 32 :** Evolution de la mortalité chez les larves (L4) de *Culex pipiens* traitées par les différentes doses des extraits aqueux de 4 plantes

### 3.3.2. – Taux de mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade traitées par les huiles essentielles

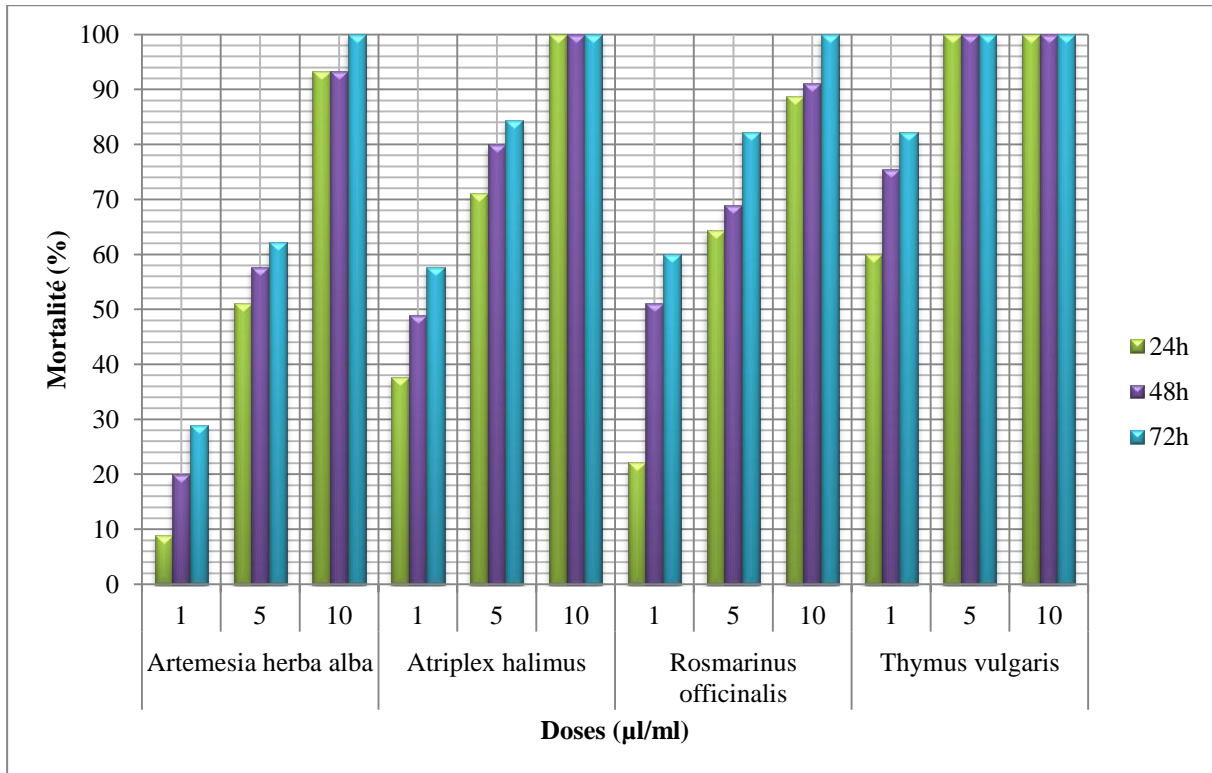
Dans le tableau 9 sont enregistrés les taux de mortalité des larves (L4) obtenu après traitement par les huiles essentielles de 4 espèces végétales.

**Tableau 9 –** Toxicité des huiles essentielles sur les larves (L4) de *Culex pipiens*

Essai	Huile essentielle	Concentration (µl/ml)	Mortalité des larves traitées (%)			Mortalité de témoin % 24h, 48h, 72h
			24h	48h	72h	
1	<i>Artemisia herba alba</i>	1	8,87	20	28,87	0
		5	51,13	57,80	62,20	0
		10	93,33	93,33	100	0
2	<i>Atriplex halimus</i>	1	37,80	48,87	57,80	0
		5	71,13	80	84,47	0
		10	100	100	100	0
3	<i>Rosmarinus officinalis</i>	1	22,2	51,13	60	0
		5	64,47	68,87	82,2	0
		10	88,87	91,13	100	0
4	<i>Thymus vulgaris</i>	1	60	75,53	82,2	0
		5	100	100	100	0
		10	100	100	100	0

Le taux de mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade traitées par les huiles essentielles varie entre 8,9 % et 100 %. Après 24 heures, 48 heures et 72 heures de traitement, les huiles essentielles de

*Thymus vulgaris* montrent une toxicité importante sur les larves (L4) avec une mortalité de 100 % avec la dose de 5  $\mu\text{l/ml}$  et 10  $\mu\text{l/ml}$ . De même pour les huiles d'*Atriplex halimus* révèlent une mortalité de 100 % avec la dose de 10  $\mu\text{l/ml}$ . Les huiles d'*Artemisia herba alba* et de *Rosmarinus officinalis* montrent une mortalité de 100 % avec la dose de 10  $\mu\text{l/ml}$  après 72 heures de traitement (Fig. 33).



**Figure 33 :** Evolution de la mortalité chez les larves (L4) de *Culex pipiens* traitées par les différentes doses des huiles essentielles de 4 plantes

### 3.4. – Taux de mortalité des nymphes traitées par les extraits aqueux et les huiles essentielles

Dans ce qui va suivre est présenté le taux de mortalité des nymphes traitées par les extraits aqueux, puis celle testées par les huiles essentielles.

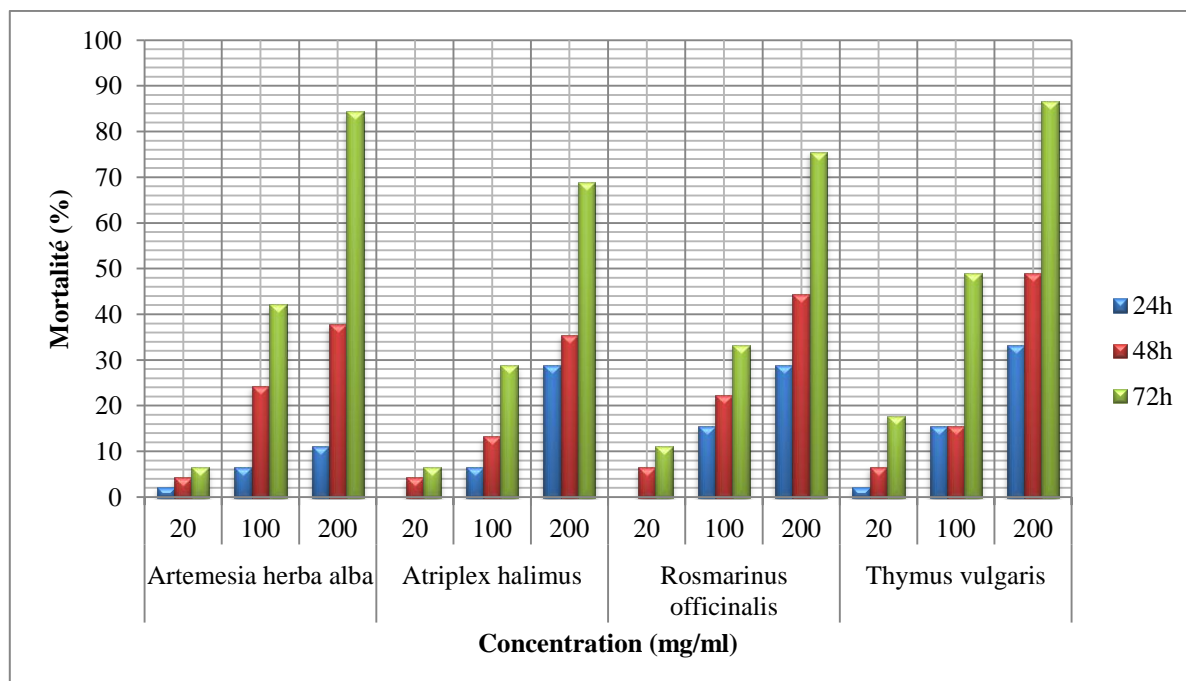
#### 3.4.1. – Taux de mortalité des nymphes traitées par les extraits aqueux

Dans le tableau 10 sont notés les taux de mortalité des nymphes obtenu après traitement par les extraits aqueux de 4 espèces végétales.

**Tableau 10** – Toxicité des extraits aqueux sur les nymphes de *Culex pipiens*

Essai	Extrait de la plante	Concentration (mg/ml)	Mortalité des larves traitées (%)			Mortalité de témoin %
			24h	48h	72h	24h, 48h, 72h
1	<i>Artemisia herba alba</i>	20	2,2	4,47	6,67	0
		100	6,67	24,47	42,2	0
		200	11,13	37,80	84,47	0
2	<i>Atriplex halimus</i>	20	0	4,47	6,67	0
		100	6,67	13,33	28,87	0
		200	28,87	35,53	68,87	0
3	<i>Rosmarinus officinalis</i>	20	0	6,67	11,13	0
		100	15,53	22,2	33,33	0
		200	28,87	44,47	75,53	0
4	<i>Thymus vulgaris</i>	20	2,2	6,67	17,80	0
		100	15,53	15,53	48,87	0
		200	33,33	48,87	86,67	0

Il est à constater que le taux de mortalité des nymphes après le traitement par les extraits aqueux des plantes augmente avec la dose et la durée d'exposition. Le maximum de mortalité est noté après 72 heures pour les quatre extraits avec des pourcentages variables. L'extrait de *Thymus vulgaris* montre un taux de mortalité de 86,7 % avec la dose de 200 mg/ml, celui d'*Artemisia herba alba* révèle 84,4 % de mortalité (dose = 200 mg/ml), par la suite l'extrait de *Rosmarinus officinalis* enregistre un taux de 75,5 % avec la même dose, puis l'extrait d'*Atriplex halimus* montre un taux de 68,9 % (Fig. 34).



**Figure 34** : Evolution de la mortalité chez les nymphes de *Culex pipiens* traitées par les différentes doses des extraits aqueux de 4 plantes

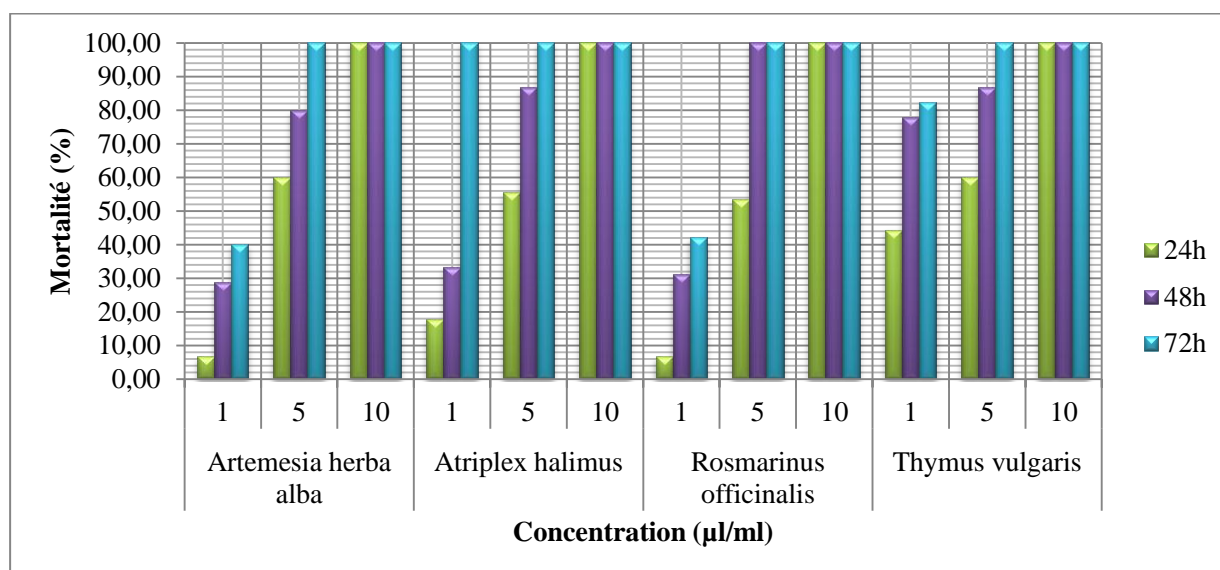
### 3.4.2. – Taux de mortalité des nymphes traitées par les huiles essentielles

Dans le tableau 11 sont répertoriés les taux de mortalité des nymphes obtenu après traitement par les huiles essentielles de 4 espèces végétales.

