



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Echahide Chikh Larbi Tébessa –Tébessa

Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie

Département: Biologie Des Etres Vivants

Domaine: Science de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Ecophysiologie animale



MEMOIRE: présente en vue de l'obtention de diplôme de MASTER

**Thème :**

# Evaluation d'un biocide végétal de la région de Tébessa contre une espèce de moustique

Présentées par:

**AMROUNE Dounia**

**CHORFI Niama**

Devant les membres de jury :

Dr. DRIS Djemaa

Université de Tébessa

Présidente

Pr.BOUABIDA Hayette

Université de Tébessa

Promotrice

Dr.SEGHIR Hanene

Université de Tébessa

Examinatrice

**Date de soutenance : 10-06-2023**

Note :.....

Mention :.....

## *Remerciements*

En terminant notre mémoire de fin d'étude, nous rendons grâce à dieu de nous avoir donné la volonté, ainsi que la conscience pour la réalisation de ce travail. Nous tenons surtout à adresser nos plus vifs remerciement à

Notre encadrant Mme Bouabida Hayette pour son soutien et son encouragement aussi bien pour sa patience jusqu'à la fin de ce modeste travail Nous ne saurons jamais oublier sa disponibilité et ses recommandations continuent pour nous

Nos sincères remerciements s'adressent aux Mme Dris Djemaa pour d'avoir acceptez de présider ce jury et pour toute l'aide et soutien qu'elle nous a manifeste

On remercie vivement Mme Seghír Hanene d'avoir acceptez de juger ce modeste travail

Un grand merci aux collègues du travail, les techniciens de laboratoire pour leur aide, leur amitié, leur gentillesse et leur soutien moral.

Nous adressons nos sincères remerciements à tous les Enseignants qui ont contribué à notre formation, à qui nous Présentons notre profonde gratitude.

# Dédicace

L'aide de dieu tout puissant, qui m'a tracé le chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

A la lumière de mes yeux, le bonheur de ma vie ma mère, à mon cher père, qui m'a apporté leurs appuis durant toutes mes années d'étude, pour leurs sacrifices et leur soutien, qui m'ont donné confiance, courage et sécurité, et j'espère que je puisse leur rendre le minimum de bonheur qu'ils m'ont offert, et que Allah les protège et les garde à mes côtés

A Mme. Bouabida merci beaucoup pour votre collaboration acharnée avec nous.

A mes très chers amis Takwa, Nada, Nour, Dounia zed, Nourhan, Tassnim.

A mes sœurs Samira, Fulla, Habiba, Kawther, Billa, Chahed, Intisar.

Merci pour votre encouragement et confiance.

A toutes les personnes qui ont partagé avec moi des moments appréciables.



## *Dédicace*

J'ai le grand plaisir de dédier ce modeste travail

A ma très chère mère, qui me donne toujours l'espoir de vivre et qui n'a  
jamais cessé de prier pour moi.

A mon très cher père, pour ses encouragements, son soutien surtout pour  
son amour et son sacrifice afin que rien n'entrave le déroulement de  
mes études

A mon frères Achref et mes sœurs Kaouther, Amani, Assil,  
NourAlyakín, A tout ma famille, et la famille de mon mari

A mes meilleurs amis Takwa, Nada, Nour, Dounia, Nourhan, Tassnim.

Et mes chers collègues et tout qui m'aide

Et complusse ce travail

En fin, je remercie mon binôme et ma sœur Dounia, la personne la plus  
chère à mon cœur et ma partenaire dans mes études, dans ma joie et ma  
peine.



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

**Sommaire:**

Liste des tableaux	
Liste des figures	
ملخص	
Abstract	
Résumé	
Introduction	1
Matérielle et méthode	
1. Matériels animale	3
1.1. Généralité sur la famille Culicidae	3
1.2. Présentation de <i>Culiseta longiareolata</i>	3
1.3. Caractéristique du <i>Culiseta longiareolata</i>	4
1.4. Position systématique de <i>Culiseta longiareolata</i>	4
1.5. Cycle de développement de <i>Culiseta longiareolata</i>	5
1.6. Morphologie des différents stades	5
1.6.1 Stade Œufs	6
1.6.2. Stade larvaire	6
1.6.3. Stade pupal	7
1.6.4. Stade adulte	7
1.7. Moyens de lutte contre les moustiques	9
1.7.1. Lutte chimique	9
1.7.2. Lutte biologique	9
1.8. Maladies transmises par les moustiques	9
2. Matériels végétale	10
2.1. Généralités sur les <i>Apocynaceae</i>	10
2.2. Présentation de laurier rose	10
2.3. Présentation de genre <i>Nerium</i>	10
2.4. Espèce <i>Nerium oleander</i>	10
2.5. Noms communs	11
2.6. Classification	11
2.7. Description botanique	12
2.8. Conditions de croissance	13
2.9. Répartition géographique	13
2.10. Toxicité de <i>Nerium oleander</i>	13

---

2.11. Activité pharmacologique	13
2.11.1. Activité antibactérienne	13
2.11.2. Activité hépato protectrice et antioxydante	14
2.11.3. Activité anti-inflammatoire	14
3. Méthodes expérimentale dans laboratoire	14
3.1. Préparation de la matière végétale	14
3.2. Technique de séchage	14
4. Préparation de l'extrait	15
4.1. L'extrait aqueux	15
4.2. L'extrait éthanolique	16
5. Screening phytochimique	18
5.1. Recherche de flavonoïdes	18
5.2. Recherches des quinones	19
5.3. Recherche de saponines	19
5.4. Recherche des tanins	20
5.5. Recherche des terpenoïdes et des stéroïdes	21
5.6. Recherche des alcaloïdes	21
6. Détermination du rendement	22
7. Technique d'échantillonnage	22
8. Techniques d'élevage	23
9. Effet sur la croissance	23
10. Dosage des métabolites	24
10.1. Dosage des protéines totales	27
10.2. Dosage des glucides totaux	27
10.3. Dosage des lipides totaux	28
Résultats	
1. Détermination du rendement d'extraction	31
2. Extrait éthanolique	31
3. Extrait Aqueux	31
4. Résultats de l'étude phytochimique	31
5. Etude morphométrique	32
6. Effet des extrait de <i>neruim oleander</i> à l'égard de <i>Culiseta longiareolata</i>	32
6.1. Croissance pondérale	32
6.2. Croissance linéaire	33

7. Composition biochimique.	34
7.1. Effet sur le contenu en protéines	34
7.2. Effet sur le contenu en glucides	35
7.3. Effet sur le contenu en lipides	36
Discussion	
1. Rendement d'extraction de plante <i>Nerium oleander</i>	37
2. Screening phytochimique	37
3. Effet sur la croissance	38
Conclusion	40
Référence bibliographique	41

**Liste des tableaux :**

<b>N°</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
1	<b>Tableau 01 :</b> Position systématique de <i>Culiseta longiareolata</i> .	4
2	<b>Tableau 02:</b> Classification de <i>N.oleander</i> .	11
3	<b>Tableau 03:</b> Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	28
4	<b>Tableau 4:</b> Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	29
5	<b>Tableau 05. .</b> Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	30
6	<b>Tableau 06 :</b> .Le rendement des extraits	32
7	<b>Tableau 07.</b> Screening phytochimique de la plante	32
8	<b>Tableau08 :</b> l'extrait <i>N.oleander</i> aqueux et l'extrait <i>N.oleander</i> éthanolique (CL25) sur le poids.	33
9	<b>Tableau 09 :</b> Effet d'extrait (CL25) sur la largeur du thorax	35

## Liste des figures :

N°	Titre	Page
1	<i>Culiseta longiareolata</i> (site internet).	3
2	Cycle de développement de <i>Culiseta longiareolata</i> .	5
3	Les œufs de <i>Cs. Longiareolata</i> .	5
4	Les quatre stades larvaires L1, L2, L3, L4 de <i>Culiseta longiareolata</i> .	6
5	Aspect général d'une nymphe de <i>Culiseta longiareolata</i> .	7
6	Aspect général des adultes de <i>Culiseta longiareolata</i> .	7
7	Vue générale des adultes de <i>Culiseta longiareolata</i> .	8
8	Cycle de transmission des maladies par les moustiques.	9
9	Laurier rose.	11
10	Différentes parties de <i>N. oleander</i> .	12
11	<i>Nerium oleander</i> .	14
12	Fleurs de la plante <i>Nerium oleander</i> après séchage.	15
13	Fleurs de la plante <i>Nerium oleander</i> après broyage.	15
14	Différentes étapes de préparation de l'extrait aqueux du <i>Nerium oleander</i> .	16
15	Résume les Différentes étapes de préparation de l'extrait éthanolique de <i>Nerium oleander</i> .	18
16	Résume les Différentes étapes (Recherche de flavonoïde).	19
17	Résume les Différentes étapes (Recherches des quinones).	20
18	Résume les Différentes étapes (Recherche de saponines).	21
19	Résume les Différentes étapes ( Recherche des tanins).	21
20	Résume les Différentes étapes ( Recherche des terpenoïdes et des stéroïdes).	22
21	Résume les Différentes étapes( Recherche des alcaloïdes).	23
22	Collecte des moustiques dans la région de Tébessa.	24
23	Photographie représentant la technique du test de croissance.	25
24	résume les Différentes étapes de dosage métabolite.	26
25	Extraction des glucides, protéines et lipides totaux.	27
26	Dosage des protéines totales.	28
27	Dosage des lipides totaux.	30
28	Dosage des lipides totaux.	35
29	Effet l'extrait <i>N.oleander</i> aqueux et l'extrait <i>N.oleander</i> éthanolique (CL25) sur le poids (mg).	33
30	Effet de l'extrait <i>N.oleander</i> (CL25) sur la largeur du thorax (mm).	34
31	Effets des extraits aqueux et éthanolique de sur le contenu en protéines	35
32	Effets des extraits aqueux sur le contenu en glucides.	36
33	Effets des extraits aqueux sur le contenu en lipide.	36

**Liste des symboles :**

<b>Symboles</b>	<b>Titre</b>
<i>Cs. Longiareolata</i>	<i>Culiseta longiareolata.</i>
<b>CL25</b>	La mortalité de 25% de la population.
-	Négatif
+	Positif
<b>Mm</b>	Millimètre
<b>Mg</b>	Milligramme
<b>mL</b>	Millilitre
<b>Min</b>	Minute
<b>G</b>	Gramme
<b>L4</b>	Larve de stade 4
<b>MI</b>	Microlitre
<b>H</b>	Heure
<b>M</b>	Masse en gramme de l'extrait brut
<b>M0</b>	Masse en gramme de la poudre végétale utilisée
<b>Nm</b>	Nanomètre
<b>R %</b>	Rendement(%)
<b>Trs</b>	Tours
°C	Degré Celsius
<b>M</b>	Moyenne
<b>S</b>	Ecart type
<b>N</b>	Nombre de répétitions
<b>P</b>	Coefficient de signification
±	Plus ou moins
%	Pourcentage

## ملخص:

تهدف هذه الدراسة الى تجريب مفعول المستخلصات المائية و الإيثانولية من نبات الدفلة *Nerium oleander* على نوع من البعوض *Culiseta longiareolata* واسع الانتشار في منطقة تبسة و تأثيرها على عرض الصدر و الوزن ليرقات المرحلة الرابعة لمدة 24 48 72 ساعة ,ظروف المختبر وفقا لتوصيات منظمة الصحة العالمية. تم تسجيل المردود في المستخلصات *N.oleander* الإيثانولية و المائية بنسبة %32.1 و % 13.6 والفحص الكيميائي الضوئي لمعرفة التركيب الكيميائي للنبات الذي يحتوي على العديد من المكونات مثل : الفلافونويدات، الصابونين، التانينات، والانتوسيان. تمت معالجة يرقات المرحلة الرابعة بتركيزات الإيثانولية 3 مل والمائية 2.5 مل من اجل معرفة تأثير سمية نبات الدفلة *N.oleander* على الوزن والطول و الايضات.

## كلمات مفتاحية:

مستخلص، *Culiseta longiareolata* ، *Nerium oleander*، الفحص الكيميائي الضوئي.

**Abstract:**

This study aims to test the effect of aqueous and ethanolic extracts from *Nerium oleander* in respect of one species of mosquito *Culiseta longiareolata* most widespread in the Tebessa region at the impact on the weight and width of the thorax of the fourth stage L4 larvae for 24 hours, 48h and 72h the laboratory conditions according to the recommendations of the World Health Organization.

Yields were recorded in *N.oleander* aqueous and ethanolic extracts of 32.1% 13.6% and respectively. As well as doing phytochemical screening to know the chemical compositions of the plant that contains many components such as:

Flavonoids, saponins, tannins and anthocyanins.

Stage L4 larvae were treated with 3 ml ethanol and 2.5 ml aqueous to determine the effect of *N.oleander* toxicity on weight, length and metabolism.

**Key words:**

Extract, *Culiseta longiareolata*, *Nerium oleander*, phytochemical screening.

**Résumé :**

Cette étude vise à tester l'effet des extraits aqueux et éthanolique du *Nerium oleander* à l'égard une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* la plus répandue dans la région Tébessa. à l'impact sur le poids et la largeur du thorax des larve du quatrième stade L4 pendant 24h, 48h et 72h les conditions du laboratoire selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé.