**Tableau 11** – Toxicité des huiles essentielles sur les nymphes de *Culex pipiens*

Essai	Huile essentielle	Concentration (µl/ml)	Mortalité des larves traitées (%)			Mortalité de témoin % 24h, 48h, 72h
			24h	48h	72h	
1	<i>Artemisia herba alba</i>	1	6,67	28,87	40	0
		5	60,00	80	100	0
		10	100	100	100	0
2	<i>Atriplex halimus</i>	1	17,80	33,33	100	0
		5	55,53	86,67	100	0
		10	100	100	100	0
3	<i>Rosmarinus officinalis</i>	1	6,67	31,13	44,47	0
		5	53,33	80	100	0
		10	100	100	100	0
4	<i>Thymus vulgaris</i>	1	22,2	37,80	44,47	0
		5	60	86,67	100	0
		10	100	100	100	0

Le taux de mortalité des nymphes traitées par les huiles essentielles varie entre 6,7 % et 100 %. Ce taux augmente avec la dose et la durée d'exposition. Exception faite pour la dose de 10 µl/ml, où la mortalité enregistrée à partir de 24 heures est de 100 % après le traitement des nymphes par les huiles essentielles des quatre plantes (Fig. 35).





**Figure 35 :** Evolution de mortalité chez les nymphes de *Culex pipiens* traitées par les différentes doses des huiles essentielles de 4 plantes

### 3.5. – Estimation de la dose létale 50 (DL50) et 90 (DL90)

Dans cette partie est exposé la DL50 et DL90 obtenue après traitement des larves (L4) et des nymphes par les extraits aqueux et les huiles essentielles.

#### 3.5.1. – Estimation de DL50 et DL90 obtenue après le traitement des larves (L4) par les extraits aqueux

Dans le tableau 12 sont répertoriés les paramètres toxicologiques des 4 extraits aqueux appliqués contre les larves (L4) de *Culex pipiens* pendant 24h, 48h et 72h.

**Tableau 12** – Dose létale 50 et 90 des différents extraits aqueux (probits en fonction de la dose)

Plante	Temps (heure)	Equation de régression	DL50	DL90	R <sup>2</sup>
<i>Artemisia herba alba</i>	24h	$Y = -1,25 + 5,91E-3x$	214,231	441,279	0,97
	48h	$Y = -0,83 + 4,38 E-3x$	189,989	479,430	0,98
	72h	$Y = -0,48 + 3,89 E-3x$	123,918	453,511	0,93
<i>Atriplex halimus</i>	24h	$Y = -1,38 + 2,33E-3x$	597,498	1155,270	0,99
	48h	$Y = -0,5 + 6,8E-4x$	742,514	2629,330	1,00
	72h	$Y = -0,32 + 2,16 E-3x$	146,339	742,372	0,95
<i>Rosmarinus officinalis</i>	24h	$Y = -1,48 + 4,36 E-3x$	357,140	679,909	0,92
	48h	$Y = -0,72 + 1,47 E-3x$	479,497	1331,791	0,78
	72h	$Y = -0,67 + 3,6 E-3x$	184,522	538,267	0,98
<i>Thymus vulgaris</i>	24h	$Y = -1,25 + 2,5 E-3x$	599,692	1215,674	0,99
	48h	$Y = -0,73 + 3,35 E-3x$	218,344	613,913	0,87
	72h	$Y = -0,47 + 2,5 E-3x$	187,702	706,412	0,89

Les larves de *Culex pipiens* exposées pendant 24h, 48h et 72h aux quatre extraits aqueux présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées. Les valeurs du coefficient de détermination sont supérieures à 0,60 pour tous les essais effectués. La mortalité larvaire de *Culex pipiens* après le traitement avec l'extrait aqueux d'*Artemisia herba alba* révèle que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 214,2 mg/ml et 441,3 mg/ml après 24h, et 189,9 mg/ml et 479,4 mg/ml après 48h, et 123,9 mg/ml et 453,5 mg/ml après 72h d'exposition. L'utilisation d'*Atriplex halimus* montre que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 597,5 mg/ml et 1155,2 mg/ml après 24h et 742,5 mg/ml et 2629,3 mg/ml après 48 h, et 146,3 mg/ml et 742,3 mg/ml après 72h d'exposition. Quant aux extraits

aqueux de *Rosmarinus officinalis* révèle que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 357,1 mg/ml et 679,9 mg/ml après 24h et 479,4 mg/ml et 1331,7 mg/ml après 48 h, et 184,5 mg/ml et 538,2 mg/ml après 72h d'exposition. Les valeurs de DL50 et DL90 obtenues après traitement avec les extraits aqueux de *Thymus vulgaris* sont de 599,6 mg/ml et 1215,6 mg/ml après 24h et 218,3 mg/ml et 613,9 mg/ml après 48h et 187,7 mg/ml et 706,4 mg/ml après 72h d'exposition.

### 3.5.2. – Estimation de DL50 et DL90 obtenue après le traitement des larves (L4) par les huiles essentielles

Dans le tableau 13 sont répertoriés les paramètres toxicologiques des 4 huiles essentielles appliquées contre les larves (L4) de *Culex pipiens* pendant 24h, 48h et 72h.

**Tableau 13** – Dose létale 50 et 90 des différentes huiles essentielles (probits en fonction de la dose)

Plante	Temps (heure)	Equation de régression	DL50	DL90	R <sup>2</sup>
<i>Artemisia herba alba</i>	24h	Y = -1,62 + 0,32x	5,081	9,128	0,998
	48h	Y = -1,1 + 0,26x	4,241	9,166	1
	72h	Y = -0,77 + 0,22x	3,278	7,573	1
<i>Atriplex halimus</i>	24h	Y = -0,53 + 0,22x	2,418	6,980	1
	48h	Y = -0,25 + 0,22x	1,318	6,151	1
	72h	Y = -8,91 E-3 + 0,2x	0,404	5,577	1
<i>Rosmarinus officinalis</i>	24h	Y = -0,89 + 0,22x	4,005	9,762	0,979
	48h	Y = -0,17 + 0,15x	1,073	9,963	0,989
	72h	Y = 0,09 + 0,17x	0,181	5,828	1
<i>Thymus vulgaris</i>	24h	*	0,830	1,750	*
	48h	*	0,533	1,444	*
	72h	*	0,282	1,312	*

\* : Mortalité égale à 100 % à partir de la 2<sup>ème</sup> dose

Les larves de *Culex pipiens* exposées pendant 24h, 48h et 72h aux quatre huiles essentielles présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées. Les valeurs du coefficient de détermination sont supérieures à 0,97 pour tous les essais effectués. La mortalité larvaire de *Culex pipiens* après le traitement avec les huiles essentielles d'*Artemisia herba alba* révèle que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 5,081 µl/ml et 9,128 µl/ml après 24h et 4,241 µl/ml et 9,166 µl/ml après 48 h, et 3,278 µl/ml et 7,573 µl/ml après 72h d'exposition. L'utilisation de l'huile essentielle d'*Atriplex halimus* montre que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 2,418 µl/ml et 6,980 µl/ml après 24h et 1,318 µl/ml et

6,151 µl/ml après 48 h, et 0,404 µl/ml et 5,577 µl/ml après 72h d'exposition. Quant aux huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* révèle que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 4,005 µl/ml et 9,762 µl/ml après 24h et 1,073 µl/ml et 9,963 µl/ml après 48 h, et 0,181 µl/ml et 5,828 µl/ml après 72h d'exposition. Les valeurs de DL50 et DL90 obtenues après traitement avec les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* sont de 0,830 µl/ml et 1,750 µl/ml après 24h et 0,533 µl/ml et 1,444 µl/ml après 48h et 0,282 µl/ml et 1,312 µl/ml après 72h d'exposition.

### 3.5.3. – Estimation de DL50 et DL90 obtenue après le traitement des nymphes par les extraits aqueux

Dans le tableau 14 sont répertoriés les paramètres toxicologiques des 4 extraits aqueux appliqués contre les nymphes de *Culex pipiens* pendant 24h, 48h et 72h.

**Tableau 14** – Dose létale 50 et 90 des différents extraits aqueux (probits en fonction de la dose)

Plante	Temps (heure)	Equation de régression	DL50	DL90	R <sup>2</sup>
<i>Artemisia herba alba</i>	24h	$Y = -2,04 + 4,33E-3x$	497,416	816,739	0,97
	48h	$Y = -1,71 + 7,58E-3x$	234,592	424,597	0,95
	72h	$Y = -1,71 + 0,01x$	121,400	215,283	1,00
<i>Atriplex halimus</i>	24h	$Y = -2,44 + 9,44E-3x$	248,709	365,921	1,00
	48h	$Y = -1,85 + 7,42E-3x$	250,003	422,897	1,00
	72h	$Y = -1,7 + 0,01x$	153,799	270,870	1,00
<i>Rosmarinus officinalis</i>	24h	$Y = -1,47 + 4,57E-3x$	257,555	414,051	1,00
	48h	$Y = -1,6 + 7,5E-3x$	215,626	391,671	0,99
	72h	$Y = -1,46 + 0,01x$	137,043	256,637	1,00
<i>Thymus vulgaris</i>	24h	$Y = -2,08 + 8,67E-3x$	249,463	414,248	0,98
	48h	$Y = -1,73 + 8,25E-3x$	206,968	356,978	0,99
	72h	$Y = -1,15 + 0,01x$	102,110	215,376	1,00

Les nymphes de *Culex pipiens* exposées pendant 24h, 48h et 72h aux quatre extraits aqueux présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées. Les valeurs du coefficient de détermination sont supérieures à 0,90 pour tous les essais effectués. La mortalité des nymphes de *Culex pipiens* après le traitement avec les extraits aqueux d'*Artemisia herba alba* révèle que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 497,4 mg/ml et 816,7 mg/ml après 24h et 234,5 mg/ml et 424,5 mg/ml après 48 h, et 121,4 mg/ml et 215,2 mg/ml après 72h d'exposition. L'utilisation de l'extrait aqueux d'*Atriplex halimus* montre que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 248,7 mg/ml et 365,9 mg/ml

après 24h et 250 mg/ml et 422,8 mg/ml après 48 h, et 153,7 mg/ml et 270,8 mg/ml après 72h d'exposition. Quant à l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* révèle que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 257,5 mg/ml et 414 mg/ml après 24h et 215,6 mg/ml et 391,6 mg/ml après 48 h, et 137 mg/ml et 256,6 mg/ml après 72h d'exposition. Les valeurs de DL50 et DL90 obtenues après traitement avec l'extrait aqueux de *Thymus vulgaris* sont de 249,4 mg/ml et 414,2 mg/ml après 24h et 206,9 mg/ml et 356,9 mg/ml après 48h et 102,1 mg/ml et 215,3 mg/ml après 72h d'exposition.

### 3.5.4. – Estimation de DL50 et DL90 obtenue après le traitement des nymphes par les huiles essentielles

Dans le tableau 15 sont répertoriés les paramètres toxicologiques des 4 huiles essentielles appliquées contre les nymphes de *Culex pipiens* pendant 24h, 48h et 72h.

**Tableau 15** – Dose létale 50 et 90 des différents huiles essentielles (probits en fonction de la dose)

Plante	Temps (heure)	Equation de régression	DL50	DL90	R <sup>2</sup>
<i>Artemisia herba alba</i>	24h	$Y = -1,94 + 0,44x$	4,356	7,110	1
	48h	$Y = -0,91 + 0,35x$	2,579	6,075	1
	72h	*	1,213	2,288	*
<i>Atriplex halimus</i>	24h	$Y = -1,19 + 0,27x$	4,080	7,785	1
	48h	$Y = -0,82 + 0,39x$	2,117	5,387	1
	72h	*	1,024	2,091	*
<i>Rosmarinus officinalis</i>	24h	$Y = -1,9 + 0,4x$	4,628	7,508	1
	48h	$Y = -0,83 + 0,33x$	2,464	6,093	1
	72h	*	1,168	2,261	*
<i>Thymus vulgaris</i>	24h	$Y = -0,93 + 0,24x$	3,591	7,646	1
	48h	$Y = 0,67 + 0,36x$	1,883	5,391	1
	72h	*	1,024	2,091	*

\* : Mortalité égale à 100 % à partir de la 2<sup>ème</sup> dose

Les nymphes de *Culex pipiens* exposées pendant 24h, 48h et 72h aux quatre huiles essentielles présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées. Les valeurs du coefficient de détermination sont supérieures à 0,99 pour tous les essais effectués. La mortalité des nymphes de *Culex pipiens* après le traitement avec l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* révèle que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 4,356 µl/ml et 7,110 µl/ml après 24h et 2,579 µl/ml et 6,075 µl/ml après 48 h, et 1,213 µl/ml et 2,288 µl/ml après 72h d'exposition. L'utilisation de l'huile essentielle d'*Atriplex halimus* montre que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 4,080 µl/ml et 7,785 µl/ml

après 24h et 2,117 µl/ml et 5,387 µl/ml après 48 h, et 1,024 µl/ml et 2,091 µl/ml après 72h d'exposition. Quant à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* révèle que les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 4,628 µl/ml et 7,508 µl/ml après 24h et 1,400 µl/ml et 2,437 µl/ml après 48 h, et 1,168 µl/ml et 2,261 µl/ml après 72h d'exposition. Les valeurs de DL50 et DL90 obtenues après traitement avec l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sont de 3,591 µl/ml et 7,646 µl/ml après 24h et 1,883 µl/ml et 5,391 µl/ml après 48h et 1,024 µl/ml et 2,091 µl/ml après 72h d'exposition.

### 3.6. – Estimation du temps léthal 50 (TL50) et 90 (TL90)

Dans cette section est exposé le TL50 et TL90 obtenue après traitement des larves (L4) et des nymphes par les extraits aqueux et les huiles essentielles.

#### 3.6.1. – Estimation de la TL50 et TL90 après le traitement des larves (L4) par les extraits aqueux

Dans le tableau 16 sont répertoriés les paramètres toxicologiques (TL50 et TL90) des 4 extraits aqueux appliqués contre les larves (L4) de *Culex pipiens*.

**Tableau 16** – Temps léthal 50 et 90 des différents extraits aqueux (probits en fonction du temps)

Plante	Dose (mg/ml)	Equation de régression	TL50 (h)	TL90 (h)	R <sup>2</sup>
<i>Artemisia herba alba</i>	20	Y = -1,65 + 0,02x	87,642	156,239	0,991
	100	Y = -0,65 + 5,01E-3x	129,519	382,330	0,75
	200	Y = -0,41 + 0,01x	38,220	158,936	0,995
<i>Atriplex halimus</i>	20	Y = -1,76 + 0,02x	82,929	147,011	0,877
	100	Y = -1,61 + 0,02x	71,458	129,500	0,979
	200	Y = -1,41 + 0,02x	67,271	128,560	0,997
<i>Rosmarinus officinalis</i>	20	Y = -1,84 + 0,02x	97,534	170,937	0,802
	100	Y = -1,11 + 9,81E-3x	111,944	240,925	0,956
	200	Y = -1,1 + 0,02x	68,133	146,876	0,990
<i>Thymus vulgaris</i>	20	Y = -1,56 + 0,02x	103,479	189,658	0,979
	100	Y = -1,36 + 0,02x	70,673	140,103	0,840
	200	Y = -1,15 + 0,02x	68,067	146,104	0,851

Les larves de *Culex pipiens* exposées à différentes doses de quatre extraits aqueux présentent des moyennes de mortalités corrélées aux temps. Les valeurs du coefficient de détermination sont supérieures à 0,70 pour tous les essais effectués. Le temps léthal TL(50) et TL(90) varie selon les doses et les extraits de plantes utilisés. L'extrait de la plante *Artemisia herba alba*

avec la dose de 200 mg/ml a permis de tuer 50 % de larves en un temps record par rapport aux autres extraits de plante avec 38 heures. Cependant l'extrait d'*Atriplex halimus* avec la dose de 100 mg/ml a permis de tuer 90 % de larves de *Culex pipiens* en 129,50 heures.

### 3.6.2. – Estimation de la TL50 et TL90 après le traitement des larves (L4) par les huiles essentielles

Dans le tableau 17 sont répertoriés les paramètres toxicologiques (TL50 et TL90) des 4 huiles essentielles appliquées contre les larves (L4) de *Culex pipiens*.

**Tableau 17** – Temps léthal 50 et 90 des différentes huiles essentielles (probits en fonction du temps)

Plante	Dose (µl/ml)	Equation de régression	TL50 (h)	TL90 (h)	R <sup>2</sup>
<i>Artemisia herba alba</i>	1	Y = -1,71 + 0,02x	104,910	184,869	0,974
	5	Y = -0,11 + 5,92E-3x	18,025	234,389	0,989
	10	*	*	*	*
<i>Atriplex halimus</i>	1	Y = -0,56 + 0,01x	52,583	173,828	0,995
	5	**	**	**	**
	10	*	*	*	*
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1	Y = -1,18 + 0,02x	55,396	116,794	0,907
	5	Y = 0,04 + 0,01x	6,364	109,454	0,907
	10	**	**	**	**
<i>Thymus vulgaris</i>	1	Y = -0,05 + 0,01x	4,023	94,474	0,969
	5	*	*	*	*
	10	*	*	*	*

\* : Mortalité égale à 100 % pour cette dose pour les 3 répétitions ; \*\* : Mortalité supérieure à 60 % en 24 heures

Les larves de *Culex pipiens* exposées à différentes doses de quatre huiles essentielles présentent des moyennes de mortalités corrélées aux temps. Les valeurs du coefficient de détermination sont supérieures à 0,90 pour tous les essais effectués. Le temps léthal TL(50) et TL(90) varie selon les doses et les extraits de plantes utilisés. Les huiles essentielles des quatre plantes ont permis de tuer 100 % de larves de *Culex pipiens* en un temps record avec la dose de 5 µl/ml et 10 µl/ml pour les plantes *Thymus vulgaris* et *Atriplex halimus* et avec seulement la dose de 10 µl/ml pour les plantes *Artemisia herba alba* et *Rosmarinus officinalis*.



### 3.6.3. – Estimation de la TL50 et TL90 après le traitement des nymphes par les extraits aqueux

Dans le tableau 18 sont répertoriés les paramètres toxicologiques (TL50 et TL90) des 4 extraits aqueux appliqués contre les nymphes de *Culex pipiens*.

**Tableau 18** – Temps léthal 50 et 90 des différents extraits aqueux (probits en fonction du temps)

Plante	Dose (mg/ml)	Equation de régression	TL50 (h)	TL90 (h)	R <sup>2</sup>
<i>Artemisia herba alba</i>	0,02	$Y = -2,25 + 0,01x$	214,971	338,038	0,987
	0,1	$Y = -2,1 + 0,03x$	78,043	127,021	0,981
	0,2	$Y = -2,41 + 0,05x$	52,196	79,467	0,989
<i>Atriplex halimus</i>	0,02	$Y = -2,12 + 8,54E-3x$	139,771	200,637	1
	0,1	$Y = -2 + 0,02x$	100,643	164,369	0,990
	0,2	$Y = -1,19 + 0,02x$	54,854	113,116	0,878
<i>Rosmarinus officinalis</i>	0,02	$Y = -2,06 + 0,01x$	119,318	172,130	1
	0,1	$Y = -1,32 + 0,01x$	108,187	212,850	0,993
	0,2	$Y = -1,25 + 0,03x$	48,342	97,724	0,964
<i>Thymus vulgaris</i>	0,02	$Y = -2,57 + 0,02x$	112,516	168,286	0,999
	0,1	$Y = -1,4 + 0,02x$	68,381	133,532	0,874
	0,2	$Y = -1,32 + 0,03x$	41,731	82,911	0,929

Les nymphes de *Culex pipiens* exposées à différentes doses de quatre extraits aqueux présentent des moyennes de mortalités corrélées aux temps. Les valeurs du coefficient de détermination sont supérieures à 0,90 pour tous les essais effectués. Le temps léthal TL(50) et TL(90) varie selon les doses et les extraits de plantes utilisés. L'extrait de la plante *Thymus vulgaris* avec la dose de 200 mg/ml a permis de tuer 50 % de larves en un temps record par rapport aux autres extraits de plante avec 41 heures. Cependant l'extrait de la plante *Artemisia herba alba* avec la dose de 200 mg/ml a permis de tuer 90 % de larves de *Culex pipiens* en 79 heures.

### 3.6.4 – Estimation de la TL50 et TL90 après le traitement des nymphes par les huiles essentielles

Dans le tableau 19 sont répertoriés les paramètres toxicologiques (TL50 et TL90) des 4 huiles essentielles appliquées contre les nymphes de *Culex pipiens*.

**Tableau 19** – Temps léthal 50 et 90 des différentes huiles essentielles (probits en fonction du temps)

Plante	Dose (µl/ml)	Equation de régression	TL50 (h)	TL90 (h)	R <sup>2</sup>
<i>Artemisia herba alba</i>	1	$Y = -2,02 + 0,03x$	79,077	132,479	0,919
	5	$Y = -0,33 + 0,02x$	19,693	53,257	1
	10	*	*	*	*
<i>Atriplex halimus</i>	1	$Y = -1,36 + 0,02x$	72,781	141,740	0,996
	5	$Y = -0,83 + 0,04x$	21,866	48,960	1
	10	*	*	*	*
<i>Rosmarinus officinalis</i>	1	$Y = -2,03 + 0,03x$	76,138	127,525	0,910
	5	$Y = -0,67 + 0,03x$	23,779	53,546	1
	10	*	*	*	*
<i>Thymus vulgaris</i>	1	$Y = -1,01 + 0,01x$	72,952	165,848	0,993
	5	$Y = -0,06 + 0,04x$	19,239	48,546	1
	10	*	*	*	*

\* : Mortalité égale à 100 % pour cette dose pour les 3 répétitions

Les nymphes de *Culex pipiens* exposées à différentes doses de quatre huiles essentielles présentent des moyennes de mortalités corrélées aux temps. Les valeurs du coefficient de détermination sont supérieures à 0,90 pour tous les essais effectués. Le temps léthal TL(50) et TL(90) varie selon les doses et les extraits de plantes utilisés. Les huiles essentielles des quatre plantes ont permis de tuer 100 % de larves de *Culex pipiens* en un temps record avec la dose de 10 µl/ml. Les huiles essentielles de la plante *Artemisia herba alba* et de *Thymus vulgaris* avec la dose de 5 µl/ml ont permis de tuer 50 % de larves en un temps record par rapport aux autres huiles essentielles avec 19 heures. Les huiles essentielles d'*Atriplex halimus* et de *Thymus vulgaris* avec la dose 5 µl/ml ont permis de tuer 90 % de larves de *Culex pipiens* en 48 heures.

### 3.7. – Composition chimique des huiles essentielles

Dans le tableau 20 sont mentionnés les pourcentages des principales molécules chimiques trouvées dans les huiles essentielles utilisées contre les larves et les nymphes de *Culex pipiens*.

**Tableau 20** – Pourcentage des molécules dominantes dans les huiles essentielles analysées

Plante	Molécule	Pourcentage
<i>Artemisia herba alba</i>	5-Hepten-3-one, 2-(5-ethenyltetrahydro-5-methyl-2-furanyl)-6-methyl-, [2S-	48,84

	[2 $\alpha$ (R*),5 $\alpha$ ]-	
<i>Atriplex halimus</i>	5-Hepten-3-one, 2-(5-ethenyltetrahydro-5-methyl-2-furanyl)-6-methyl-, [2S-[2 $\alpha$ (R*),5 $\alpha$ ]-	33,65
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Camphor	43,52
<i>Thymus vulgaris</i>	Phenol, 2-methyl-5-(1-methylethyl)-	38,47

Il ressort du tableau 20 que le pourcentage des molécules dominantes varie entre 33,65 % chez *Atriplex halimus* et 48,8 % chez *Artemisia herba alba*. Il est fort probable que ces molécules dominantes ont joué un rôle déterminant dans la mortalité des larves et nymphes de moutiques.

### 3.8. – Etude comparative des doses des huiles essentielles et des extraits aqueux utilisés contre les larves de *Culex pipiens*

#### 3.8.1. – Etude comparative des doses des huiles essentielles utilisées contre les larves de *Culex pipiens*

Les résultats de l'analyse de la variance concernant les variations des taux de mortalité des larves (L4) selon les doses des huiles essentielles sont mentionnés dans le tableau 21.

**Tableau 21** – Analyse de la variance appliquée aux variations du taux de mortalité des larves (L4) selon les doses des huiles essentielles utilisées

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F obs.	Probabilité
Modèle	2	83,1498	41,5749	7,71	0,01
Erreur	9	48,5540	5,3949		
Total corrigé	11	131,7038			

Il ressort du tableau 21, qu'il existe une différence significative entre les variations du taux de mortalité des larves (L4) de *Culex pipiens* selon les doses des huiles essentielles utilisées (F observé = 7,71 ; ddl = 2; P = 0,01). Le facteur dose représente une source de variabilité du taux de mortalité des larves.

Dans le tableau 22 sont comparées les différentes doses deux à deux.

**Tableau 22** – Comparaison deux à deux entre les doses par le test de Fisher (LSD)

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
Dose 3 vs Dose 1	6,4175	3,9074	2,7921	0,0090	Oui
Dose 3 vs Dose 2	2,6675	1,6242	2,7921	0,2852	Non
Dose 2 vs Dose 1	3,7500	2,2833	2,7921	0,1098	Non

Il ressort du tableau 22 qu'il existe une différence hautement significative entre la dose 3 et la dose 1.

### 3.8.2. – Etude comparative des doses des extraits aqueux utilisées contre les larves de *Culex pipiens*

Les résultats de l'analyse de la variance concernant les variations des taux de mortalité des larves (L4) selon les doses des extraits aqueux sont mentionnés dans le tableau 23.

**Tableau 23** – Analyse de la variance appliquée aux variations du taux de mortalité des larves (L4) selon les doses des extraits aqueux utilisées

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F obs.	Probabilité
Modèle	2	20,2045	10,1022	13,09	0,002
Erreur	9	6,9434	0,7715		
Total corrigé	11	27,1479			

Il ressort du tableau 23, qu'il existe une différence hautement significative entre les variations du taux de mortalité des larves (L4) de *Culex pipiens* selon les doses des extraits aqueux utilisées (F observé = 13,09 ; ddl = 2; P = 0,002). Le facteur dose représente une source de variabilité du taux de mortalité des larves.