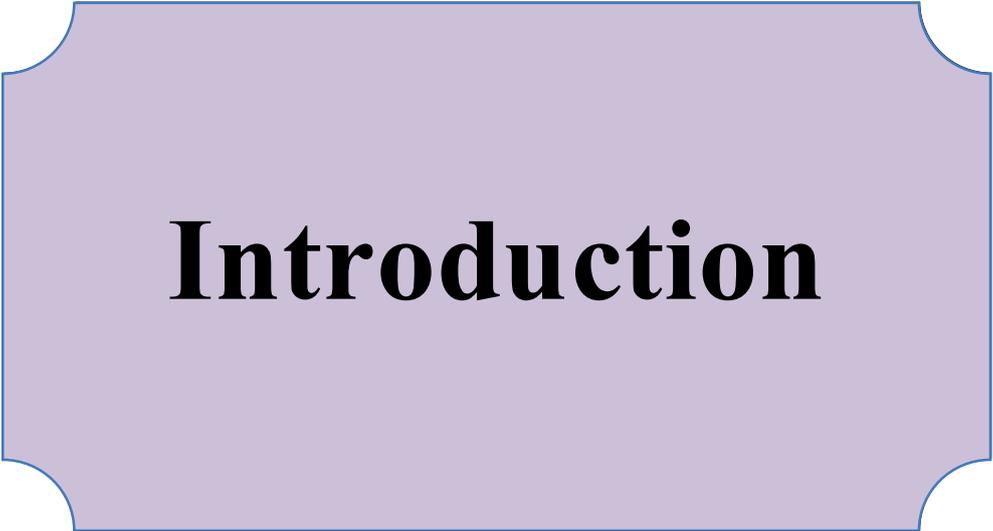
Les rendements a été enregistrés dans les extraits *N.oleander* aqueux et éthanolique de 32.1% 13.6 % et respectivement Ainsi que faire le screening phytochimique pour connaît les compositions chimiques de la plante qui contient de nombreux composants tels que:

Flavonoïdes, saponines, tanins et anthocyanes.

Les larves de quatrième stade L4 ont été traitées avec des concentrations d'éthanol de 3 ml et aqueux de 2,5 ml afin de connaître l'effet de la toxicité du *N.oleander* sur le poids, la longueur et le métabolisme.

**Mots clés :**

Extraits, *Culiseta longiareolata*, *Nerium oleander*, screening phytochimique.



# **Introduction**

## **Introduction**

L'embranchement des Arthropodes est la plus de succès sur notre planète. On les trouve dans tous les habitats, des sommets enneigés aux puits abyssaux, des déserts aux forêts tropicales. La biodiversité des arthropodes leur confère une place considérable dans le monde animal. Il y a 1 025 millions d'espèces d'Arthropodes décrites dans la biosphère. Le nombre estimé est de 8,750 millions, dont 9/10 sont des insectes **(Hamaidia et Berchi, 2018)**. L'insecte étaient les premiers arthropodes, ils sont maintenant reconnus comme arthropodes les plus importants affectant la santé humaine **(Khaligh et al., 2020)**.

Les moustiques sont des insectes qui appartiennent à la famille des *Culicidae*, classée dans l'ordre des *Diptères* et du sous-ordre des *Nématocères*. Ils occupent une place importante dans la faune terrestre comme dans la faune aquatique. **(Koumba et al., 2020)**. Les moustiques transmettent aux humains et aux animaux de nombreuses maladies causées par des pathogènes microbiens, notamment des virus, des bactéries, des protozoaires et des nématodes filaires. Parmi ces maladies transmises par les moustiques : fièvre, encéphalite, dengue, chikungunya, Zita et dirofilariase **(Rueda, 2020)**.

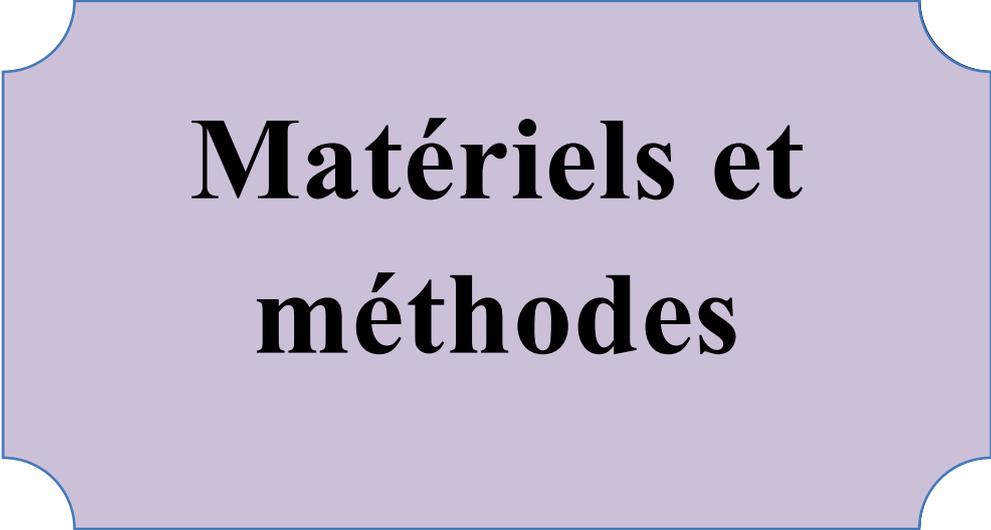
Depuis l'antiquité, l'homme a cherché des moyens de protection contre les piqûres d'insectes vectorielles. Plusieurs méthodes ont été entreprises dans le monde, comprenant la lutte chimique et la lutte biologique. Les premières stratégies de lutte intégrée sont essentiellement basées sur des matières actives des insecticides appartenant aux familles suivantes : les organophosphorés, les pyrethrinoides de synthèse, les organochlorés et les carbamates de synthèse **(Benhissen et al., 2019)**.

Les insecticides chimiques ont fonctionné pour le contrôle des vecteurs de maladies pendant de nombreuses années. Cependant, ils ont entraîné un problème de résistance aux insectes. De plus, l'utilisation continue d'insecticides chimiques a souvent conduit à la pollution de l'environnement et à de graves dommages à la santé et à l'écosystème, comme l'empoisonnement, les dommages génétiques, le cancer et la mortalité. Ces restrictions créent une opportunité de marché importante pour les agents alternatifs de lutte biologique. Des efforts sont faits pour séparer, filtrer et améliorer les phytochimiques (insecticides botaniques) qui possèdent une activité insecticide, ces derniers sont biodégradables, non toxiques et ne déclen-chent pas la contamination des aliments, du sol ou de l'eau et sont facilement disponibles dans le monde entier **(Dalia., 2019)**.

De plus Les plantes médicinales font partie de centaines de milliers de plantes dans le monde, qui ont évolué sur une longue période de l'histoire géologique **(Da-cheng et al.,**

**2019).** Naturellement, les composés botaniques contiennent beaucoup de principes actifs qui peuvent interrompre le cycle de vie des moustiques et réduire les nuisances causées par ceux-ci aux humains. Des travaux ont été menés sur de nombreuses plantes médicinales pour leurs effets insecticides (**Abagli et Alavo, 2020**).

Dans ce contexte, notre étude a été consacrée à l'évaluation de l'effet d'un nouvelle insecticide à base des extraits éthanolique et aqueux de plante *Nerium oleander* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* la plus répandue dans la région de Tébessa.



**Matériels et  
méthodes**

## Matériels et méthodes

### 1. Matériels animale

#### 1.1. Généralité sur la famille *Culicidae*:

Les moustiques appartiennent au règne Animal, au sous-règne des Métazoaires ou animaux formés de plusieurs cellules, à l'embranchement des Arthropodes et à la classe des Insectes. Ces Insectes métamorphose complète, et de l'ordre des Diptères sont caractérisés par deux paires d'ailes dont la deuxième est transformé en haltère (**Darriet, 2014**). C'est au sous ordre des Nématocères (pièces buccales modifiées pour piquer ou sucer), à la famille des *Culicidae* qu'appartiennent les moustiques. Leur développement comme celui de tout insecte à métamorphose complète (holométabole) se déroule en deux phases à savoir (**Roth, 1980**).

- La phase aquatique regroupant: l'œuf, les quatre stades larvaires et la nymphe.
- La phase aérienne qui concerne l'adulte ailé ou imago.

Cette *famille* est divisée en trois sous familles: les Toxorhynchitinae, les Anophelinae et les *Culicinae*, et comprend environ 3000 espèces (**Clements, 1992**).

#### 1.2. Présentation de *Culiseta longiareolata* :

Les moustiques ont toujours été considérés comme source de nuisance pour l'homme principalement en raison du fait qu'ils peuvent être des vecteurs de maladies. *Culiseta longiareolata* est un insecte nuisible à métamorphose complète. Il fait partie des Diptères, famille des *Culicidés*. Ce moustique est d'une taille qui varie de 3 à 5mm. Il possède un corps mince, et des pattes longues, et fines avec des ailes membraneuses, longues, et étroites (**Villeneuve et Desire, 1965**).

*Culiseta longiareolata* est l'espèce de moustique la plus intéressante en Algérie, en particulier dans la région de Tébessa (**Bouabida et al., 2017**).



**Figure 01:** *Culiseta longiareolata* (site internet).

### 1.3. Caractéristique du *Culiseta longiareolata*:

\_ *Cs. Longiareolata* est multivoltine, peut présenter une diapause hivernale chez les imagos femelles (régions froides) et chez les larves (régions tempérées).

\_ Les adultes sont présents toute l'année avec un max de densité au printemps et un autre en automne (Brunhes *et al.*, 1999).

\_ Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs (Boulkenafete, 2006).

\_ La larve est caractérisée par un peigne siphonal dont ses dents sont implantées irrégulièrement.

\_ Chez l'adulte, on remarque la présence au moins d'une tache d'écailles sombres sur l'aile, le thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues (Brunhes *et al.*, 1999).

### 1.4. Position systématique de *Culiseta longiareolata* :

Position systématique de *Cs. Longiareolata* comme suit :

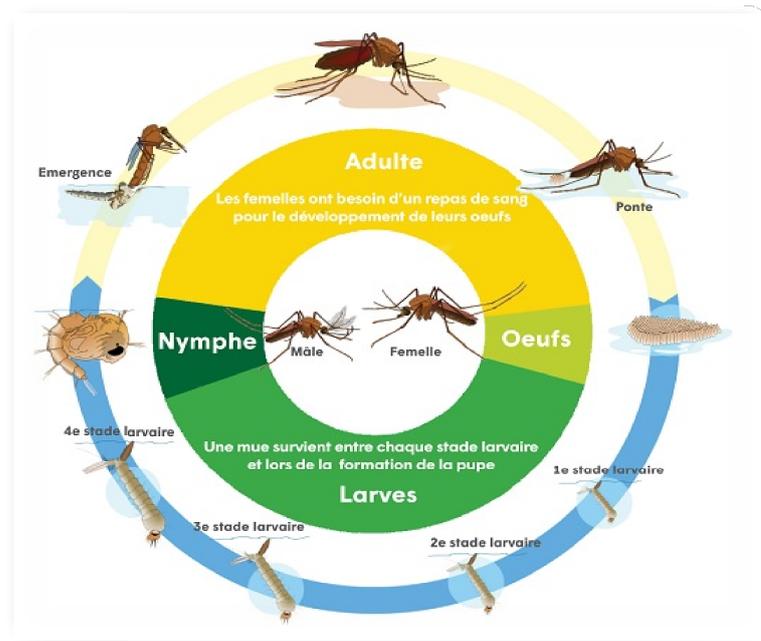
**Tableau 01** : Position systématique de *Culiseta longiareolata* (Messai, 2021).

<b>Règne</b>	<b>Animalia</b>
<b>Sous-règne</b>	Metazoa
<b>Embranchement</b>	Arthropoda
<b>Sous Embranchement</b>	Hexapoda
<b>Super-classe</b>	Protostomia
<b>Classe</b>	Insecta
<b>Sous-classe</b>	Pterygota
<b>Infra-classe</b>	Neoptera
<b>Super-ordre</b>	Endopterygota
<b>Ordre</b>	Diptera
<b>Sous- ordre</b>	Nematocera
<b>Infra-ordre</b>	Culicomorpha
<b>Famille</b>	Culicidae
<b>Sous-famille</b>	Culicinae
<b>Genre</b>	<i>Culiseta</i>
<b>Espèce</b>	<i>Culiseta longiareolata</i>

### 1.5. Cycle de développement de *Culiseta longiareolata*:

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze (12) à vingt (20) jours et comprend quatre (4) stades : l'œuf, la larve, la nymphe (pupe) et l'adulte. Cette métamorphose se déroule en deux phases, une phase aquatique et une phase aérienne (**Matoug, 2018**).

Les adultes ou imago, sont aériens alors que les œufs, les larves et les nymphes constituent les stades pré-imaginaux et vivent dans l'eau douce le plus souvent ou parfois saumâtre (**Dris, 2019**).