Dans le tableau 24 sont comparées les différentes doses deux à deux.

**Tableau 24** – Comparaison deux à deux entre les doses par le test de Fisher (LSD)

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
Dose 3 vs Dose 1	3,1650	5,0959	2,7921	0,0017	Oui
Dose 3 vs Dose 2	1,8350	2,9545	2,7921	0,0388	Oui
Dose 2 vs Dose 1	1,3300	2,1414	2,7921	0,1361	Non

Il ressort du tableau 24 qu'il existe une différence hautement significative entre la dose 3 et la dose 1 et une différence significative entre la dose 3 et la dose 2.

### 3.9. – Etude comparative des doses des huiles essentielles et des extraits aqueux utilisés contre les nymphes de *Culex pipiens*

#### 3.9.1. – Etude comparative des doses des huiles essentielles utilisées contre les nymphes de *Culex pipiens*

Les résultats de l'analyse de la variance concernant les variations des taux de mortalité des nymphes selon les doses des huiles essentielles sont mentionnés dans le tableau 25.

**Tableau 25** – Analyse de la variance appliquée aux variations du taux de mortalité des nymphes selon les doses des huiles essentielles utilisées

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F obs.	Probabilité
Modèle	2	185,1482	92,5741	941,99	< 0,0001
Erreur	9	0,8845	0,0983		
Total corrigé	11	186,0326			

Il ressort du tableau 25, qu'il existe une différence très hautement significative entre les variations du taux de mortalité des nymphes de *Culex pipiens* selon les doses des huiles essentielles utilisées (F observé = 941,99 ; ddl = 2; P = 0,0001). Le facteur dose représente une source de variabilité du taux de mortalité des nymphes.

Dans le tableau 26 sont comparées les différentes doses deux à deux.

**Tableau 26** – Comparaison deux à deux entre les doses par le test de Fisher (LSD)

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
Dose 3 vs Dose 1	8,3325	37,5897	2,7921	< 0,0001	Oui
Dose 3 vs Dose 2	0,0000	0,0000	2,7921	1,0000	Non
Dose 2 vs Dose 1	8,3325	37,5897	2,7921	< 0,0001	Oui

Il ressort du tableau 26 qu'il existe une différence très hautement significative entre la dose 3 et la dose 1 et la dose 2 et la dose 1.

#### 3.9.2. – Etude comparative des doses des extraits aqueux utilisées contre les nymphes de *Culex pipiens*

Les résultats de l'analyse de la variance concernant les variations des taux de mortalité des nymphes selon les doses des extraits aqueux sont mentionnés dans le tableau 27.

**Tableau 27** – Analyse de la variance appliquée aux variations du taux de mortalité des nymphes selon les doses des extraits aqueux utilisées

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F obs.	Probabilité
Modèle	2	212,4865	106,2433	80,66	< 0,0001
Erreur	9	11,8551	1,3172		
Total corrigé	11	224,3416			

Il ressort du tableau 27, qu'il existe une différence très hautement significative entre les variations du taux de mortalité des nymphes de *Culex pipiens* selon les doses des extraits aqueux utilisées (F observé = 80,66 ; ddl = 2; P = 0,0001). Le facteur dose représente une source de variabilité du taux de mortalité des nymphes.

Dans le tableau 28 sont comparées les différentes doses deux à deux.

**Tableau 28** – Comparaison deux à deux entre les doses par le test de Fisher (LSD)

Contraste	Différence	Différence standardisée	Valeur critique	Pr > Diff	Significatif
<b>Dose 3 vs Dose 1</b>	10,2475	12,6271	2,7921	< 0,0001	<b>Oui</b>
<b>Dose 3 vs Dose 2</b>	6,0850	7,4980	2,7921	0,0001	<b>Oui</b>
<b>Dose 2 vs Dose 1</b>	4,1625	5,1291	2,7921	0,0016	<b>Oui</b>

Il ressort du tableau 28 qu'il existe une différence très hautement significative entre la dose 3 et la dose 1 et entre la dose 3 et la dose 2 et une différence hautement significative entre la dose 2 et la dose 1.





*Chapitre 4 :*

*Discussion*



**Chapitre 4 :** Discussion sur l'effet des extraits de plantes et des huiles essentielles sur les larves et les nymphes de *Culex pipiens*

#### **4.1. – Taux de mortalité des larves et des nymphes traitées par les extraits aqueux et les huiles essentielles**

Le taux de mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade traitées par les extraits aqueux varie entre 6,7 % et 64,5 %. Après 24 heures, 48 heures et 72 heures de traitement, l'extrait qui a le meilleur effet larvicide est celui d'*Artemisia herba alba* avec des taux respectifs de 44,5 %, de 53,33 % et de 64,5 % avec l'utilisation de la dose 200 mg/ml. Il est à constater que le taux de mortalité des nymphes après le traitement par les extraits aqueux des plantes augmente avec la dose et la durée d'exposition. Le maximum de mortalité est noté après 72 heures pour les quatre extraits avec des pourcentages variables. L'extrait de *Thymus vulgaris* montre un taux de mortalité de 86,7 % avec la dose de 200 mg/ml, celui d'*Artemisia herba alba* révèle 84,4 % de mortalité (dose = 200 mg/ml), par la suite l'extrait de *Rosmarinus officinalis* enregistre un taux de 75,5 % avec la même dose, puis l'extrait d'*Atriplex halimus* montre un taux de 68,9 %.

Le taux de mortalité des larves du 4<sup>ème</sup> stade traitées par les huiles essentielles varie entre 8,9 % et 100 %. Après 24 heures, 48 heures et 72 heures de traitement, les huiles essentielles de *Thymus vulgaris* montrent une toxicité importante sur les larves (L4) avec une mortalité de 100 % avec la dose de 5 µl/ml et 10 µl/ml. De même pour les huiles d'*Atriplex halimus* révèlent une mortalité de 100 % avec la dose de 10 µl/ml. Les huiles d'*Artemisia herba alba* et de *Rosmarinus officinalis* montrent une mortalité de 100 % avec la dose de 10 µl/ml après 72 heures de traitement. Quant aux taux de mortalité des nymphes traitées par les huiles essentielles varie entre 6,7 % et 100 %. Ce taux augmente avec la dose et la durée d'exposition. Exception faite pour la dose de 10 µl/ml, où la mortalité enregistrée à partir de 24 heures est de 100 % après le traitement des nymphes par les huiles essentielles des quatre plantes.

D'une manière générale, nos résultats obtenus révèlent une sensibilité variable des larves et des nymphes traduites par des taux de mortalité faibles à très élevés en passant d'une concentration à l'autre, mais surtout d'une plante à l'autre. Nos résultats sont proches à ceux obtenus par EL BANNA (2006). Ce dernier a constaté également que l'activité larvicide et nymphicide est progressive sur la durée puisqu'il a été enregistré une augmentation de la mortalité au fur et à mesure qu'on avance dans le temps d'exposition, pour atteindre un taux de mortalité maximal de 100% pour les doses les plus élevées des huiles essentielles après 72 h d'exposition pour toutes les plantes.

Cependant MANICKKAM *et al.* (2016) ont remarqué une augmentation des taux de mortalité chez les larves de 3<sup>ème</sup> stade et les nymphes de *Culex quinquefasciatus* en fonction de variation des doses des huiles essentielles de 10 plantes. La même observation faite par AKSOM et MAYURA en 2018 sur les larves et les nymphes d'*Aedes aegypti*, qui ont révélé que la mortalité est corrélée aux doses utilisées est d'autant plus accrue que l'exposition des larves et des nymphes aux insecticides est prolongée dans le temps.

Compte tenu de tous les résultats obtenus, nous pouvons confirmer l'efficacité de l'activité toxicologique des huiles essentielles, en termes de mortalité, en comparaison avec celle des extraits aqueux. Les huiles essentielles pourraient également être des agents antiparasites prometteurs, ouvrant des perspectives pour la découverte de médicaments plus efficaces d'origine végétale pour le traitement de maladies apparentées en ciblant les agents étiologiques.

#### **4.2. – Estimation de la dose létale 50 (DL50) et 90 (DL90)**

Les larves et les nymphes de *Culex pipiens* exposées pendant 24h, 48h et 72h aux quatre huiles essentielles présentent des moyennes de mortalités corrélées aux doses utilisées. Dans le cadre de notre étude toxicologique liée aux huiles essentielles, les résultats montrent qu'elles présentent une activité larvicide et nymphicide importante avec des doses létales 50 correspondant pour les larves à 0,089 µl/ml pour *Thymus vulgaris*, à 0,404 µl/ml pour *Atriplex halimus*, à 1,024 µl/ml pour *Rosmarinus officinalis* et à 3,278 µl/ml pour *Artemisia herba alba*. Quant aux nymphes, les doses létales enregistrées sont estimées à 1,024 µl/ml pour *Thymus vulgaris*, à 1,024 µl/ml pour *Atriplex halimus*, à 1,168 µl/ml pour *Rosmarinus officinalis* et à 1,213 µl/ml pour *Artemisia herba alba*.

TCHOUMBOUGNANG *et al.* (2009) ayant travaillé sur l'activités larvicides des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des feuilles sèches de *Cymbopogon citratus* (Poaceae), *Ocimum canum* (Lamiaceae), *Ocimum gratissimum* (Lamiaceae) et *Thymus vulgaris* (Lamiaceae), notent un pourcentage de mortalité des larves de 4<sup>ème</sup> stade d'*Anopheles gambiae* (Diptera, Culicidae) de 100 % à une concentration de 100 ppm de *C. citratus*, 200 ppm de *T. vulgaris*, 350 ppm de *O. gratissimum* et 400 ppm de *O. canum*. Par ailleurs VEANA *et al.* (2005) ont trouvé que les huiles essentielles de *Rosmarinus officinalis* ont un effet toxique sur l'espèce de moustique *Culex quinquefasciatus*. Cet effet est nul pour les larves mais efficace pour les adultes.

À une concentration de 1000 ppm, sept huiles ont présenté une activité nymphicide de 100% sur *Cx. quinquefasciatus* après une période de traitement de 24 h, parmi ces plantes il y a le

thym (RAMAR *et al.*, 2013). Ainsi que les études d'ALAOUI BOUKHRIS sur l'activité larvicide des huiles essentielles de *Salvia officinalis*, *Rosmarinus officinalis* et *Origanum majorana* demeurent leur efficacité vis-à-vis des larves de *Culex pipiens*, avec des valeurs de DL50 et DL95 respectives de 0,065 % ; 0,49 % ; 0,095 % ; 0,195 % ; 0,17 % et 0,37 %.

JUN-HYUNG et MURRAY (2015) notent que l'activité insecticide est le résultat d'une série d'actions et de contractions complexes entre un tissu toxique et un tissu d'insecte. Cette dynamique complexe de toxicité peut être simplifiée en trois catégories: pénétration, activation (interaction du site cible) et détoxification.

Cette activité peut être exprimée par la diversification des molécules bioactives qui composent ces huiles essentielles pouvant réaliser une action singulière d'un des composants majeurs, dont elles sont dominées par le Davanone pour *Artemisia herba alba* et *Atriplex halimus*, le Camphor pour *Rosmarinus officinalis* et le Carvacrol pour *Thymus vulgaris*. Où un effet synergique entre plusieurs composés vis à vis des larves et des nymphes de moustiques qui y sont exposées.

Les composés phénoliques des plantes ont été considérés comme l'un des importantes défenses contre les insectes dans diverses études (BERBEHENN et MARTIN, 1994; BERBEHENN *et al.*, 1996; HENN, 1997). Leur mécanisme d'action sur les insectes est principalement dû à des effets neurotoxiques impliquant plusieurs modes d'action, notamment par inhibition de l'acétylcholinestérase (AChE) (MILLS *et al.*, 2004), perturbation de la fonctionnalité des récepteurs de l'acide gamma-aminobutyrique (GABA) (PRIESTLEY *et al.*, 2003) et agoniste du système octopaminergique (ENAN, 2005).

Selon PAVELA (2016) les symptômes de mode d'action neurotoxique les plus importants sont l'hyperactivité suivie d'une hyperexcitation conduisant à un renversement rapide et à une immobilisation ainsi que les pièces buccales des insectes deviennent paralysées et cessent de se nourrir et meurent de faim.

RATTAN (2010) confirme que les huiles essentielles et leurs constituants affectent les processus biochimiques, qui perturbent spécifiquement l'équilibre endocrinologique des insectes. Ils peuvent être neurotoxiques ou agir comme insectes régulateurs de croissance, perturbant le processus normal de la morphogenèse, chez les insectes, le résultat de cette intoxication nerveuse peut être la mort immédiate ou plusieurs jours de paralysie avant la mort. En ce qui concerne le carvacrol, SZCZEPANIK *et al.* (2012) ont montré son efficacité contre les larves d'*Alphitobius diaperinus*, le dosage à 1% a causé une mortalité de 85% des jeunes larves, tandis que celui à 2% a tué 97%. Ainsi, TONG (2010) a étudié les possibles mécanismes d'action du monoterpénoïde insecticides tels que le carvacrol chez le système

nerveux de la blatte américaine *Periplaneta americana*, les résultats ont montré que le carvacrol et deux autres monoterpénoïdes (pulegone et thymol) sont des modulateurs positifs de récepteur GABA de l'insecte et ils y pourraient causer des effets inhibiteurs sur le système nerveux.

YOUSSEFI *et al.* (2019) ont mis l'attention sur la forte toxicité du carvacrol et du thymol contre les larves et les œufs de *Culex pipiens*. Le carvacrol était plus toxique contre les larves, avec une valeur de DL50 de 14 mg/l et contre les œufs, avec une valeur de DL50 de 7 mg/l

En ce qui concerne le camphor JUN-HYUNG et MURRAY (2015) ont étudié l'action synergique des deux principaux composants insecticides de l'huile de romarin, le 1,8-cinéole et le camphre contre le boucleur du chou, *Trichoplusia ni*, les résultats montrent que la pénétration du camphre appliqué localement était significativement améliorée quand il a été mélangé avec 1,8-cinéole.

Dans le cadre de notre étude toxicologique liée aux extraits aqueux, les résultats montrent qu'elles présentent une activité larvicide et nymphicide considérable avec des DL50 correspondant pour les larves à 123,9 mg/ml pour *Artemisia herba alba*, 146,3 mg/ml pour *Atriplex halimus*, 184,5 mg/ml pour *Rosmarinus officinalis* et 187,7 mg/ml pour *Thymus vulgaris*. Pour les nymphes nous avons enregistré les DL50 suivantes : 121,4 mg/ml pour *Artemisia herba alba*, 153,7 mg/ml pour *Atriplex halimus*, 137,0 mg/ml pour *Rosmarinus officinalis* et 102,1 mg/ml pour *Thymus vulgaris*.

En comparant avec d'autres études on trouve que les études SHALABY *et al.* (2005) sur l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* s'est avéré efficace contre les larves de *Culex pipiens*, entraînant une mortalité de 100% à la concentration de 80 ppm pour le 3<sup>ème</sup> stade et 160 ppm pour le 4<sup>ème</sup> stade. La toxicité a augmenté aux stades nymphaux. Les travaux d'AOUATI (2016) sur la toxicité de *Thymus vulgaris* sur *Culex pipiens* a montré une mortalité de 52 % après 72 heures d'exposition à une dose de 900 mg/l.

Une autre étude menée par AOUATI en 2016 dans la région de Constantine, montre que l'extrait de la plante *Rosmarinus officinalis* a engendré un maximum de 37 % de mortalité des larves du *Culex pipiens* au bout de 72 h d'exposition en utilisant une dose de 900 mg/l, les valeurs de DL50 et DL90 correspondantes sont 1681 mg/l et 4043 mg/l, et d'après le même auteur l'extrait d'*Artemisia herba alba* a provoqué une mortalité de 94% avec DL50 = 347 mg/l et DL90 = 1100 mg/l.

Cependant l'étude de BOUKHRIS (2010) au Maroc montre que l'extrait aqueux de *Rosmarinus officinalis* a une activité toxique sur les larves de *Culex* avec un taux de mortalité maximal de 17,1 % après 24 heures réalisé avec la concentration de 0,025 mg/ml.

Les travaux de KEMASSI *et al.* (2015) décrivent l'évaluation des extraits aqueux d'*Euphorbia guyoniana* sur la mortalité des larves de *Culex pipiens* et indiquent qu'à forte concentration (100 %, 75 %, 50 %, 25 %), l'extrait d'*E. guyoniana* engendre un pourcentage de mortalité larvaire de 100%, alors que pour l'extrait à faible concentration (1 %) engendre un taux de mortalité de 56,7 %.

Les extraits aqueux des feuilles du Ricin *Ricinus communis* (Euphorbiaceae) et du bois Thuya *Tetraclinis articulata* (Cupressaceae) ont donné 100% de mortalité chez les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) à partir d'une concentration de 4 %, alors il a été de 100% chez les larves traitées par l'extrait aqueux de *Ricinus communis* à une concentration de 1% (AOUNTY *et al.*, 2006). En outre, l'étude de l'activité insecticide d'extrait d'*Azadirachta indica* (Meliaceae) a été testé contre le quatrième stade larvaire de *Culex pipiens*, la plus forte concentration testée 1 mg/l à engendrer une mortalité de 85,2 % (ALOUANI *et al.*, 2009). DIAKITE (2008), dans son étude sur le pouvoir larvicide des extraits aqueux de *Momordica balsamina* (Cucurbitaceae), rapporte un taux de mortalité de 100% après 24 heures quel que soit la concentration appliquée.

Après cette comparaison on trouve que nos extraits n'ont pas avéré à des mortalités totales (100 %). Néanmoins la mortalité dans la présente étude est appréciable. Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la mortalité, il y a les facteurs liés à la plante, au type de l'extraction ou même au solvant utilisé.

L'un des problèmes majeurs de la lutte antivectorielle est bien le développement de la résistance aux insecticides. Selon LIU (2015) les moustiques ont toutes les caractéristiques qui conviennent sélection de résistance, y compris les cycles de vie courts, progéniture abondante et d'autres caractéristiques inhérentes. Cependant afin d'infirmier l'influence des extraits de plantes sur les insectes en terme de résistance VÖLLINGER en 1987 a mentionné que les extraits de plantes, qui contiennent de nombreux composés plus complexes que les pesticides synthétiques retardent l'accumulation de résistances chez les insectes. Dans le même contexte, une autre étude réalisée par le même auteur, mené en laboratoire sur la résistance du *Plutella xylostella*, celle-ci développe une résistance assez rapidement à tous les principaux groupes de pesticides de synthèse. Cependant, il n'a pas été possible de développer une résistance à l'extrait de Neem, après 42 générations de sélection, attribuées aux constituants du Neem et à son mode d'action.



#### 4.3. – Estimation du temps létal 50 (TL50) et 90 (TL90)

Les larves et les nymphes de *Culex pipiens* exposées à différentes doses de quatre extraits aqueux présentent des moyennes de mortalités corrélées aux temps. Les valeurs du coefficient de détermination sont supérieures 0,70 pour tous les essais effectués pour les larves et 0,90 pour les nymphes. Le temps létal TL(50) et TL(90) varie selon les doses et les extraits de plantes utilisés. L'extrait de la plante *Artemisia herba alba* avec la dose de 200 mg/ml a permis de tuer 50 % de larves en un temps records par rapport aux autres extraits de plante avec 38 heures. Cependant l'extrait d'*Atriplex halimus* avec la dose de 100 mg/ml a permis de tuer 90 % de larves de *Culex pipiens* en 129,50 heures. Le temps létal TL(50) et TL(90) des nymphes varie selon les doses et les extraits de plantes utilisés. L'extrait de la plante *Thymus vulgaris* avec la dose de 200 mg/ml a permis de tuer 50 % de larves en un temps records par rapport aux autres extraits de plante avec 41 heures. Cependant l'extrait de la plante *Artemisia herba alba* avec la dose de 200 mg/ml a permis de tuer 90 % de larves de *Culex pipiens* en 79 heures.

Les larves et les nymphes de *Culex pipiens* exposées à différentes doses de quatre huiles essentielles présentent des moyennes de mortalités corrélées aux temps. Les valeurs du coefficient de détermination sont supérieures 0,90 pour tous les essais effectués sur les larves et les nymphes. Le temps létal TL(50) et TL(90) varie selon les doses et les extraits de plantes utilisés. L'huile essentielle de la plante *Artemisia herba alba* avec la dose de 5 µl/ml a permis de tuer 50 % de larves en un temps records par rapport aux autres huiles essentielles avec 18,0 heures. La même huile essentielle avec la dose 10 µl/ml a permis de tuer 90 % de larves de *Culex pipiens* en 18,0 heures. Quant au temps létal TL(50) et TL(90) des nymphes, il varie selon les doses et les extraits de plantes utilisés. Les huiles essentielles de la plante *Artemisia herba alba* et de *Thymus vulgaris* avec la dose de 5 µl/ml ont permis de tuer 50 % de larves en un temps records par rapport aux autres huiles essentielles avec 19 heures. Les huiles essentielles d'*Atriplex halimus* et de *Thymus vulgaris* avec la dose 5 µl/ml ont permis de tuer 90 % de larves de *Culex pipiens* en 48 heures.

Les travaux de BENHISSEN *et al.* (2019) sur l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles de *Ruta chalepensis* sur les larves de *Culiseta longiareolata* ont montré que la valeur de TL50 la plus toxique est 0,66 jours pour D1 = 33,2 g/l et la plus faible est 3,26 jours pour D3 = 8 g/l. Tandis que la valeur de TL90 la plus toxique est 1,05 pour D1 et la plus faible est 8,13 jour pour D3.

Dans le cadre de la lutte biologique par les champignons ANDRADE et MODOLO (1991) ont testé la sensibilité des larves d'*Aedes aegypti* par le temephos et *Bacillus thuringiensis* var

israelensis, ceux-ci ont montré une activité larvicide avec des valeurs de TL50 la plus toxique est 6,03 heures pour D1 = 5 ITU/I et la plus faible est 6,53 heures pour D2 = 2,5 ITU/I en utilisant Bti, tandis que pour le temephos, la valeur de TL50 la plus toxique est 4,08 heures pour D1= 0,025 mg/l et la plus faible est 4,28 heures pour D2 = 0,05 mg/l. Ainsi BENSERRADJ (2014) a testé l'activité larvicide de *Metarhizium anisopliae* à l'égard des larves de *Culex pipiens*, il a trouvé une valeur de TL50 la plus toxique de 1,22 jours pour D5 =  $10^9$  spores/ml, alors que la plus faible est de 4,48 jours correspond à la plus faible dose D1 =  $10^5$  spores/ml.



*Conclusion et*

*perspectives*



## Conclusion et perspectives

La place importante qu'occupent les moustiques dans la faune terrestre comme dans la faune aquatique d'une part, et la lutte contre les maladies parasitaires transmises telles que la filariose, la fièvre jaune, la fièvre du virus du Nile Occidental par leurs piqûres d'autre part, font de ces insectes un matériel d'étude important pour les biologistes.

En Algérie, comme dans le monde, les culicidés constituent les insectes piqueurs les plus nocifs pour la santé.

Le contrôle des vecteurs et des hôtes intermédiaires d'agents étiologiques est une méthode efficace de prévention des maladies humaines et vétérinaires, également des différentes études montrent que les insecticides chimiques utilisées contre ces vecteurs présentent des inconvénients non négligeables et pour cela la lutte anti-vectorielle entre une nouvelle phase où le monde végétal offre des plantes toxiques efficaces et moins nocives pour la santé humaine et l'environnement.

Cette étude donc est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles actives, non polluantes et s'utilisant dans une lutte moins nocive et plus raisonnée. En élaborant un extrait qui soit le moins couteux et le plus efficace possible. Cependant notre choix s'est porté sur les extraits aqueux et les huiles essentielles de quatre plantes, à savoir ; *Artemisia herba alba*, *Atriplex halimus*, *Rosmarinus officinalis* et *Thymus vulgaris* et ceci afin d'évaluer leurs activités toxiques sur les larves du quatrième stade et les nymphes de *Culex pipiens*.

Les résultats obtenus révèlent une sensibilité considérable et variable traduite par des taux de mortalité faible à très élevé qui corrèle avec le prolongement du temps en passant d'une concentration à l'autre, mais surtout d'un extrait à l'autre.

Concernant les extraits aqueux, ils ont une augmentation progressive de la mortalité qui dépasse la moitié mais n'atteint pas la totalité. Tandis que les huiles essentielles atteignent un taux de mortalité maximal de 100% pour les doses les plus élevées après 24 heures d'exposition pour toutes les plantes.

Compte tenu de tous les résultats obtenus, il a été constaté une différence entre les deux extraits en confirmant l'efficacité de l'activité toxicologique des huiles essentielles, en termes de mortalité, en comparaison avec celle des extraits aqueux.

Cette diversité d'action des extraits de plantes utilisés pourrait en fait être due à la diversification des molécules bioactives qui composent ces plantes pouvant réaliser une action singulière d'un des composants, ou un effet synergique entre plusieurs composés.

Ces résultats sont encourageants et ouvrent des horizons intéressants et prometteurs pour son application dans la production des bioinsecticides, ces derniers sont facilement disponibles et la contrainte de coût peut être surmontée par la faible valeur de la CL50.

En perspective, il serait intéressant de :

- Faire des coupes histologiques afin de connaître le mode d'action de ces extraits sur les tissus des larves et des nymphes ;
- Appliquer d'autres extraits de plantes locales;
- Appliquer ces extraits sur d'autres espèces de vecteurs ;
- Etudier leurs activités toxiques vis-à-vis des parasites : leurs potentiels en tant que agents antiprotozoaires, antihelminthiques ;
- Préparer des extraits aqueux avec d'autre méthode d'extraction et un autre solvant.