**Figure 02** : Cycle de développement de *Culiseta longiareolata* (site internet).

### 1.6. Morphologie des différents stades :

#### 1.6.1 Stade Œufs :

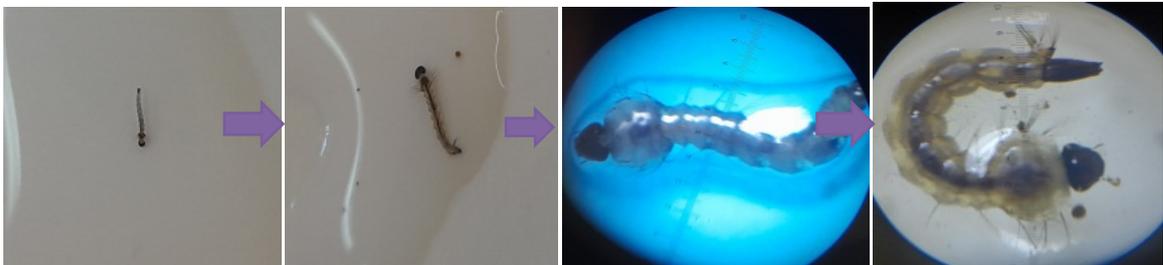
L'œuf est généralement fusiforme et mesure environ 0,5 mm. Au moment de la ponte, il est blanchâtre et prend rapidement, par oxydation des composants chimiques de la thèque, une couleur marron ou noire (**Messai, 2017**) sont déposés à la surface de l'eau par les femelles, dont l'état de l'eau est toujours stagnant et riche en matières organiques (**Paul, 2009**).



**Figure 03**: Les œufs de *Cs. Longiareolata*.

### 1.6.2. Stade larvaire :

Les larves sont de type carnivore, vivent environ 10 jours. caractérisées par un peigne siphonal dont les dents sont implantées de façon irrégulière (**Fig.04**). Les culicidés ont quatre mues larvaires de morphologie comparable, à l'exception de la taille (1 mm-1,5 cm). Les trois premiers stades présentent généralement des spécificités chetotaxiques variables, ce qui permet l'identification des espèces. Les critères morphologiques utiles en systématique concernent la quatrième étape. Les larves de *Culicidae* diffèrent des autres insectes aquatiques par l'absence de pattes, formant l'ordre des nématodes. Ces larves sont clairement composées de trois parties; la tête a une paire d'antennes, des pièces buccales déchiquetées, un thorax plus large que la tête et l'abdomen (**Fig.04**) (**Djabri, 2021**).



**Figure 04:** les quatre stades larvaires L1, L2, L3, L4 de *Culiseta longiareolata*.

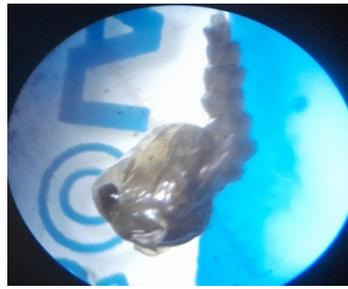
### 1.6.3. Stade pupal :

Elle est en forme de virgule ou de point d'interrogation. Sa tête fusionne avec le thorax pour constituer un ensemble très développé appelé céphalothorax. Deux trompettes respiratoires s'ouvrent dorsalement au niveau du céphalothorax. L'abdomen est constitué de dix segments dont huit sont visibles. Le segment N° huit portes deux palettes natatoires pouvant elles-mêmes s'orner de denticules ou de soies. Il existe également de nombreuses soies sur les segments abdominaux. La nymphe comprend trois parties (**Hassaine, 2002**) :

\_ Les nageoires ou palettes natatoires, très aplaties, de forme généralement ovale, parfois asymétrique.

\_ Les segments abdominaux qui sont au nombre de neuf, cependant, la poche génitale, visible à la nageoire constituerait le dixième segment.

\_ Le céphalothorax constitué de tubercules méta thoraciques, de trompettes respiratoires qui fournissent de bons caractères taxonomiques et des soies céphaliques.



**Figure 05:** Aspect général d'une nymphe de *Culiseta longiareolata*.

#### 1.6.4. Stade adulte :

Le moustique adulte a un corps allongé, de 5 à 20 millimètres de long (**Rodhain& Perez, 1985**). Le corps comporte trois parties : la tête, le thorax, l'abdomen.



**Figure 06 :** Aspect général des adultes de *Culiseta longiareolata*.

#### \*La tête:

La tête est un des éléments permettant de différencier les mâles des femelles, ainsi que les genres et espèces (**Anonyme, 2004**) Elle comprend deux yeux composés, de nombreuses ommatidies s'étendant sur les faces latérales mais aussi sur une grande partie de la face dorsale et sur la face ventrale. Entre les yeux s'insèrent deux antennes constituées de 15 articles chez les mâles, 16 chez les femelles. Chez les mâles, elles portent de longs et nombreux verticilles de soies (antennes plumeuses).

Chez les femelles, les soies sont plus courtes et nettement moins nombreuses (antennes glabres). En dessous des antennes et de part et d'autre du proboscis se situent deux palpes maxillaires penta-articulés. Les palpes maxillaires sont longs, dilatés ou non à leur extrémité, suivant le genre et le sexe. Les six pièces buccales, transformées en stylets vulnérants, se disposent dans une gouttière formée par le labium pour constituer la trompe vulnérante. Le labium présente à son extrémité deux languettes mobiles appelées labelles. (**Arbaoui, 2017**).

**\* Le thorax:**

Il est globuleux, composé de trois segments soudés : prothorax, mésothorax et métathorax, dont chacun présente une partie dorsale (tergum) et une partie ventrale (sternum), les pièces latérales étant des pleurs. Sur chacun de ces segments s'insère une paire de pattes. Le mésothorax, très développé, porte en plus une paire d'ailes, une paire de stigmates et un prolongement appelés scutellum. Le métathorax porte une paire de balanciers (ou haltères). (Arbaoui, 2017).

**\*Les pattes:**

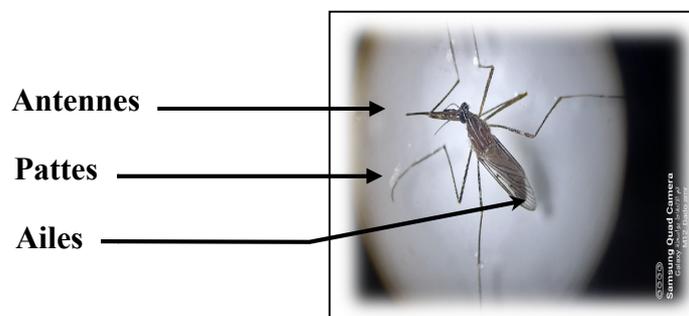
Trois paires de pattes longues et grêles, souvent marquées de bandes blanches près du corps ou à l'autre extrémité. Chaque patte se compose de cinq parties : le coxa, le trochanter, le fémur, le tibia, le tarse lui-même composé de cinq articles, dont le dernier porte deux griffes. (Arbaoui, 2017).

**\*Les ailes:**

Les ailes des *Culiseta longiareolata*, comme chez tous les Diptères présentent des nervures costales bariolées, des écailles sombres et des écailles claires. Les nervures et les balanciers sont en rapport avec la puissance de vol du moustique (Seguy, 1950). Des écailles de formes, de couleurs et de dispositions variées, couvrent également les segments thoraciques et les pattes. (Arbaoui, 2017).

**\*L'abdomen :**

Il possède dix segments, mais seuls les huit premiers sont différenciés et visibles extérieurement. Chacun d'eux présente une partie dorsale (tergite) et une partie ventrale (sternite), reliées par une membrane souple latérale. Ces segments sont ornés de soies et d'écailles de couleur et de disposition variées. Les deux derniers segments sont modifiés pour les fonctions reproductrices. (Arbaoui, 2017).



**Figure 07:** Vue générale des adultes de *Culiseta longiareolata*

## 1.7. Moyens de lutte contre les moustiques :

### 1.7.1. Lutte chimique :

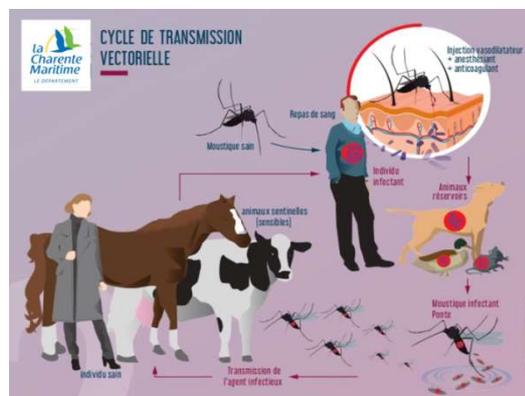
Les opérations de démoustication visent essentiellement l'imago, les produits utilisés le plus couramment sont les organochlorés, les organophosphorés, les carbamates, les pyréthrinoides, le chlorpyrifos, le fénitrothion, le fenthion, l'iodofenphos. (Tabti, 2017).

### 1.7.2. Lutte biologique :

La lutte biologique contre les moustiques ou autres espèces nuisibles ,consiste à introduire dans leurs biotopes des espèces qui sont leurs ennemis naturels, par exemple, des parasites, des micro-organismes pathogènes ou des prédateurs ( virus, bactéries, protozoaires, champignons, végétaux divers, nématodes , poissons ...) (Bendali *et al.*, 1989).

## 1.8. Maladies transmises par les moustiques :

Les maladies transmises par les moustiques sont transmises à l'homme par la piqûre d'un moustique infecté par un parasite comme dans le cas du paludisme ou par un virus comme dans le cas de la dengue, de la fièvre jaune, du chikungunya, du virus du Nil occidental, du virus Zika, Etc. En outre, les moustiques peuvent non seulement transmettre des maladies qui affligent les humains, mais aussi transmettre des pathogènes graves auxquels les chiens et les chevaux sont sensibles, tels que le ver de cœur de chien, l'encéphalite équine orientale et l'encéphalite équine occidentale (Fig.08) (Rueda, 2020).



**Figure 08:**Cycle de transmission des maladies par les moustiques (Alzeano, 2022).

## 2. Matériels végétale

### 2.1. Généralités sur les *Apocynaceae*:

Les *Apocynaceae* sont une famille de plantes eudicotylédones (Dicotylédones vraies) de l'ordre des Gentianales (Judde *et al.*,2002), qui comprend environ 180 genres et plus de 1300 espèces réparties en 4 sous-familles (Hostettman *et al.*,2000).principalement réparties dans les régions tropicales (Shriff *et al*, 2006). Les *Apocynaceae* Ce sont, pour la plupart, des lianes ou des plantes herbacées, quelques arbres ou arbustes, à latex, à feuilles persistantes (Judde *et al*, 2002).

### 2.2. Présentation de laurier rose:

Le Laurier-rose (*Nerium oleander*) est une espèce d'arbustes ou de petits arbres de la famille des Apocynacées, qui comporte un risque de toxicité systémique lorsqu'il est pris par voie orale en raison de la présence de glycosides cardiaques, principalement l'oléandrine (Langford et Boor, 1996).C'est une plante très commune dans le bassin méditerranéen. On la trouve presque partout au Maroc, dans les endroits humides, le long des rivières (Charnot, 1945) Cette plante appartient à la liste des produits chimiques qui peuvent provoquer des brûlures cutanées lorsqu'ils sont absorbés par la peau (Bakkali *et al.*, 2010).

### 2.3. Présentation de genre *Nerium*:

Le genre *Nerium* regroupe dans le monde deux espèces :

- Nerium oleander* L.
- Nerium indicum* Mill.

*Nerium indicum* est largement utilisée en médecine traditionnelle chinoise, pour stimuler les muscles cardiaques, soulager les douleurs et comme insecticide (Shan *et al.*, 2004). Les écorces de *N. indicum* ont été signalées comme douées d'une activité molluscicide contre *Lymnaea acuminata* (Singh *et al.*, 1998).

### 2.4. Espèce *Nerium oleander* :

Le *Nerium oleander* (Figure 09) (appelée localement Défla) est un arbuste. Le nom latin *Nerium* vient du grec nerion signifiant « humide », indiquant la prédilection de cette plante pour les zones humides (Anonyme, 2009).Nom spécifique *oleander* vient de l'italien de «oleandro » qui vient du latin « olea » qui désigne l'olivier faisant référence à la ressemblance des feuillages.