*Références*

*bibliographiques*





## Références bibliographiques

1. ABBOTT W, 1925 – A method of computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomo.* Vol. 18, pp. 265-267.
2. ABBOUBAKAR S., 2018 – *Stratégies de réussite parasitaire du parasitoïde larvaire therophilus javanus et ses potentialités d'utilisation en lutte biologique contre Maruca vitrata le lepidoptère foreur de gousse de niébé Vigna unguiculata en Afrique de l'Ouest.* thèse de Doctorat. Univ. Montpellier, 214 p.
3. ABE E., STANILAS G. et CLAUDE A., 2010 – Extraction liquide-liquide : théorie, applications, difficultés. *Ann Toxicol. Anal.* 22 (2): 51-59.
4. ACHEUK F., ABDELLAOUI K., LAKHDARI W., DEHLIZ A., RAMDANI M., BARIKA F. et ALLOUANE F., 2017 – Potentiel bio-insecticide de l'extrait brut de la plante saharienne *Artemisia judaica* en lutte anti-vectorielle : cas du moustique commun *Culiseta longiareolata*. *Journal Algérien des Régions Arides (JARA)*. N° 14 : 109-116.
5. AIR PARIF, 2016 – Les pesticides dans l'air francilien partie 1 : état des connaissances. Observatoire de l'air en îles de France, 29 p.
6. AKSOM C. and MAYURA S., 2018 – Efficacies of four plant essential oils as larvicide, pupicide and oviposition deterrent agents against dengue fever mosquito, *Aedes aegypti* Linné (Diptera, Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8 (4), 217.
7. ALOUANI A., REHIMI N. and SOLTANI N., 2009 – Larvicidal activity of a neem tree extract (Azadirachtin) against mosquito larvae in the Republic of Algeria. *Jordan Journal of Biological Sciences*, 2 (1), 15-22.
8. ANDRANDE C. and MODOLO M., 1991 – Susceptibility of *Aedes aegypti* larvae to temephos and *Bacillus thuringiensis* var israelensis in integrated control. *Saud Publ S. Paulo*, 25 (3) : 184-187.
9. AOUATI A., 2016 – *Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de culex pipiens (Diptera, Culicidae)*. Thèse de Doctorat, Univ. des frères Mentouri, Constantine, 129 p.
10. AOUINTY B., OUFARA S., MELLOUKI F. et MAHARI S., 2006 – Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*, 10 (2) : 67-71.

11. ASSOUAD W. et VALDEYRON G., 1975 – Remarques sur la biologie du thym *Thymus vulgaris* L. *Bulletin de la Société Botanique de France* 122:1-2, 21-34.
12. BAILLY-CHOUMARA H., 1973 – Etude comparative de différentes techniques de récolte de moustiques adultes (Diptera, Culicidae) faite au Maroc, en zone rurale. *Bulletin de la Société des Sciences naturelles et physiques du Maroc*. Tome 53, n° 1 et 2, 136-187.
13. BALDACCHINO F, CAPUTO B, CHANDRE F, DRAGO A, DELLA TORRE A, MONTARSIE F. and RIZZOLI A., 2015 – Control methods against invasive *Aedes* mosquitoes in Europe: a review. *Society of Chemical Industry. Pest Manag. Sci.* 71: 1471-1485.
14. BALENGHIEN T., 2007 – Les moustiques vecteurs de la Fièvre du Nil occidental en Camargue. *Insectes* 146 (3) :13-17.
15. BAWIN T., SEYE F., BOUKRAA S., ZIMMER Y., DELVIGNE F. et FRANCIS F., 2015 – La lutte contre les moustiques (Diptera, Culicidae) : diversité des approches et application du contrôle biologique. *The Can. Entomol.*, 147 (4) : 476-500.
16. BELHATTAB R., LOUBNA AMOR L., BARROSO J., PEDRO L. and FIGUEIREDO C., 2014 – Essential oil from *Artemisia herba alba* Asso. grown wild in Algeria: Variability assessment and comparison with an updated literature survey. *Arabian Journal of Chemistry*, 7: 243–251.
17. BENDALI-SAOUDI F., 1989 – Etude de *Culex pipiens pipiens* anautogène. Systématique, biologie, lutte (*Bacillus thuringiensis israeliensis* serotype H14, *Bacillus sphaericus* 1953) et deux espèces d'hydracariens. Thèse de Magister en Arthropodologie, Univ. Annaba.
18. BENDALI-SAOUDI F., 2006 – Etude bioécologique, Systématique et Biochimique des Culicidae (Diptera- Nematocera) de la région d'Annaba. Lutte Biologique anticulicidienne. Thèse de Doctorat d'Etat en Science Naturelle, Université Badji Mokhtar Annaba, Algérie.
19. BENDALI-SAOUDI F., DJEBBAR F. et SOLTANI N., 2001 – Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens* L. dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, 57 (4) : 255- 265.
20. BENHISSEN S., HABBACHI W., REBBAS K., MASNA R., 2019 – Bio-activité des extraits foliaires de *Ruta chalepensis* L. (Rutaceae) sur la mortalité des larves de *Culiseta longiareolata* (Diptera, Culicidae). *Lebanese Science Journal*, 20 (1) : 1-9.

21. BENHISSEN S., REBBAS K., HABBACHI W. and MASNA F., 2018 – Bioactivity of *Nicotiana glauca* (Solanaceae) and its toxic effects on *Culiseta longiareolata* (Diptera; Culicidae). *Int. J. Res. Ayurveda Pharm.* 9 (1) : 123-126.
22. BENMADHI Z. et ABIDA A., 2018 – *Effet des extraits de Thymus vulgaris chez Escherichia coli responsable des infections uro-génitales*. Mémoire de Master. Univ. Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem, 77 p.
23. BENSERRADJ O., 2015 – *Evaluation de Metarhizium anisopliae à titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques*. Thèse de Doctorat, Univ de Constantine 1, 208 p.
24. BERBEHENN R. and MARTIN M., 1994 – Tannin sensitivity in larvae of *Malacosoma disstria* (Lepidoptera): roles of the peritrophic envelope and midgut oxidation. *Journal of Chemical Ecology* 20 (8), 1985-2001.
25. BERBEHENN R., MARTIN M. and HAGERMAN A., 1996 – Reassessment of the roles of the peritrophic envelope and hydrolysis in protecting polyphagous grasshoppers from ingested hydrolyzable tannins. *Journal of Chemical Ecology* 22 (10), 1901-1919.
26. BERCHI S., 2000 – *Bioécologie de Culex pipiens L. (Diptera, Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de luttés*. Thèse de Doctorat, Université de Constantine, Algérie, 133 p.
27. BERCHI S., AOUATI A. et LOUADI K., 2012 – Typologie des gîtes propices au développement larvaire de *Culex pipiens L.* 1758 (Diptera, Culicidae), source de nuisance à Constantine (Algérie). *Ecologia Mediterranea.* 38 (2) : 5-16.
28. BOUKHRIS A.M., 2010 – *Activités larvicides des extraits de plantes sur les larves de moustiques vecteurs de maladies parasitaires*. Mémoire de Master en Sciences et Techniques. Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques, Taounate, Maroc, 59 p.
29. BOUTEKEDJIRET C., BENTAHAR F., BELABBES R., BESSIERE M., 2003 – Extraction of rosemary essential oil by steam distillation and hydrodistillation. *Flavour and Fragrance Journal.*, 18: 481-484.
30. BRINIS A., 2016 – *Etude de la variabilité génomique de trois espèces d'Atriplex halimus L, Nummularia canescens) et sélection de caractères de tolérance au stress salin*. Thèse de Doctorat, Univ. Badji Mokhtar – Annaba, 145 p.

31. BRUNHES J., RHAIM A., GEOFFROY B., ANGEL G. et HERVY J.P. 1999 – Les Culicidae d'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche et de développement de Montpellier (France).
32. BRUNHES J., RHAIM A., GEOFFROY B., ANGEL G. et HERVY J.P., 1999. Les Moustiques de l'Afrique méditerranéenne, logiciel d'identification et d'enseignement, I.R.D. édition.
33. CARL J.M. and HANS B., 1989 – Inability of Diapausing *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) to Use blood for producing lipid reserves for overwinter survival. *J. Med. Entomol.* 26 (4): 318-326.
34. CARNEVALE P., 1995 – La lutte antivectorielle, perspectives et réalités. *Revue Générale Med. Trop.* 55 : 56-65.
35. CHARLES R., 1989 – Le thym vulgaire (*Thymus vulgaris* L.) du val d'Aoste : une particularité botanique de haut intérêt. *Rev. Valdotaïne d'hist. Naturelle*, 43: 79-97.
36. CHIKHI I., 2014 – *Composition chimique et activités biologiques des extraits de cinq plantes aromatiques et médicinales de l'ouest d'Algérie*. Thèse de Doctorat, Univ. Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, 174 p.
37. CLEVINGER J.F., 1928 – Apparatus for volatile oil determination: description of New Type Clevenger. *Am. Perf. Ess. Oil. Review*, 467–503.
38. COLUZZI M., 1971 – Problèmes théoriques et pratiques liés à l'élevage et à la production de masse des Culicides. *Annales de Parasitologie (Paris)*, 46 (3) : 91-101.
39. COUZIN F., 2006 – Bone Disease Gene Finally Found. *Science*, Vol. 312, issue 5773, 514-515.
40. DAUQAN E., ABDULLAH A., 2017 – Medicinal and Functional Values of Thyme (*Thymus vulgaris* L.) Herb. *Journal of Applied Biology & Biotechnology* 5 (02): 17-22.
41. DEBESS E., 2003 – Mosquito control chemical guide west nile virus response plan. ODHS Oregon department of human services, 9 p.
42. DELAUNAY P., FAURAN P. et MARTY P., 2001 – Les moustiques d'intérêt médical. *Revue Française des Laboratoires*. (338), 27-36.
43. DELAZAR A., REID G. and SARKER D., 2004 – GC-MS Analysis of the Essential Oil from the Oleoresin of *Pistacia atlantica* var. *mutica*. *Chemistry of Natural Compounds*. Volume 40, Issue 1, pp. 24–27.
44. DIAKITE B., 2008 – La susceptibilité des larves d'*Anopheles gambiae* à des extraits de plantes médicinales du Mali. Thèse de doctorat, Université de Bamako-Mali, 132 p.

45. DUBEY N., 2011 – Natural Products in Pest Management. London, CAB International.
46. EL-AKHAL F., GUEMMOUH R., GRECHE H., & LALAMI A.E.O., 2014 – Valorisation en tant que bioinsecticide de deux huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Citrus aurantium* cultivées au centre du Maroc (Valorization as a bio-insecticide of essential oils of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* cultivated in center of Morocco. *J. Mater. Environ. Sci.*, 5 : 2319-2324.
47. ELBANNA S.M., 2006 – Larvaecidal effects of Eucalyptus Extract on the Larvae of *Culex pipiens* Mosquito. *International journal of agriculture & biology*, 8 (6) : 896-897.
48. ENAN E., 2005 – Molecular response of *Drosophila melanogaster* tyramine receptor cascade to plant essential oils. *Insect Biochem. Mol. Biol.* 35, 309-321.
49. FADI Z., 2011 – *Le romarin Rosmarinus officinalis*, « le bon procédé d'extraction pour un effet thérapeutique optimal ». Thèse de Doctorat, Faculté de médecine et de pharmacie, Rabat, 153 p.
50. FALLEH H., KSOURI R., CHAIEB K., KARRAY-BOURAOUI N., TRABELSI N., BOULAABA M. and ABDELLY C., 2008 – Phenolic composition of *Cynara cardunculus* L. organs, and their biological activities. *C.R. Biologie*, 331: 372-379.
51. FARAJ C., ELKOHILI M. et LYAGOUBI M., 2006 – Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 99 (2) :119-121.
52. FEKNOUS S., SAIDI F. et MOHAMED SAID R., 2014 – Extraction, caractérisation et identification de quelques métabolites secondaires actifs de la mélisse (*Melissa officinalis* L.). *Revue « Nature & Technologie »*. A- Sciences fondamentales et Engineering, n° 11, 07-13.
53. FOSTER W.A., WALKER E.D., 2019 – Mosquitoes (Culicidae) In: *Medical and veterinary entomology*. Ed. Academic Press, Cambridge, 261-325.
54. GENIN G., 1966 – Le séchage par lyophilisation et ses applications aux produits laitiers. *INRA Editions*, 46, pp. 621-630.
55. GOISLARD C., 2012 – Les répulsifs anti-moustiques à l'officine. Thèse de Doctorat. Université Angers. France, 120 p.
56. GOOGLEEARTH,2019:  
<https://earth.google.com/web/@34.67645442,3.26184648,1134.23399048a,642.85904127d,35y,0h,0t,0r/data=ChcaFQoNL2cvMTFjNV96YjVrYhgCIAEoAg>