**Figure 09:** Laurier rose

### 2.5. Noms communs :

*Nerium oleander* est connu sous différentes dénominations communes selon les pays et régions considérés (Laib, 2013) :

**Nom anglais :** Rose-bay

**Nom allemand :** Rosenlorbeer

**Nom espagnol :** Laurel rosa

**Nom italien :** Oleandro

**Nom français :** Laurier rose

**Nom arabe :** El-defla الدفلة

**Kabyle :** Illili (Bayer *et al.*, 2005 ; Orecchio et Amorello, 2010).

### 2.6. Classification:

Selon (Chaudhary et Prasad, 2014) laurier rose est classé comme suit :

**Tableau 02:** Classification de *N.oleander* (Chaudhary et Prasad, 2014).

<b>Domaine</b>	Eukaryota
<b>Règne</b>	Plantae
<b>Division</b>	Angiospermae
<b>Classe</b>	Dicotyledoneae
<b>Ordre</b>	Gentianales
<b>Famille</b>	Apocynaceae
<b>Genre</b>	<i>Nerium</i>
<b>Espèce</b>	<i>Nerium oleander L.</i>

## 2.7. Description botanique:

*Nerium oleander* est un arbuste toxique à tiges nombreuses pouvant atteindre 5 m de haut. Les feuilles longuement lancéolées sont opposées, coriaces et persistantes. Leur face inférieure, à forte nervure principale, est vert pâle (Gifa, 2009). Les fleurs poussent en grappes à la fin de chaque branche ; ils sont blancs, roses à rouges, 2,5–5 cm de diamètre, avec une corolle frangée profondément à 5 lobes autour du tube central de la corolle. Elle fleurit du printemps à la fin de l'été. Le fruit est une longue capsule étroite de 5–23 cm de long, qui se divise à maturité pour libérer de nombreuses graines duveteuses (Paris, 1971; Bruneton, 2001; Hussain, 2004; Delille, 2007).



**Feuilles**



**Fleurs**



**Fruits**



**Graines**

**Figure 10:** Différentes parties de *N. oleander*.

## 2.8. Conditions de croissance:

Sa croissance est rapide. Les lauriers roses résistent facilement jusqu'à à 8°C, ses longues racines lui permettent de chercher l'eau à grande profondeur dans le lit des rivières à sec **(Benston, 1984 ; Aubineau et al, 2002)**.

Le laurier rose se trouve dans les régions méditerranéennes Il préfère :

- \_ Le climat marin chaud et humide.
- \_ Un sol à PH plutôt basique.
- \_ Pas trop riche en non tolérant à la salinité et pauvre en Matière organique.

## 2.9. Répartition géographique

En Afrique du Nord, le *N. oleander* est assez commun dans la zone steppique. En Algérie sa présence est assez commune, surtout sur les alluvions et les terrains rocailloux. Il avance le long des oueds dans le Sahara du Nord et se retrouve dans les montagnes du Tassili et du Hoggar. Le *N. oleander* se répartit maintenant dans de nombreuses régions du globe au climat méditerranéen ou subtropical (Californie, Australie...). **(Banon et al, 2006)**.

## 2.10. Toxicité de *Nerium oleander*:

Les hétérosides cardiotoniques principaux constituants de *Nerium* les toxiques sont reconnus à cette espèce **(Bruneton, 2001)**.

*Nerium* est une plante toxique par ingestion de ces diverses parties (feuilles, fleurs, tiges,...). Sa toxicité envers l'homme, l'animal et certains insectes a fait l'objet de plusieurs études **(Almahy et al., 2006)**. *Nerium* étant plus souvent associé à des intoxications accidentelles chez les enfants ou même chez les animaux domestiques **(Bruneton, 2001)**.

L'empoisonnement peut être causé par l'ingestion d'une seule feuille verte ou séchée qui peut s'avérer mortelle pour un adulte. Les premiers signes de l'intoxication : inconscience, irritation de muqueuses, nausées, vomissement, douleurs abdominales, diarrhée, polypnée, troubles cardiaques graves, brûlure de la peau parfois signalée chez les sujets sensibles. Les symptômes apparaissent plusieurs heures (72h) après l'ingestion d'une quantité toxique **(Adom et al., 2003)**.

## 2.11. Activité pharmacologique :

Cette plante a des propriétés antimicrobiennes **(Eisawi et al., 2010)**, antifongique **(Siddiqui et al., 2016)**, insecticides **(Bagari et al., 2013)** et une activité antioxydant **(Mohadjerani, 2012)**.

### 2.11.1. Activité antibactérienne :

Les feuilles de *Nerium oleander* possèdent une activité antibactérienne dans des extraits sélectionnés de benzène et d'éthanol contre le micro-organisme Gram positif *Bacillus subtilis* mais une activité négligeable contre le micro-organisme Gram positif E-coli. Une étude comparative de l'activité antibactérienne des deux extraits avec l'antibiotique standard

Ofloxacin a montré une zone d'inhibition relativement plus élevée pour l'extrait éthanolique que l'extrait benzénique, donc l'extrait éthanolique possède une activité antibactérienne potentielle par rapport à l'extrait benzénique contre *Bacillus subtilis* (Doijad *et al.*, 2013).

### 2.11.2. Activité hépatoprotectrice et antioxydante :

*Nerium oleander* possède une activité hépatoprotectrice et antioxydant de l'extrait méthanolique de fleurs de *Nerium oleander* contre les lésions hépatiques induites par CCl<sub>4</sub> chez le rat (Singhal & Gupta, 2012).

### 2.11.3. Activité anti-inflammatoire :

Ont signalé une activité anti-inflammatoire et anti nociceptive in vivo à partir des extraits éthanoliques de fleurs séchées et fraîches de *N. oleander* contre le modèle d'œdème de la patte arrière induit par le carraghénane chez la souris sans induire de dommages gastriques (Nurgun *et al.*, 2003).

## 3. Méthodes expérimentale dans laboratoire :

### 3.1. Préparation de la matière végétale :

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des fleurs des plantes de « *Nerium oleander* ». Les fleurs ont été récoltées le 10 novembre 2022 de la région de Tébessa.



**Figure 11:** *Nerium oleander*

### 3.2. Technique de séchage:

Le séchage consiste à abaisser la teneur en eau contenue dans la plante étudiée. La plante (**Figure 12**) était séchée à l'air libre et à l'abri de la lumière pour préserver au maximum l'intégrité des molécules, en évitant les altérations et la prolifération des micro organismes dans un endroit sec, à température ambiante et aéré pendant 3 mois. Après le séchage, la plante est finement broyée en poudre à l'aide d'un broyeur électrique (**figure 13**) puis stockée dans des bocaux en verre jusqu'à l'utilisation.



**Figure 12 : Fleurs de la plante *Nerium oleander* après séchage**



**Figure 13 : Fleurs de la plante *Nerium oleander* après broyage**

#### **4. Préparation de l'extrait**

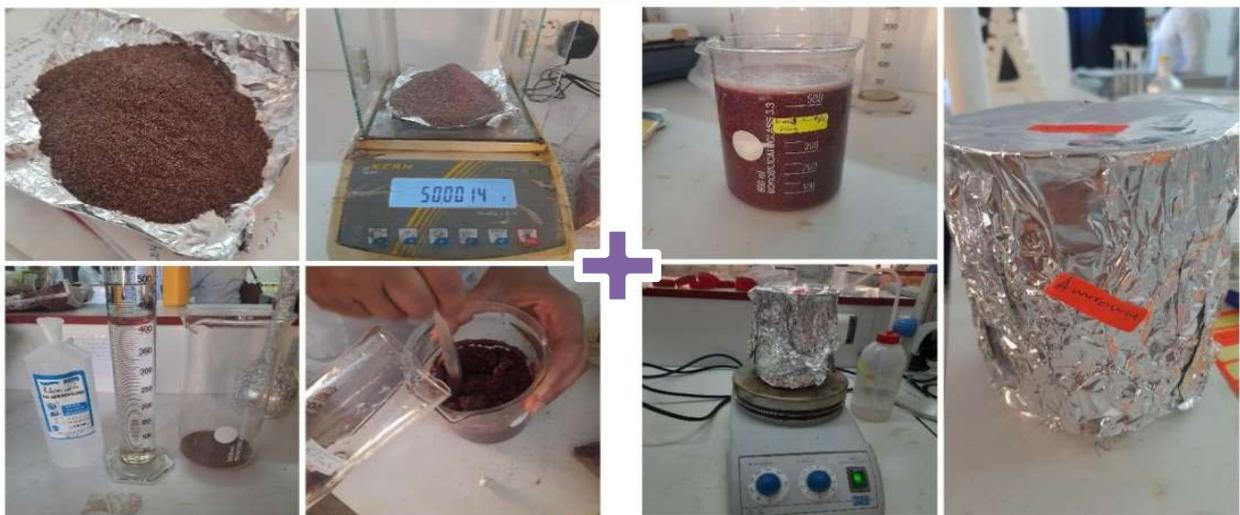
##### **4.1. L'extrait aqueux:**

50g de la poudre végétal (les fleurs de « *Nerium oleander* ») a été mise à une extraction par macération avec 500 mL d'eau distillée. Le mélange (la 1<sup>ère</sup> macération) est soumis à une agitation par un agitateur magnétique pendant 24h à une température ambiante. Puis filtrés par un papier filtre.

Et dans le 2<sup>ème</sup> macération on mit la poudre avec 500mL d'eau distillée. Le mélange est agité pendant 24 heures. L'ensemble est filtré sur papier filtre.

L'extrait obtenu est placée à l'étuve à 45°C « *Nerium oleander* » pendant 3 jours pour éliminer le solvant et sécher l'extrait. Finalement la quantité de l'extrait obtenu est pesée dans une balance pour le calcul du rendement.

**La figure 14** résume les différentes étapes qui nous ont permis d'obtenir l'extrait aqueux.



50g de la poudre +500mL d'eau distillée

Agitation pendant 24h



Séchage dans l'étuve + l'extrait aqueux

Filtration sur papier filtre

Figure 14: Différentes étapes de préparation de l'extrait aqueux du *Nerium oleander*.

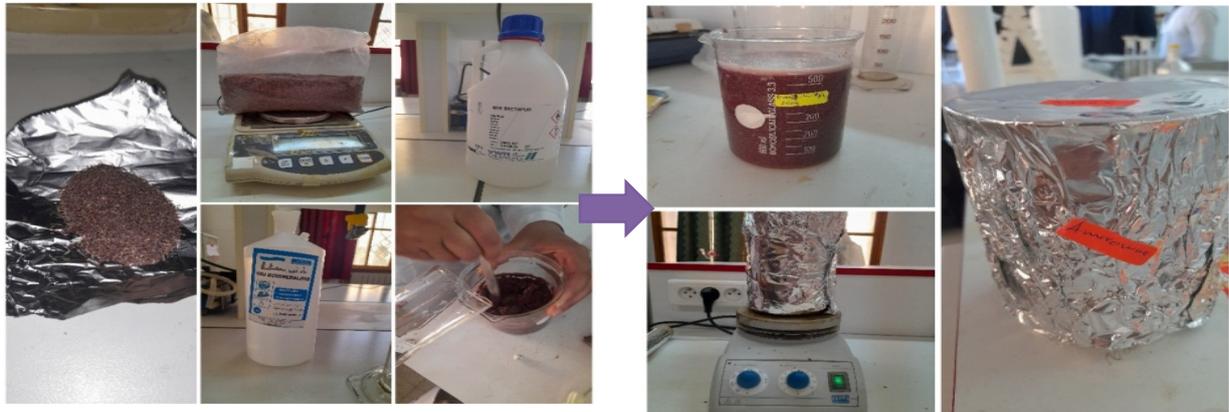
#### 4.2. L'extrait éthanolique:

L'extrait éthanolique de plante «*Nerium oleander*» a été préparé à partir de 100g de poudre des fleurs qui a été mise à macérer dans 800mL éthanol plus 200mL d'eau distillée, sur un agitateur pendant 24h à température ambiante (la 1ère macération). Après, le mélange est filtré sur un papier filtre.

Dans le 2ème macération on mit la poudre avec 800mL éthanol plus 200mL d'eau distillée pendant 24 heures, après 2ème filtration on mélange les deux filtrats.

Ensuite, pour éliminer le méthanol, le filtrat est soumis à une évaporation sous vide à l'aide d'un Rota-vapeur pendant 30 à 50 minutes. À la fin, la quantité de l'extrait obtenu est pesée pour le calcul du rendement.

La figure 15 résume les Différentes étapes de préparation de l'extrait éthanolique.



100g de poudre +800mL éthanol + 200mL d'eau distillée

Agitation pendant 24h



Séchage dans rota vape

Filtration sur papier filtre



Extrait éthanolique

Figure 15: Différentes étapes de préparation de l'extrait éthanolique du *Nerium oleander*.

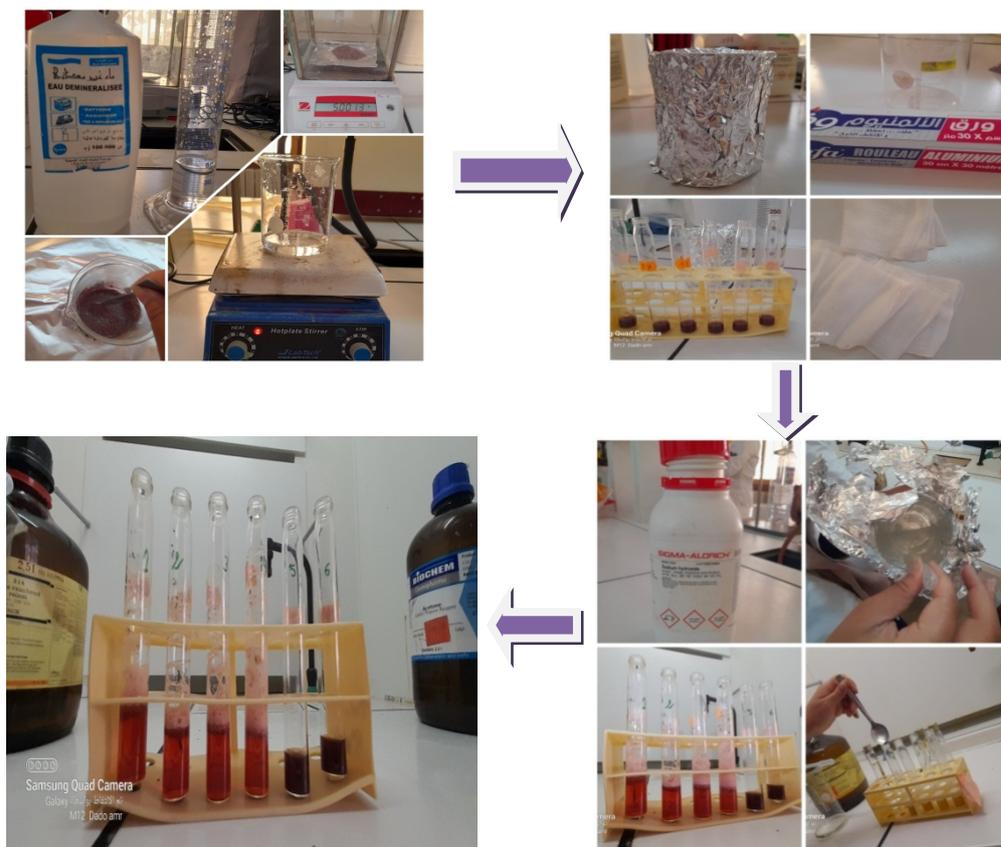
## 5. Screening phytochimique:

### 5.1. Recherche de flavonoïdes et des leucoanthocyane

**Principe :** En présence de NaOH 1N, de HCl concentré et des copeaux de Magnésium, les flavonoïdes donnent les réactions de coloration caractéristique. La même réaction effectuée au bain marie en absence de copeaux de Magnésium, l'apparition de la coloration rouge confirme la présence des leucoanthocyanes.

#### **Mode opératoire :**

5 g de matériel végétal placés dans un Erlenmeyer sont infusés dans 50 mL d'eau distillée pendant 30 minutes. Après filtration, prélever 6 mL d'infusé et les introduire dans 3 tubes à essai à raison de 2 mL par tube. Additionner respectivement à l'infusé contenu dans les 3 tubes à essai, 1 mL de NaOH, 1mL d'eau distillée et 1mL de HCl concentré et de copeaux de Magnésium. En présence des flavonoïdes, les colorations suivantes : rouge, jaune-rougeâtre, rouge à rouge-violacé, rouge-foncé au violet ou bleu, jaune et rose peuvent être observées. Ces couleurs correspondent respectivement aux anthocyanes, flavones, flavonols, flavonones, isoflavones et leucoanthocyane.



**La figure 16 :** Résume les Différentes étapes (Recherche de flavonoïde).

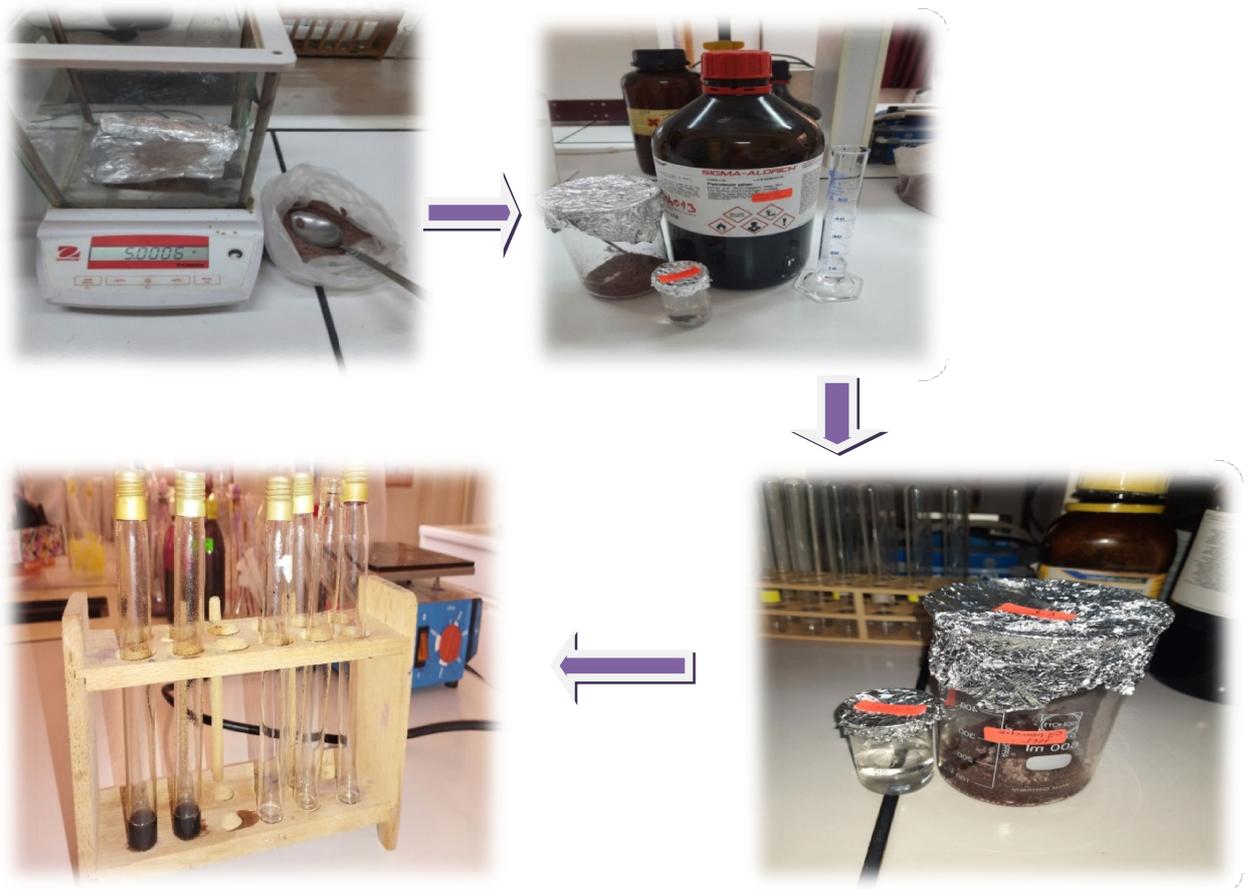
## 5.2. Recherches des quinones

### Principe :

En présence de NaOH à 10 %, les solutions des quinones présentent une coloration caractéristique virant du rouge au violet.

### Mode opératoire :

Broyer 5 g de matériel végétal et les humecter de quelques gouttes de HCl. Mettre à macération ce matériel végétal pendant une heure ou 24 heures dans un Erlen Meyer fermé et contenant 10 mL d'éther de pétrole. Après filtration, 2 mL de filtrat sont agités avec 2 mL de NaOH à 10 %. La coloration rouge virant au violet apparaît en présence des quinones.



La figure 17 : Résume les Différentes étapes (Recherches des quinones).

## 5.3. Recherche de saponines

### Principe :

Par agitation, une mousse persistante dont la hauteur est mesurable apparaît dans les solutions de saponines.

### Mode opératoire :

5 g de matériel végétal trituré sont mis dans un Erlen Meyer dans lequel on y ajoute 50 mL d'eau distillée pour réaliser une décoction pendant 30 minutes. Après refroidissement,

filtrer et prélever 5 mL du décocté et les introduire dans un tube à essai de 16 mm de diamètre et 160 mm de hauteur après agitation. L'apparition d'une mousse persistante indique la présence des saponines. Cependant, en cas d'une faible mousse, le décocté est testé avec un mélange à volume égal de  $H_2SO_4$  1N et  $K_2CrO_3$  à 10 % (chrome de potassium).



La figure 18 : Résumé les Différentes étapes(Recherche de saponines)

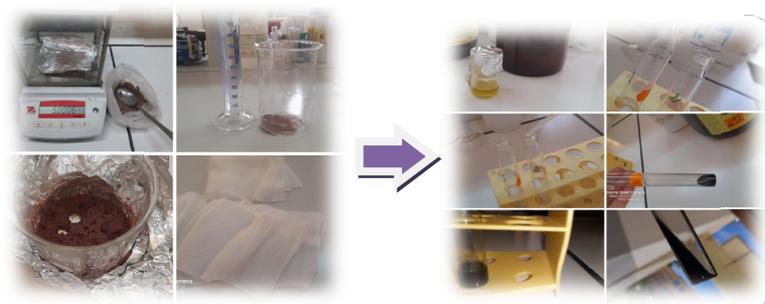
#### 5.4. Recherche des tanins

##### Principe :

En présence de Chlorure ferrique à 1% ; les extraits aqueux tanniques donnent des colorations bleu-vert, bleu-sombre et verte ou des précipités.

##### Mode opératoire :

5 g de matériel végétal sont infusés dans 50 mL d'eau bouillante contenue dans un Erlen Meyer pendant 30 minutes. 2 mL de l'infusé sont prélevés et mis dans un tube à essai dans lequel on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à 1%. L'apparition d'une coloration ou la formation d'un précipité indique la présence des tanins catéchiqes. Prendre encore 2 mL de l'infusé et les placer dans un tube à essai saturé en acétate de sodium et y ajouter quelques gouttes de  $FeCl_3$ . La formation d'un précipité indique la présence des tanins galliques.



La figure 19 : Résumé les Différentes étapes ( Recherche des tanins)

## 5.5. Recherche des terpenoïdes et des stéroïdes

### Principe

En présence de l'acide acétique anhydre et de l'acide sulfurique concentré (réactif de LIEBERMAN-BURCHARD), l'extrait organique étheré contenant les stéroïdes donne des colorations mauves et vertes. L'identification des terpenoïdes suit le même schéma en plus de l'ajout du réactif de Hirschson (acide trichloracétique). La couleur jaune virant au rouge indique la présence de terpenoïdes.

### Mode opératoire

Prendre 1g de matériel végétal qu'on met à macération pendant 24 heures dans l'éther de pétrole ou dans le benzène. Après filtration et introduction dans un Erlen Meyer de 100 ml, le solvant est évaporé au bain de sable. Le résidu est récupéré par 1 mL de chloroforme, 1 mL d'anhydride acétique et 3 gouttes d'acide sulfurique concentré. Il se produit une coloration violette devenant progressivement verte. La coloration verte se stabilise au bout de 30 minutes et indique la présence des stéroïdes.

Par ailleurs, 2 mL de la solution acidifiée sont traités par quelques gouttes de réactif de HIRSCHSON. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des terpenoïdes.



**La figure 20 :** Résume les Différentes étapes (Recherche des terpenoïdes et des stéroïdes )

## 5.6. Recherche des alcaloïdes

### Principe:

La mise en évidence des alcaloïdes consiste à les précipiter à l'aide de six réactifs de précipitation à savoir : - réactif de DRAGENDORFF,- réactif de MAYER, - réactif de HAGER, - réactif de BERTRAND, -réactif de WAGNER et -le réactif de SONNENSCHNEIN. Toutefois selon Abisch la présence des alcaloïdes n'est confirmée que lorsque chacun de six réactifs donne un précipité.

**Mode opératoire :**

Prendre 1 g de poudre de matière végétale sèche qu'on met à macérer dans 10 mL de méthanol à la température ambiante pendant 24 heures, puis à l'étuve à 50 °C pendant 4 heures. La solution obtenue est filtrée, lavée avec des portions de méthanol chaud. Ensuite, on évapore à sec la solution obtenue à l'étuve à 50°C. Le résidu est recueilli deux fois par 2 mL de solution chaude d'acide chlorhydrique 1% et est filtré.

La solution acide obtenue est basifiée par l'ammoniaque concentrée dans une ampoule à décanter. On y ajoute 15 mL de Chloroforme qui sera évaporé à sec à l'air libre et le résidu obtenu, est repris par 0,5 mL de HCl 1% et agiter.

Ainsi, les alcaloïdes ayant été protonés sont supposés être passés en phases aqueuses. La phase aqueuse au dessus est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur. Six gouttes sont déposées sur une lame porte-objet



**La figure 21 :** Résume les Différentes étapes( Recherche des alcaloïdes).

**6. Détermination du rendement:**

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après le séchage, et exprimé en pourcentage(%). Il est calculé suivant la formule présentée ci-dessous (**Aberrane, 2019**) :

$$R(\%) = [M/M_0] \times 100$$

R(%) : rendement en (%)

M : masse en gramme de l'extrait brut

M<sub>0</sub>: masse en gramme de la poudre végétale utilisée

**7. Technique d'échantillonnage:**

Les récoltes des larves de moustiques ont été effectuées par des prélèvements tous les 15 jours. Pour l'échantillonnage, nous avons utilisé la méthode de « Dipping » ; elle consiste à récolter dans plusieurs endroits du gîte et sans répétition à l'aide d'un récipient d'une capacité d'1 litre. L'identification a été réalisée à l'aide des clés d'identification (**Hamaidia et Berchi, 2018**).