57. GOULU M., 2015 – *Développement d'une nouvelle stratégie de protection chimique contre les moustiques vecteurs de maladies : utilisation d'une association répulsif/insecticide afin d'optimiser l'efficacité du traitement tout en réduisant les doses utilisées*. Thèse de Doctorat, Université Angers, France, 174 p.
58. GROSBY D., 1966 – Natural Pest control agents. In Gould, R.F. (Ed.). Natural pest control Agents. *Adv. Chem. Ser.* (53) : 1-16.
59. HABBACHI W., BENHISSEN S., OUAKID M.L. et FARINE J.P., 2013 – Effets biologiques d'extraits aqueux de *Peganum harmala* (L.) (Zygophyllaceae) sur la mortalité et le développement larvaire de *Drosophila melanogaster* (Diptera, Drosophilidae). *Algerian Journal of Arid Environment*, Vol. 3, n° 1, 1-14.
60. HAMAIDIA H. et BERCHI S., 2018 – Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera, Culicidae) dans la région de Souk-Ahras (Algérie). *Entomologie Faunistique – Faunistic Entomology* 71, 1-8 p.
61. HANNOUR K., BOUGHADAD A., MAATAOUI A. and BOUCHELTA A., 2017 – Chemical composition and toxicity of Moroccan *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) essential oils against the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873) Zeller (Lepidoptera, Gelechiidae). *JMES*, Vol. 8, Issue 2, 758-769.
62. HASSAIN K., 2002 – *Bioécologie et biotypologie des Culicidae (Diptera : Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne. Biologie des espèces les plus vulnérables (Ae. Caspius, Ae. Detritus, Ae. Mariae et Cx. pipiens) dans la région occidentale algérienne*. Thèse de Doctorat en Science, Université de Tlemcen, 191 p.
63. HBM, 2014 – Fiche info : La nourriture du Moustique. HBM Distribution. 85160 Saint-Jean-de-Monts. URL : <https://www.hbmdistribution.com/blog/article.php?post=1001>
64. HCINI K., SOTOMAYOR A., JORDAN M., BOUZID1 S., 2013 – Chemical Composition of the Essential Oil of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) of Tunisian Origin. *Asian Journal of Chemistry*, Vol. 25 (5) : 1-3.
65. HELLENIC PHARMACOPOEIA, 5th ed., National Organization for Medicines of Greece, Chapter 28.12, Athens (2002).
66. HENN M., 1997. Adsorption von Tanninen aus Eichenblättern an Kohlen e hydrathaltiger Verbindungen. *Mitteilungen der Deutsche Entomologischen Gesellschaft* 11, 495- 499.
67. HOUMANI M, HOUMANI Z., SKOULA M., 2004 – Intérêt d'*Artemisia herba alba* Asso dans l'alimentation du bétail des steppes algériennes. *Acta Bot. Gallica*, 151 (2), 165-172.

68. IMBAHALE S., MWERESA K., TAKKEN W. and MUKABANA R., 2011 – Development of environmental tools for anopheline larval control. *Parasites & Vectors*, 4: 1-10.
69. IRAC, 2018 – IRAC Mode of action classification scheme. Insecticide Resistance Action Committee, Version 9.1, 30P, en ligne : [www.irc-online.org](http://www.irc-online.org)
70. JACKMAN J.A. and OLSON J.K., 2002 – *Mosquitoes and the diseases they transmit*. System universities of Texas, A & M Extension, 1-7.
71. JIAFENG W., NICK H.O. and HUAIPING Z., 2011 – The impact of weather conditions on *Culex pipiens* and *Culex restuans* (Diptera: Culicidae) abundance: A case Study in Peel Region. *J. Med. Entomol.* 48 (2) : 468-475.
72. JUN-HYUNG T. and MURRAY B., 2015 – Enhanced cuticular penetration as the mechanism for synergy of insecticidal constituents of rosemary essential oil in *Trichoplusia ni*. *Sci. Rep.* 5 : 1-10.
73. KARUNARATNE P., PRIYANKA P., SILVA D., WEERARATNE T. and SURENDRAN S., 2018 – Insecticide resistance in mosquitoes: Development, mechanisms and monitoring. *Ceylon Journal of Science* 47 (4) : 299-309.
74. KAURA T., MEWARA A., ZAMAN K., SHARMA A., AGRAWAL S.K., THAKUR V., GARG A. and SEHGAL R., 2019 – Utilizing larvicidal and pupicidal efficacy of *Eucalyptus* and neem oil against *Aedes* mosquito: An approach for mosquito control. *Trop Parasitol.* 9 : 12-7.
75. KEMASSI A., HELLALI N., BOUAL Z., BOUZIANE N., OULD EL HADJ-KHELIL A., HADJ-MAHAMMED M. et OULD ELHADJ M., 2013 – Toxicité comparée des huiles essentielles brutes foliaires de trois plantes spontanées récoltées au Sahara algérien sur les larves et les imagos de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera, Anthracridinae). *Algerian Journal of Arid Environment*, 3 (2) : 34-42.
76. KONKON G., SIMAGA A. et ADJOUNGOVA A., 2006 – Etude phytochimique de *Mitragyna inermis* (Wild.) o. ktze (Rubiaceae), plante a feuille antidiabetique. *Pharm. Méd. Trad. Afr.* Vol. 14, pp 73-80.
77. KORBA R.A., ALAYAT M.S., BOUIBA L., BOUDRISSA A., BOUSLAMA Z., BOUKRAA S. and BOUBIDI S.C., 2016 – Ecological differentiation of members of the *Culex pipiens* complex, potential vectors of West Nile virus and Rift Valley fever virus in Algeria. *Parasites & vectors*, 9, pp. 1-11.



78. LEFEVRE N. et MOREAU L., 2009 – Pratique de la statistique avec SPSS, Site du SMCS (Support en Méthodologie et Calcul Statistique) URL : <http://www.stat.ucl.ac.be/SMCS/>
79. LIU N., 2015 – Insecticide Resistance in Mosquitoes: Impact, mechanisms and research directions. *Annu. Rev. Entomol.* 60: 537-55.
80. MANICKKAM J., ARIVOLI S., RAJASINGH R., TENNYSON S., 2016 – Larvicidal and pupicidal efficacy of plant oils against *Culex quinquefasciatus* Say 1823 (Diptera, Culicidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies* 4 (5): 449-456.
81. MATILE L., 1993 – Les diptères d'Europe occidentale. Tome I. Société Nouvelle des Editions Boubée, Paris, 439 p.
82. MATOUG H., MERABTI B., TADJER W., EL BAH D. and OUAKID L., 2017 – Biological control test of Ethanol Extracts of *Peganum Harmala* (L.) on The Mortality and development of *Culex Pipiens* (Diptera). *World J. Environ. Biosci.* 6 (4) : 15-19.
83. MECQUENEM C., DROMMI M. et TOPART C., 2018 – Utilisation de l'évaporateur rotatif. Culture Sciences-Chimie : Site de ressources en chimie pour les enseignants. URL : <http://culturesciences.chimie.ens.fr/utilisation-de-1%C3%A9vaporateur-rotatif>
84. MERABTI B., 2015 – *Identification, composition et structure des populations Culicidiénne de la région de Biskra (Sud-est Algérien). Effets des facteurs écologiques sur l'abondance saisonnière. Essais de lutte.* Thèse de Doctorat. Univ. Kasdi Merbah-Ouargla, 197 p.
85. MERABTI B., LEBOUZ I., ADAMOU A. et OUAKID L., 2015 – Effet toxique de l'extrait aqueux des fruits de *Citrullus colocynthis* (L.) sur les larves des Culicidae. *Revue des Bio Ressources.* Vol. 5, n° 2 : 120-130.
86. MERABTI B, LEBOUZ I. and OUAKID L., 2017 – Larvicidal activity and influence of Azadirachtin (Neem Tree Extract) on the Longevity and Fecundity of Mosquito Species. *Acta zool. bulg.*, 69 (3): 429-435.
87. MESSAI N., BERCHI S., BOULKNAFD F. et LOUADI K., 2010 – Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera, Nematocera) dans la région de Mila (Algérie) Entomologie faunistique – *Faunistic Entomology* 63 (3), 203-206.
88. MICHAEL H.R. and WILSON M.L., 2008 – Interspecific competition between larval *Culex restuans* Theobald and *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae) in Michigan. *J. Med. Entomol.*, 45 (1): 20-27.

89. MICHAELAKIS A., MIHOU A.P., COULADOUROS E.A., ZOUNOS A.S. K and KOLIOPOULOS G., 2005 - Oviposition responses of *Culex pipiens* to a synthetic racemic *Culex quinquefasciatus* oviposition aggregation pheromone. *Journal of Agricultural and Food chemistry*, 4 : 1-5.
90. MILLS C., CLEARY B., GILMER J. and WALSH J., 2004 – Inhibition of acetylcholinesterase by tea tree oil. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* 56, 375-379.
91. MIRAJ S. and KIANI S., 2016 – Study of pharmacological effect of *Thymus vulgaris*: A review. *Der Pharmacia Lettre*, 8 (9): 315-320.
92. MOHAMED A., EL-SAYED M., MOHAMED E., HELAL Y.S., ESMAIL A. and MOHAMED N., 2010 – Chemical Constituents and Biological Activities of *Artemisia herba-alba*. *Rec. Nat. Prod.* 4 (1): 1-25.
93. MORICE E., 1972 – Tests de normalité d'une distribution observée. *Revue de statistique appliquée*, Tome 20, n° 2, pp. 5-35.
94. MOUCHET J., 1980 – Lutte contre les vecteurs et nuisances en Santé Publique. *Encycl. méd. Chir.*, Paris, *Maladies infectieuses* 8120B, 10 : 1-16.
95. MURIEL G., 2005 - Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire. Toulouse, 55 p.
96. NAM V., YEN N., DUC M., THANG V. and LE H., 2012 - Community-based control of *Aedes aegypti* by using *Mesocyclops* in Southern Vietnam. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 86 : 850–859.
97. NEDJIMI B., 2012 – Seasonal variation in productivity, water relations and ion contents of *Atriplex halimus* spp. *schweinfurthii* grown in Chott Zehrez wetland, Algeria. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences* 11, 43-49.
98. NEDJIMI B., BELADEL B. and GUIT B., 2012 – Biodiversity of Halophytic Vegetation in Chott Zehrez Lake of Djelfa (Algeria). *American Journal of Plant Sciences*, 3, 1527-1534.
99. NEDJIMI B., GUIT B., TOUMI M., BELADEL B., AKAM A. et DAOUD Y., 2013 – *Atriplex halimus* subsp. *schweinfurthii* (Chenopodiaceae) : Description, écologie et utilisations pastorales et thérapeutiques. *Fourrages*, 216, 333-338.
100. O.M.S, 1999 – La lutte antivectorielle - Méthodes à usage individuel et communautaire. Sous la direction de Jan A. Rozendaal, Genève, Suisse, 540 p.
101. O.M.S, 2004 – Lutte contre les vecteurs du paludisme. Organisation Mondiale de la Santé : WHO/CDS/W.H.OPES/2002. 5Rev.1

- 102.** O.M.S, 2013 – Gestion des gîtes larvaires une mesure supplémentaire pour la lutte antivectorielle contre le paludisme. Manuel de procédures pratiques. Organisation mondiale de la Santé, 2 p.
- 103.** ORTI'Z-DORDA J., MARTI'NEZ-MORA C., CORREAL E., SIMON M. and CENIS L., Genetic Structure of *Atriplex halimus* populations in the Mediterranean Basin. *Annals of Botany* 95: 827–834.
- 104.** OUDAINIA W., 2014 – Etude bioécologique et systématique des Culicidae de la région d'Oum El Bouaghi. Effet de la température sur l'agressivité et la biologie de *Culex pipiens*. Thèse de Doctorat, Université Badji Mokhta Annaba, 162 p.
- 105.** PATES H. and CURTIS C., 2005 – Mosquito behavior and vector control. *Annu. Rev. Entomol.* 50: 53-70.
- 106.** PAVELA R., 2016 – History, presence and perspective of using plant extracts as commercial botanical insecticides and farm products for protection against insects – a review. *Plant Protect. Sci.* Vol. 52, n° 4: 229-241.
- 107.** PRANATI D., JYOTI RANJAN R., PREETI K., SAGORIKA P., PALLABI P., CHANDI C., CHINMAY P. and SANTI LATA S., 2018 – Larvicidal and Pupicidal activity of *Clerodendrum philippinum* Schauer Leaf Extracts against *Anopheles stephensi* and *Aedes aegypti*. *Pharmacognosy Journal*, 10 (6): 1137-1142.
- 108.** PRIESTLEY C., WILLIAMSON M., WAFFORD A. and SATELLE D., 2003 – Thymol, a constituent of thyme essential oil, is a positive allosteric modulator of human GABAA receptors and a homo-oligomeric GABA receptor from *Drosophila melanogaster*. *British Journal of Pharmacology* 140, 1363.
- 109.** RAGEAU J. et DELAVEAU P., 1980 – Effets toxiques d'extraits de végétaux sur les larves de moustiques. *Bulletin de la Société de Pathologie exotique* 72: 168-171.
- 110.** RAMADE F., 2007 – Introduction à l'écotoxicologie : fondement et application. Ed. AUPEL-UREF, Paris, pp. 179-191.
- 111.** RAMAR M., PAULRAJ M. and IGNACIMUTHU S., 2013 – Screening of pupicidal activity of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say. *Peak J. Med. Plant Res.*, 1, 9-12.
- 112.** RATTAN R., 2010 – Mechanism of action of insecticidal secondary metabolites of plant origin. *Crop Protection* 29: 913-920.
- 113.** REGNAULT-ROGER., 1997 – The potential of botanical essential oils for insect pest control. *Integrated Pest Management Reviews*, 2, pp. 25-34.