**Figure 22:** Collecte des moustiques dans la région de Tébessa.

### 8. Techniques d'élevage:

Les larves de moustiques sont élevées dans des mares temporaires situées dans la région El Hammamet Tébessa et élevées au laboratoire dans des récipients en plastique contenant d'eau nourries avec du mélange biscuit 75% levure 25%. Le régime alimentaire joue un grand rôle dans la fécondité car les protéines permettent à la femelle de pondre plus d'œufs par rapport aux femelles nourries de sucre seulement. Lorsque les larves atteignent le stade nymphal, elles sont placées dans des récipients et déposées dans des cages où elles se transformeront en adulte (**Tine-Djebbar et al., 2016**).

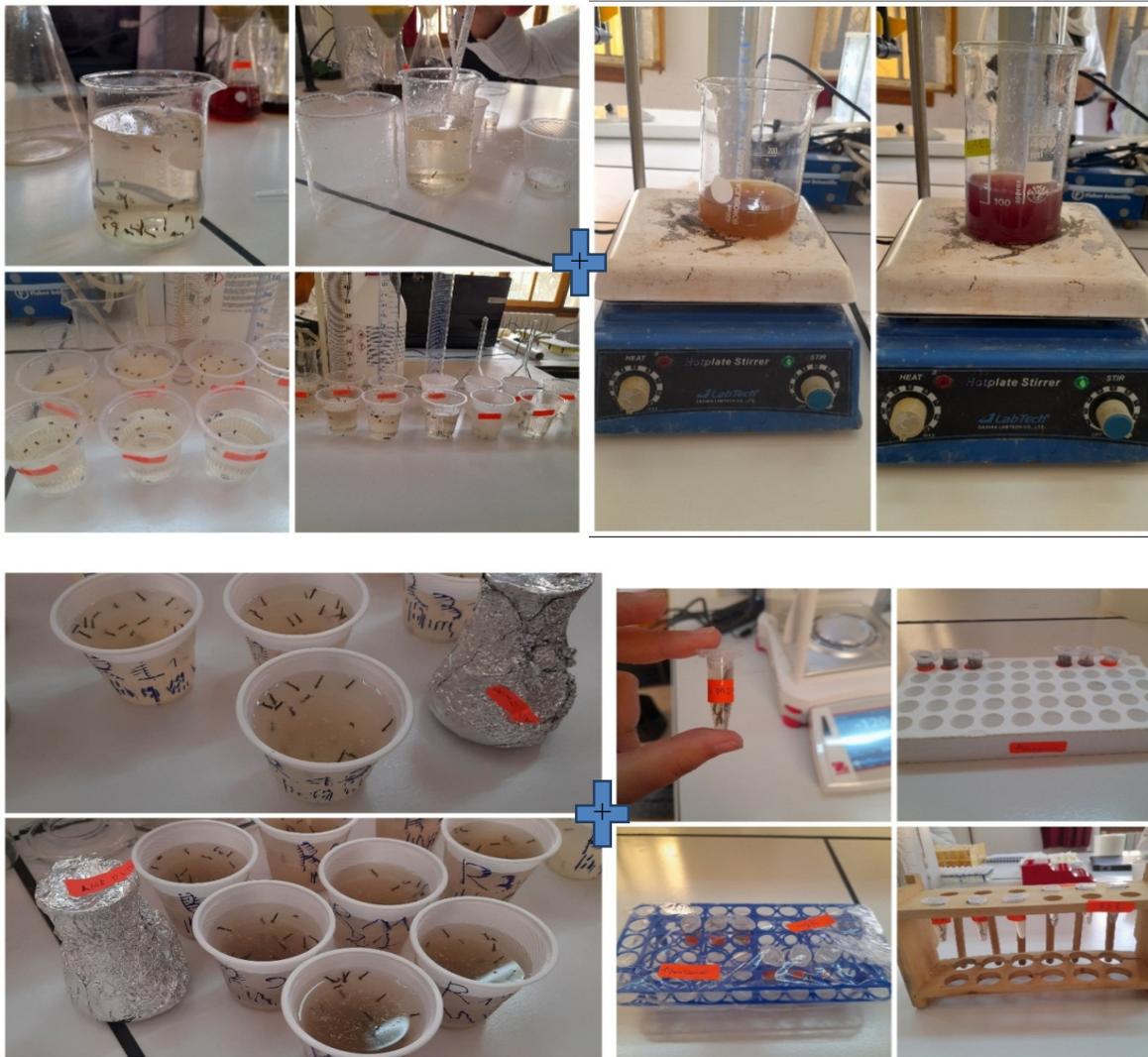
### 9. Effet sur la croissance :

Nous avons préparé des concentrations de L'extrait (3 mL de l'extrait aqueux) et (2.5mL de l'extait éthanolique) de la plante *Nerium oleander* seront utilisées dans les essais toxicologiques à l'égard des larves (L4) de *Culiseta longiareolata*.

30 larves de stade 4 ont été prélevées à l'aide d'une pipette pasteur et mises dans des gobelets contenant chacun 150 mL d'eau déchlorurée. Des expériences préliminaires ont permis de sélectionner une gamme de concentrations pour les tests .Pour chaque concentration, nous avons préconisé 3 répétitions. Le taux de mortalité dans chacun des gobelets est déterminé après 24h, 48h et 72h.

En calculant la largeur du thorax de chaque moustique qui est resté vivant, pesez tous les 10 moustiques avec une balance, et conserver les échantillons dans un tube eppendorf et placez les échantillons au réfrigérateur.

**La figure 23 :** résume les différentes étapes.



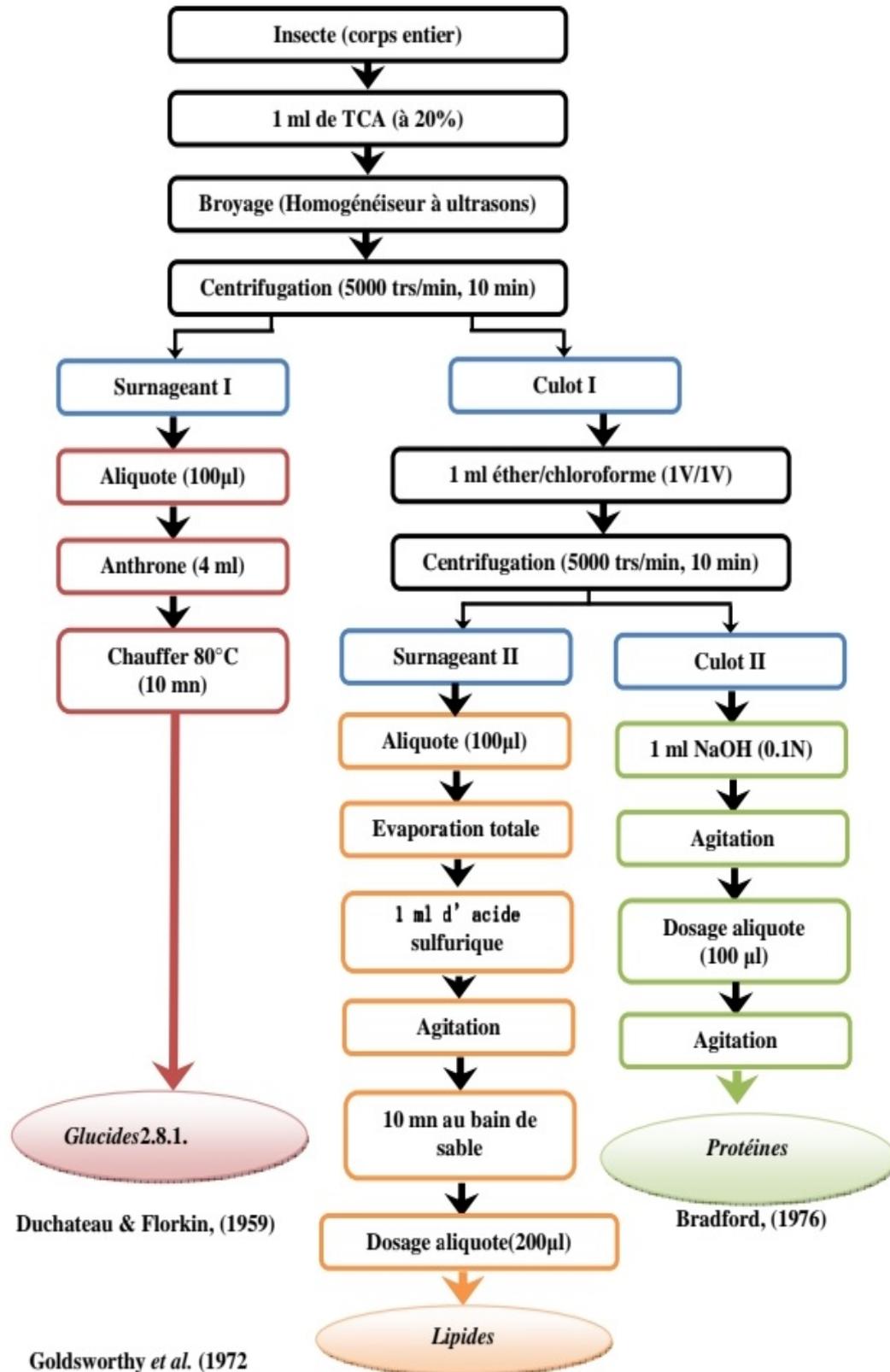
**Figure 23 :** Photographie représentant la technique du test de croissance

### 10. Dosage des métabolites :

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de (Shibko et al., 1966) et les principales étapes sont résumées dans la (Figure 31-32). Les échantillons des larves L4 nouvellement exuviées témoins et traités à des concentrations CL25 sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 mL d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés à l'aide d'un homogénéiseur à ultrason. Après une première centrifugation (5000 trs /10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de (Duchateau et Florkin, 1959). Au culot I, on ajoute 1 mL de mélange éther/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldworthy et al., 1972) et le culot II, dissout dans la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon (Bradford., 1976).



La figure 24 : Résume les Différentes étapes de dosage métabolite



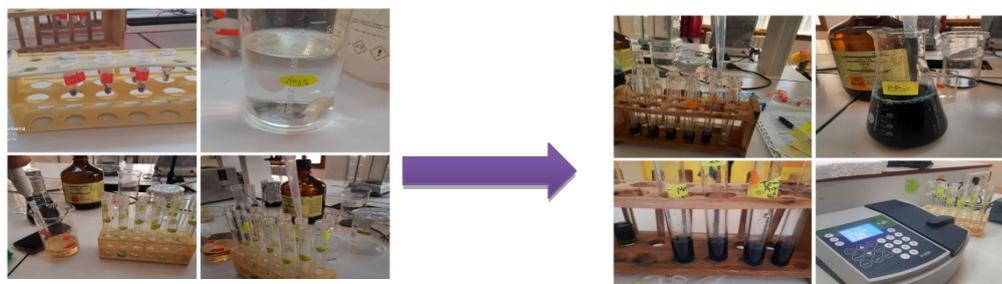
La Figure 25 : Extraction des glucides, protéines et lipides totaux (Shibko *et al.*, 1967).

### 10.1. Dosage des protéines totales :

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100  $\mu\text{l}$  à laquelle on ajoute 4 mL de réactif du bleu brillant de commassie (BBC) G 250 (Merck). La solution de BBC, se prépare comme suit: On homogénéise 100 mg de BBC, dans 50 mL d'éthanol 95°, on y ajoute ensuite 100 mL d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 1000 mL avec l'eau distillée. La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4 °C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant 1 mg/mL (**Tableau 05**).

**Tableau 03.** Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine ( $\mu\text{l}$ )	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu\text{l}$ )	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (mL)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine ( $\mu\text{g}$ )	0	20	40	60	80	100



**La Figure 26:** Dosage des protéines totales.

### 10.2. Dosage des glucides totaux :

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon Duchateau et Florkin (1959). Elle consiste à additionner 100  $\mu\text{l}$  du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 mL du réactif d'antrone et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 mn, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon, la lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La préparation du réactif d'antrone se fait comme suit : peser 150 mg d'antrone, ajouter 75 mL

d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée. On obtient une solution limpide de couleur verte qui est stockée à 3 l'obscurité. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/mL). (**Tableau 06**).

**Tableau 04.** Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

<b>Tubes</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>5</b>	<b>6</b>
Solution mère de glucose ( $\mu\text{l}$ )	0	20	40	60	80	100
Eau distillée ( $\mu\text{l}$ )	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (mL)	4	4	4	4	4	4
Quantité de glucose ( $\mu\text{g}$ )	0	20	40	60	80	100



**La Figure 27 :** Dosage des protéines totales

### 10.3. Dosage des lipides totaux :

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy et al.1972 utilisant le réactif sulfophospho vanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100  $\mu\text{l}$  des extraits lipidiques ou de gamme étalon aux quelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1mL d'acide sulfurique concentré, les tubes sont agités, et mis pendant 10 mn on ajoute 2,5 mL de réactif sulfophospho vanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide Sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. Le réactif est préparé comme suit : Dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 mL d'eau distillée et ajouter 195 mL d'acide orthophosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4 °C et à l'obscurité. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf on ajoute 1 mL d'éther chloroforme (1V/1V).

**Tableau 05.** Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides ( $\mu\text{l}$ )	0	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme)(1V/1V) ( $\mu\text{l}$ )	100	80	60	40	20	0
Quantité de lipides ( $\mu\text{g}$ )	0	50	100	150	200	250
Réactif sulfophosphovanillinique(ml)	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5	2,5



**La Figure 28:**Dosage des lipides totaux.

# Résultats

**Résultats :****1. Détermination du rendement d'extraction:**

Les valeurs obtenues du rendement des différents extraits sont représentées dans le tableau suivant :

**Tableau 06:** Le rendement des extraits

Extrait	Rendement %
<i>N.oleander</i> éthanolique	32.1%
<i>N.oleander</i> aqueux	13.6 %

**2. Extrait éthanolique:**

800mL éthanol + 200mL d'eau distillée + 100g *Neruim*= extrait brut =32.1 g

$R\% = 32.1 / 100 \times 100 = 32.1\%$

**3. Extrait Aqueux :**

500 ml d'eau distillée + 50g *Neruim*=Extrait brut = 6.80g

$R\% = 6.80g / 50g \times 100 = 13.6 \%$

**4. Résultats de l'étude phytochimique**

Le Screening phytochimique de *Neruim oleander* montre la présence de plusieurs principes actifs qui sont indiqués dans le tableau :

**Tableau 07:** Screening phytochimique de la plante

Composés	<i>Neruim oleander</i>
Flavonoides	+
Anthocyanes	+
QUINONE	-
Saponine	+
Tanins gallique	+
Tanins catechique	+
Steroiide	-
Alcaloide	-

(+) : présence ; (-) : absence

## 5. Etude morphométrique :

Plusieurs paramètres morphométriques des larves des quatrièmes stades larvaires ont été pris en considération:

- Largeur du thorax pour les larves du quatrième stade, les mensurations ont été réalisées sous une loupe binoculaire à l'aide d'un micromètre oculaire.
- poids corporel des larves (L4)
- Volume corporel des larves (L4)

## 6. Effet des extrait de *neruim oleander* à l'égard de *Culiseta longiareolata* :

### 6.1. Croissance pondérale :

L'extrait *N.oleander* aqueux et l'extrait *N.oleander* éthanolique est utilisée avec deux concentration (CL25) sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées.

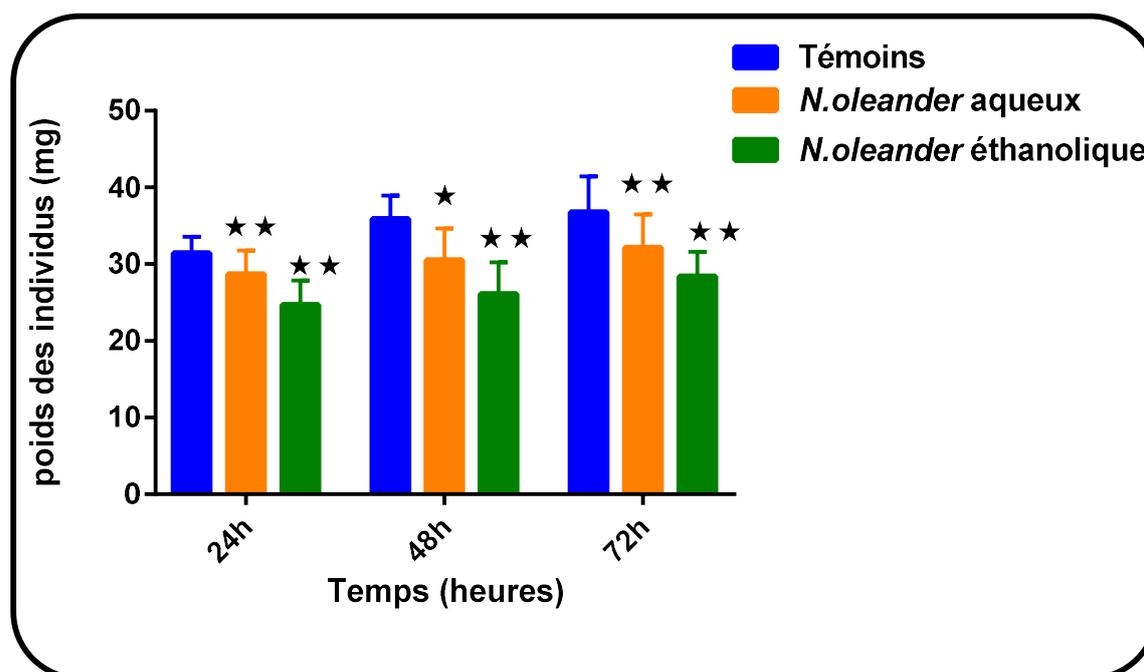
#### a. Croissance pondérale chez les larves L4 :

Les résultats de l'évolution du poids corporel des individus au cours du quatrième stade étudiés larvaire sont mentionnés dans le tableau (08) et la figure (29). Pour les séries témoins et traitée a la CL25 on remarque une augmentation significative du poids corporel du 24 h jusqu'à 72h.

La comparaison des moyennes entre les séries témoins et traitées montre que l'extrait *N.oleander* aqueux et l'extrait *N.oleander* éthanolique (CL25) affecte le poids corporel des larves L4 d'une manière significative a 24 h ( $p= 0,016$  ;  $p=0,012$ ), 48 h ( $p= 0,007$  ;  $p=0,007$ ) et 72 h ( $p= 0,038$  ;  $p=0,030$ ) avec l'extraits aqueux et éthanolique respectivement.

**Tableau08 :** l'extrait *N.oleander* aqueux et l'extrait *N.oleander* éthanolique (CL25) sur le poids (mg) des larves du quatrième stade chez *Culiseta longiareolata* ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$  répétitions comportant chacune 10 individus). Comparaison des moyennes à différents stades pour une même série (lettres majuscules) et pour un même stade entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoins	aqueux	Ethanolique
24	31,10± 1,12 a A	28,26 ± 2,95 b A	24,57 ± 4,19c A
48	35,26 ± 3,06 a B	30,61± 3,12 b B	26,21 ± 3,11 c B
72	36,55 ± 3,72 a C	32,84± 3,12 b C	28,48 ± 3,20 c C



**Figure 29.** Effet l'extrait *N.oleander* aqueux et l'extrait *N.oleander* éthanolique (CL25) sur le poids (mg) des larves du 4<sup>ème</sup> stades chez *Culiseta longiareolata* ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$ ).

## 6.2. Croissance linéaire

L'effet de cet bio insecticide (CL25) a été évalué sur certains paramètres morphométriques : la largeur du thorax des larves 4 stades larvaire et le volume corporel (V) des individus témoins et traités.

### a. Largeur du thorax chez les larves L4

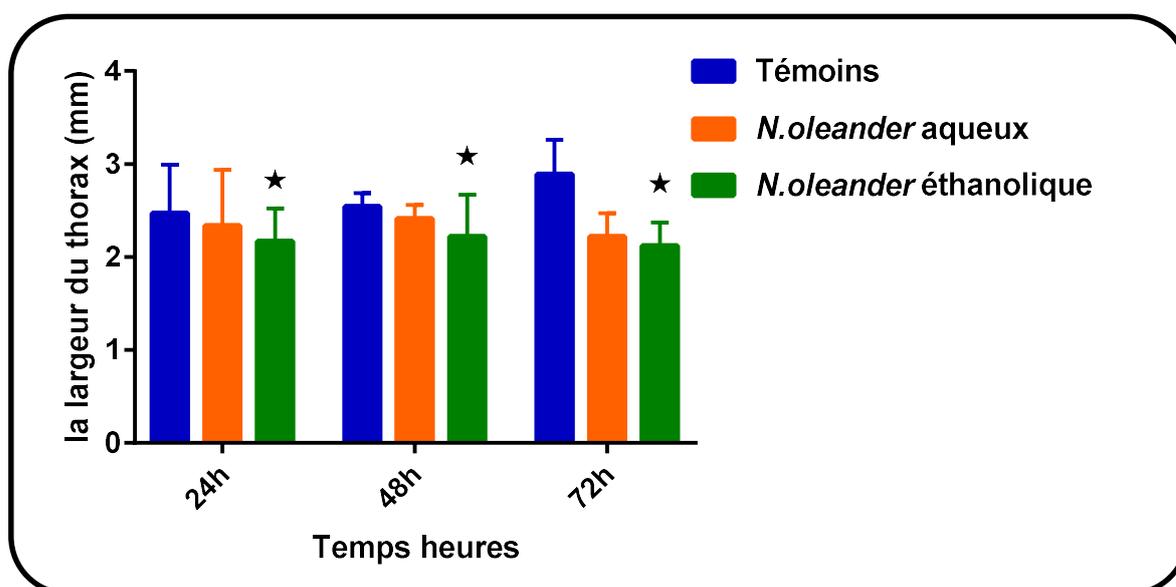
Les résultats de l'évolution de la largeur du thorax des individus du *Culiseta longiareolata* au cours du quatrième stade larvaire étudiés sont mentionnés dans le tableau (09) et la figure (30), les résultats montre une augmentation significative pour la série témoin ( $p=0,025$ ) et une augmentation hautement significative pour les espèces traitées ( $p= 0,008$  et  $p=0,005$ ) pour extraits aqueux et éthanolique respectivement.

La comparaison des moyennes entre les séries témoins et traitées montre que extrait de *neruim oleander* affecte la largeur du thorax des larves L4 d'une manière de significative avec extrait éthanolique à 24 h ( $p=0,044$ ), 48 h ( $p=0,005$ ) et 72 h ( $p=0,025$ ) et une diminution non significative avec l'extrait aqueux.

**Tableau 09 :** Effet d'extrait (CL25) sur la largeur du thorax (mm) des larves du quatrième stade chez *Culiseta longiareolata* ( $m \pm SD$ ,  $n = 3$  répétitions comportant chacune 10

individus). Comparaison des moyennes à différents stades pour une même série (lettres majuscules) et pour un même stade entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoins	CL 25	CL 25
24	2,33 ± 0,044 a A	2,27 ± 0,025 a A	2,18 ± 0,015 c A
48	2,42 ± 0,033 a B	2,34 ± 0,015 a B	2,22 ± 0,020 c B
72	2,52 ± 0,014 a C	2,43 ± 0,045 a C	2,32 ± 0,018 c C



**Figure 30.** Effet de l'extrait *N.oleander* (CL25) sur la largeur du thorax (mm) des larves du 4<sup>ème</sup> stades chez *Culiseta longiareolata* (m ± SD, n = 3).

## 7. Composition biochimique

### 7.1. Effet sur le contenu en protéines

Le contenu en protéines ( $\mu\text{g}/\text{individus}$ ) chez les larves L4 de *Culiseta longiareolata* augmente significativement pendant les périodes testés (24h, 48h, 72h) pour les séries témoins et traitées. La comparaison entre les deux séries pour la même période, montre une diminution significative de ce contenu chez les larves L4 de *Culiseta longiareolata* pour les deux plantes 24h ( $p=0,044$  ;  $p=0,032$ ), 48h ( $p=0,045$  ;  $p=0,041$ ) et 72h ( $p=0,036$  ;  $p=0,024$ ) pour l'extrait *N.oleander* aqueux et l'extrait *N.oleander* éthanolique respectivement.

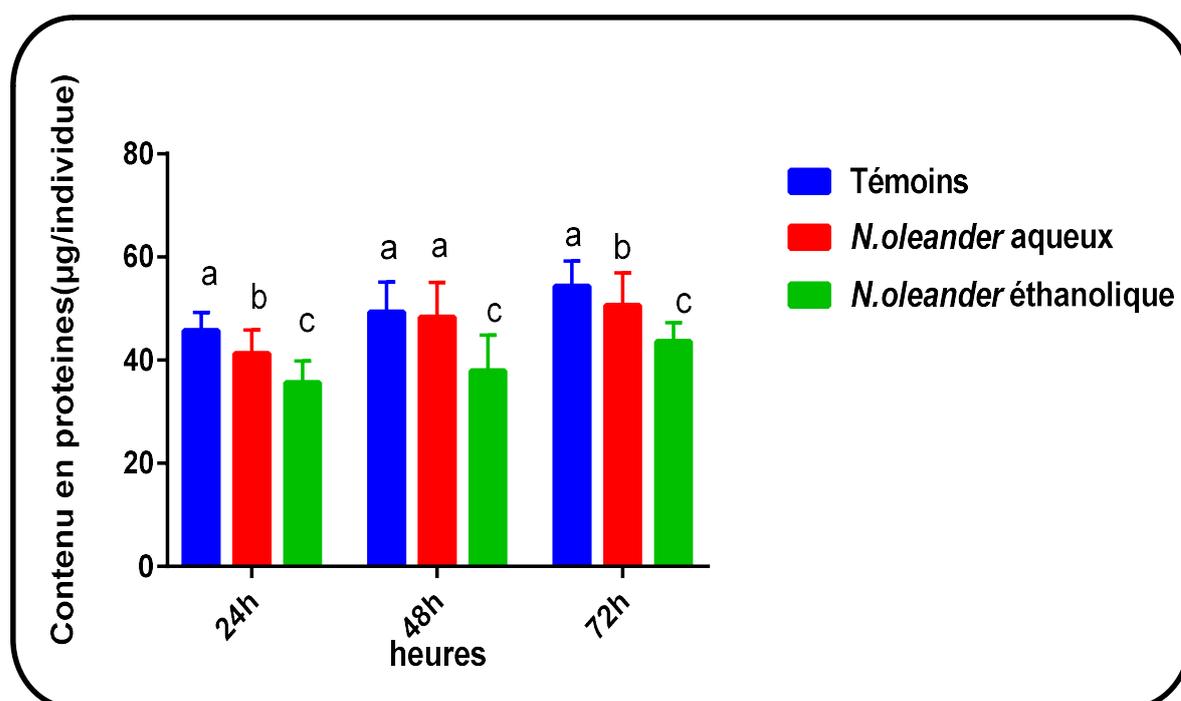


Figure 31 : Effets des extraits aqueux et éthanolique de sur le contenu en protéines.