- 114.** REHIMI N. and SOLTANI N., 1999 – Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis inhibitor agonist *Culex pipiens* L. (Diptera, Culicidae). Effects on development and cuticule secretion. *J. Appl. Ent.*, 123, 437-441.
- 115.** REKKAB S., ABAZA I., CHIBANI S., KABOUCHE A. and KABOUCHE Z., 2016 – Chemical composition of the essential oil of aerial parts of *Artemisia herba-alba* Asso. from Oum El-Bouaghi (Algeria) and chemotaxonomic survey. *J. Mater. Environ. Sci.* 7 (12) : 4383-4390.
- 116.** RESNIK D., 2012 – Ethical issues in field trials of genetically modified disease-resistant mosquitoes [en ligne]. *Developing World Bioethics*. doi: 10.1111/dewb.12011.
- 117.** RESSEGUIER P., 2011 – Contribution à l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens*. Thèse de Doctorat, Université Paul – Sabatier. Toulouse, 80 p.
- 118.** RODHAIN F., 2015 – Insects as vectors: systematics and biology. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)*, 34 (1), 83-96.
- 119.** SHALABY A. and KHATER H., 2005 – Toxicity of certain solvent extracts of *Rosmarinus officinalis* against *Culex pipiens* larvae. *Journal of Egyptian-German Society of Zoology* 48, 69-80.
- 120.** SIEGEL F., 2016 – Practical Business Statistics, Chapter 15, Seventh Edition. Elsevier Inc., 24 p.
- 121.** SOLTANI N., 2015 – Les moustiques : risques sanitaires, bioessais et stratégies de contrôle. Conférence Introductive, 1<sup>er</sup> Séminaire National sur l'Entomologie Médicale et la lutte Biologique Tébessa, 13 p.
- 122.** SPARKS T. and NAUEN R., 2014 – IRAC: Mode of action classification and insecticide resistance management. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1-7.
- 123.** SZCZEPANIK B., ZAWITOWSKA A., SZUMNY S., 2012 – Insecticidal activities of *Thymus vulgaris* essential oil and its components (thymol and carvacrol) against larvae of lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* Panzer (Coleoptera: Tenebrionidae). *Allelopathy Journal*, 30 (1), 129-142.
- 124.** TCHOUMBOUGNANG F., DONGMO M., SAMEZA M., MBANJO G., FOTSO B., ZOLLO H. et MENUT C., 2009 – Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 13 (1) : 77-84.
- 125.** TILAOUI M., AIT MOUSE H., JAAFARI A. and ZYAD A., 2015 – Comparative phytochemical analysis of essential oils from different biological parts of *Artemisia herba alba* and their cytotoxic effect on cancer cells. *Plos One*, 21: 1-15.

- 126.** TONG F., 2010 – *Investigation of mechanisms of action of monoterpenoid insecticides on insect gamma aminobutyric acid receptors and nicotinic acetylcholine receptors*. Thèse de Doctorat, Univ. de Iowa, 112 p.
- 127.** TOURE D., 2015 – *Études chimique et biologique des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques médicinales de côte d'ivoire*. Thèse de Doctorat, Univ. Côte d'Ivoire, 116 p.
- 128.** VENNA P., TRIPATHIA K., AGGARWALK K. and KHANUJAS P.S., 2005 – Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technology* 96 (16), 1749-1757.
- 129.** VÖLLINGER, M., 1987 – The Possible Development of Resistance against Neem Seed Kernel Extract and Deltamethrin in *Plutella xylostella*. In: H. Schmutterer and K. R. S. Ascher, Eds., *Natural Pesticides from the Neem Tree (Azadirachta indica A. Juss) and other Tropical Plants*, Proceedings of 3rd International Neem Conference, German Agency for Technical Cooperation (GTZ), Eschborn, 1987, pp. 543-554.
- 130.** WANG W., LI N., LUO M., ZU Y. and EFFERTH T., 2012 – Antibacterial activity and anticancer activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil compared to that of its main components. *Molecules*.17: 2704-2713.
- 131.** WASH, 2016 – Lutte antivectorielle et mesures de prévention contre le moustique *Aedes aegypti* dans les contextes Zika, Fièvre jaune, Dengue ou Chikungunya. Groupe Régional WASH (Eau, Assainissement, Hygiène) d'Afrique de l'Ouest et Centrale, 25 p.
- 132.** W.H.O, 2005 – Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides. World Health Organization, 41 p.
- 133.** WIGGLESWORTH V.B., 1972 – The principal of insect physiology. Chapman and Hill. London.
- 134.** YOUSSEFI M., TABARI M., ESFANDIARI A., KAZEMI S., MOGHADAMNIA A., SUT S., ACQUA S., BENELLI G. and MAGGI F., 2019 – Efficacy of two monoterpenoids, carvacrol and thymol, and their combinations against eggs and larvae of the West Nile Vector *Culex pipiens*. *Molecules*, 24 (10) : 1-11.



# *Résumés*



## تقييم تأثير الزيوت الأساسية والمستخلصات المائية لبعض النباتات كمبيدات يرقيّة و حورية ضد *Culex pipiens* في الجلفة

### الملخص :

الدراسة الحالية تقترح طريقة لمكافحة مختلف اطوار نمو بعوضة *Culex pipiens* (طور4 من اليرقات و الحوريات) وذلك انطلاقا من استعمال الزيوت الاساسية و المستخلصات المائية لنبته الشيح *Artemisia herba alba* و القطف *Atriplex halimus* و الاكليل *Rosmarinus officinalis* و الزعتر *Thymus vulgaris*. ثلاث تراكيز تم تحضيرها من كل مستخلص وذلك لاختبار فعاليتها على اليرقات و الحوريات, اتضح ان نسبة الوفيات عند اليرقات و الحوريات المعالجة بالزيوت الاساسية اعلى من التي تم علاجها بالمستخلصات المائية النتائج المتحصل عليها اظهرت فعالية جيدة للزيوت الاساسية كمبيدات يرقيّة و مبيدات حورية بجرعة مميتة و سطية ( $DL_{50}$ ) بالنسبة لليرقات بـ  $0.089 \mu\text{l/ml}$  بالنسبة للزيت الاساسي لـ *Thymus vulgaris* و  $0.404 \mu\text{l/ml}$  بالنسبة للزيت الاساسي لـ *Atriplex halimus* و  $1.024 \mu\text{l/ml}$  بالنسبة للزيت الاساسي لـ *Rosmarinus officinalis* و  $3.278 \mu\text{l/ml}$  بالنسبة للزيت الاساسي لـ *Artemisia herba alba*. اما بالنسبة للحوريات فقدر التركيز بـ  $1.024 \mu\text{l/ml}$  بالنسبة للزيت الاساسي لـ *Thymus vulgaris* و  $1.024 \mu\text{l/ml}$  بالنسبة للزيت الاساسي لـ *Atriplex halimus* و  $1.168 \mu\text{l/ml}$  بالنسبة للزيت الاساسي لـ *Rosmarinus officinalis* و  $1.213 \mu\text{l/ml}$  بالنسبة للزيت الاساسي لـ *Artemisia herba alba*. و فيما يخص المستخلصات المائية فقد اظهرت النتائج فعاليتها المعتبرة كمبيدات يرقيّة و مبيدات حورية بجرعة مميتة و سطية ( $DL_{50}$ ) بالنسبة لليرقات بـ  $123.918 \text{ mg/ml}$  بالنسبة للمستخلص المائي لـ *Artemisia herba alba* و  $146.339 \text{ mg/ml}$  بالنسبة للمستخلص المائي لـ *Atriplex halimus* و  $184.522 \text{ mg/ml}$  بالنسبة للمستخلص المائي لـ *Rosmarinus officinalis* و  $187.702 \text{ mg/ml}$  بالنسبة للمستخلص المائي لـ *Thymus vulgaris*. اما بالنسبة للحوريات بـ  $121.4 \text{ mg/ml}$  بالنسبة للمستخلص المائي لـ *Artemisia herba alba* و  $137.0 \text{ mg/ml}$  بالنسبة للمستخلص المائي لـ *Rosmarinus officinalis* و  $153.7 \text{ mg/ml}$  بالنسبة للمستخلص المائي لـ *Atriplex halimus* و  $102.11 \text{ mg/ml}$  بالنسبة للمستخلص المائي لـ *Thymus vulgaris*.

**الكلمات المفتاحية :** زيت اساسي، مستخلص مائي، مبيدات يرقيّة، مبيدات حورية، يرقات، حوريات



## Evaluation de l'effet larvicide et nymphicide des huiles essentielles et des extraits aqueux de quelques plantes contre *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) à Djelfa

### Résumé :

La présente recherche propose une méthode de lutte contre les stades pré-imaginaux de *Culex pipiens* (L<sub>4</sub> et nymphes) à base d'huile essentielle et des extraits aqueux d'*Artemisia herba alba*, *Atriplex halimus*, *Rosmarinus officinalis* et *Thymus vulgaris*. Trois concentrations sont préparées à partir de chaque extrait et directement testées sur les larves (L<sub>4</sub>) et les nymphes. Le taux de mortalité des larves et des nymphes après un traitement par les huiles essentielles est plus important par celui lui obtenu après un traitement des larves et des nymphes par les extraits aqueux. Les résultats montrent que les huiles essentielles présentent une activité larvicide et nymphicide importante avec des DL<sub>50</sub> pour les larves égales à 0,089 µl/ml pour *Thymus vulgaris*, 0,404 µl/ml pour *Atriplex halimus*, 1,024 µl/ml pour *Rosmarinus officinalis* et 3,278 µl/ml pour *Artemisia herba alba*. Pour les nymphes la DL<sub>50</sub> égale à 1,024 µl/ml pour *Thymus vulgaris*, 1,024 µl/ml pour *Atriplex halimus*, 1,168 µl/ml pour *Rosmarinus officinalis* et 1,213 µl/ml pour *Artemisia herba alba*. Les extraits aqueux présentent une activité larvicide et nymphicide considérable avec des DL<sub>50</sub> correspondant pour les larves à 123,918 mg/ml pour *Artemisia herba alba*, 146,339 mg/ml pour *Atriplex halimus*, 184,522 mg/ml pour *Rosmarinus officinalis* et 187,702 mg/ml pour *Thymus vulgaris*. Pour les nymphes, la DL<sub>50</sub> correspond à 121,4 mg/ml pour *Artemisia herba alba*, 137,0 mg/ml pour *Rosmarinus officinalis*, 153,7 mg/ml pour *Atriplex halimus* et 102,11 mg/ml pour *Thymus vulgaris*.

**Mots clés :** huiles essentielles, extraits aqueux, larvicide, nymphicide, *Culex pipiens*, larve, nymphe.

## **Evaluation of the larvicidal and pupicidal effect of essential oils and aqueous extracts of some plants against *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae) in Djelfa**

### **Abstract :**

The present research proposes a method for controlling the pre-imaginary stages of *Culex pipiens* (L<sub>4</sub> and pupae) based on essential oil and aqueous extracts of *Artemisia herba alba*, *Atriplex halimus*, *Rosmarinus officinalis* and *Thymus vulgaris*. Three concentrations are prepared from each extract and directly tested on larvae (L<sub>4</sub>) and pupae. The mortality rate of larvae and pupae after treatment with essential oils is more important than that obtained after treatment of larvae and pupae by aqueous extracts. The results show that the essential oils have a major larvicidal and pupicidal activity with LD<sub>50</sub> for larvae equal to 0.089 µl/ml for *Thymus vulgaris*, 0.404 µl/ml for *Atriplex halimus*, 1.024 µl/ml for *Rosmarinus officinalis* and 3.278 µl/ml for *Artemisia herba alba*. For pupae, the LD<sub>50</sub> is equal to 1.024 µl/ml for *Thymus vulgaris*, 1.024 µl/ml for *Atriplex halimus*, 1.168 µl/ml for *Rosmarinus officinalis* and 1.213 µl/ml for *Artemisia herba alba*. The aqueous extracts show considerable larvicidal and pupicidal activity with LD<sub>50</sub> for larvae corresponds to 123.918 mg/ml for *Artemisia herba alba*, 146.39 mg/ml for *Atriplex halimus*, 184.52 mg/ml for *Rosmarinus officinalis* and 187.70 mg/ml for *Thymus vulgaris*. As for pupae, the LD<sub>50</sub> corresponds to 121.4 mg/ml for *Artemisia herba alba*, 137.0 mg/ml for *Rosmarinus officinalis*, 153.7 mg/ml for *Atriplex halimus* and 102.11 mg/ml for *Thymus vulgaris*.

**Keywords:** essential oils, aqueous extracts, larvicidal, pupicidal, *Culex pipiens*, larva, pupa.