## 7.2. Effet sur le contenu en glucides :

Les résultats obtenus montrent une augmentation significative du contenu en glucides (µg/individus) de 24h à 72h pour les deux séries. La comparaison des deux séries pour la même période montre que le contenu de ce métabolite marque une diminution non significative pour la plante l'extrait *N.oleander* aqueux par contre cette diminution est significative avec l'extrait de l'extrait *N.oleander* éthanolique au cours 24h ( $p=0,049$ ), 48h ( $p=0,048$ ) et 72h ( $p=0,042$ ).

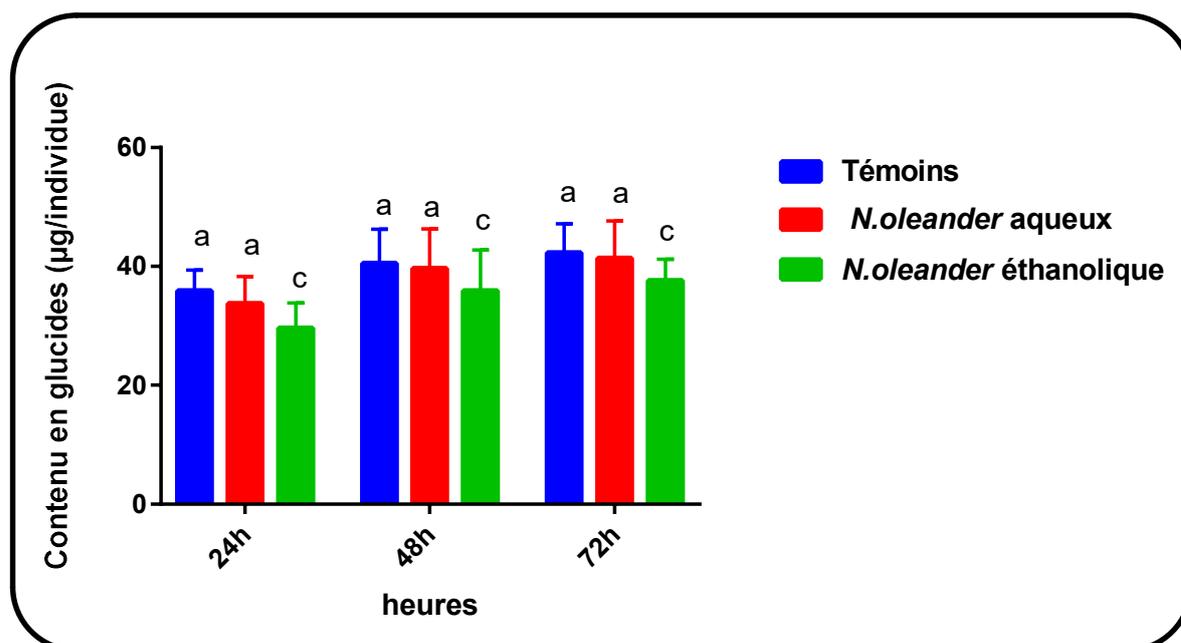


Figure 32 : Effets des extraits aqueux sur le contenu en glucides.

### 7.3. Effet sur le contenu en lipides :

Le contenu en lipides ( $\mu\text{g}/\text{individu}$ ) chez les larves L4 de *Culiseta longiareolata* augmente de 24h à 72h aussi bien dans la série témoin que la série traitée. En comparant les deux séries, on constate que l'extrait *N.oleander* éthanolique diminue significativement le contenu en lipides durant tous les périodes testés, ( $p=0,018$ ) à 24h ; ( $p=0,023$ ) à 48h ; ( $p=0,032$ ) à 72h par contre cette diminution est non significative pour l'extrait *N.oleander* aqueux.

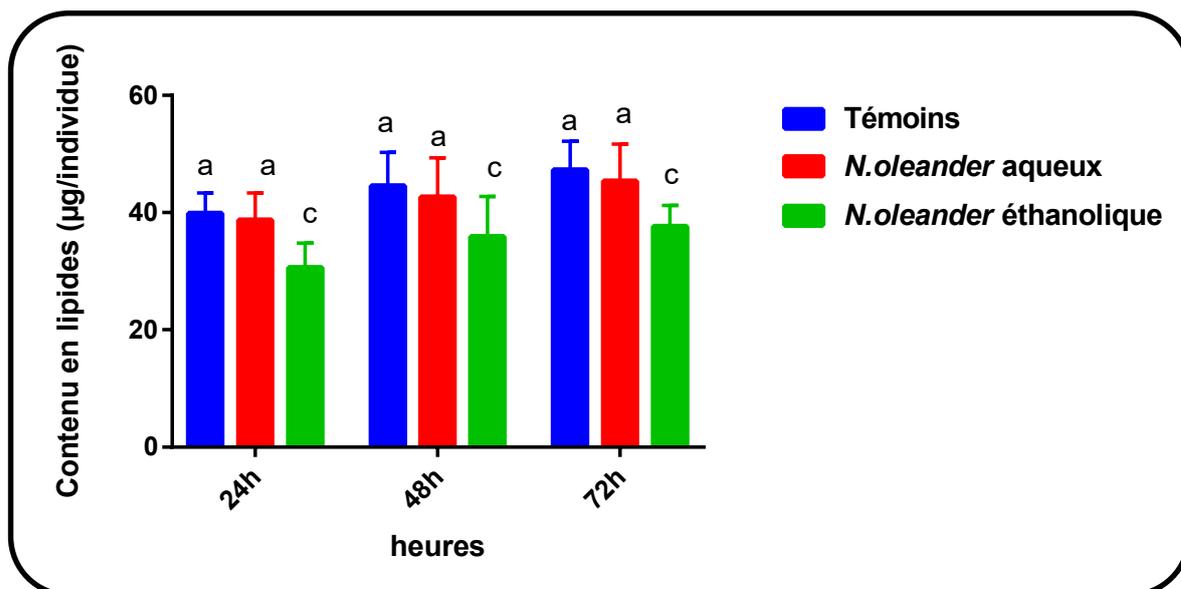


Figure 33 : Effets des extraits aqueux sur le contenu en lipide

# **Discussion**

**Discussion :****1. Rendement d'extraction de plante *Nerium oleander* :**

Les rendements des différents extraits sont définis comme étant les rapports de la quantité des substances végétales extraites sur la quantité de la matière végétale utilisée.

**Ben Ramdane et al, (2020).**

Les rendements des extraits aqueux et éthanolique de plante *Nerium oleander* respectivement de 13.6 % et 32.1% de la matière sèche des fleurs des plantes.

D'après **Keddar et al, (2018)** on note que le rendement de l'extrait aqueux de *N. oleander* est 6.41%.

**Zamaouche et al, (2017)** ont travaillé sur les extraits éthanolique du *N. oleander* et ont eu un rendement d'extraction de 29.9%.

Nous notons que le rendement en extrait méthanolique de *nerium oleander* est égale 15 % et aqueux égale 6 % **Gherbi et al, (2022).**

Les résultats obtenus illustrent que nos rendements en extrait de *N.oleander* est variable, cette différence serait liée au fait que l'extraction a été faite sur des fleurs sèches alors que les autres études l'ont faite sur des feuilles , tige , racine ou bien huile. Cette variabilité de rendement pourrait également être liée à l'espèce de plante, en plus de processus de tarissement, période de récolte, aux facteurs édaphiques et climatiques ou alors à l'état physiopathologique de la plante, aussi elle peut être liée au type de la technique d'extraction et aux étapes de la récupération (**Bouderhem, 2015**).

**2. Screening phytochimique:**

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existantes dans la plante par les réactions qualitatives de caractérisation. Ces réactions sont basées sur des réactifs spécifiques. Un changement de couleur visible ou la formation d'un précipité a été pris en considération pour la présence (+) ou l'absence (-) de composants actifs particuliers. (**Kholkh al et al., 2013**)

Les tests de la composition chimique réalisés sur la poudre du *Nerium oleander* révèlent la présence des flavonoïdes, l'eucoanthocyane, des saponines, des tanins catéchiques, les tanins galliques, concernant les quinones, et les alcaloïdes et des stéroïdes sont absents.

D'après **Bencheikh et al, (2017)** tous les tests sont positifs donc l'extrait de plante *Nerium oleander* est riche en flavonoïdes, tannins, saponosides, terpènes.

D'après les résultats **KADRI et al, (2015)** le *Nerium oleander* est très riche en métabolites secondaire : les tanins, saponines, glycosides, Stérols et triterpènes, flavonoïdes, et les glycosides cardiaques, à chaque végétarien membre, les racines, tiges, feuilles, et les fleurs de la plante *Nerium oleander*, Alors que nous n'utilisons que des fleurs.

Les résultats du criblage phytochimique sont similaires à ceux de (**Khelassi-Sefaoui et al. 2021**), qui approuve la présence de certaines familles chimiques. Cependant, les autres familles chimiques ne sont pas détectées. Ceci peut expliquer par une différence géographique, paramètres physico-chimiques ou biologiques tels que la Différence dans le site de récolte, y a compris l'environnement de la plante, la lumière, les précipitations, la topographie et la saison, le type de sol, le moment de la récolte, l'extraction méthodes, et la partie de la plante sélectionnée à partir de l'étude ou leurs composés phytochimiques. (**Belaide et al., 2023**).

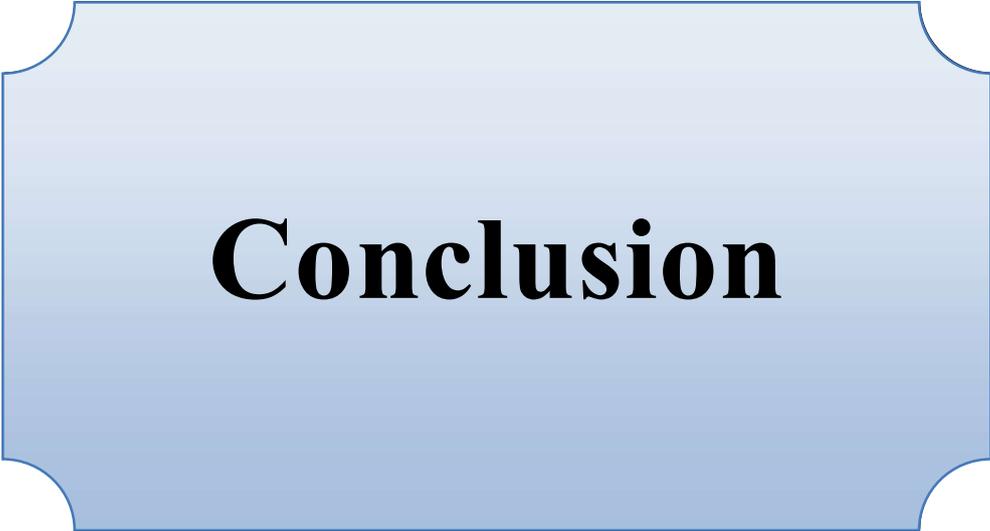
### 3. Effet sur la croissance :

La taille corporelle des individus et le repas sanguin lié à la capacité de fertilité des moustiques (**Farjana et Tuno, 2013**).

les extraits aqueux et éthanoliques de *Nerium oleander* a affecté de manière significative la croissance linéaire et le poids du corps total des larves de *Cs. longiareolata*, des observations similaires sont également rapportées par Bouabida et Dris (**2020**) chez les larves de *Cs longiareolata* après traitement à l'extrait de *Nerium oleander*. (**Dris et al. , 2017**) ont constaté que les *Nerium oleander* d'extrait aqueux et éthanolique a considérablement diminué le poids et le volume corporels à différents stades de développement de *Cs longiareolata*. De plus, les recherches de Bouabida et Dris (**2022**) montre que les extraits de plantes de la région de Tébessa affectent la croissance des stades post embryonnaires et les adultes mâles et femelles d'une espèce de moustique *Cs longiareolata* et la réduction des réserves métabolique due à une forte mobilisation de ces substances primaires pour compenser le stress métabolique produit par les effets toxiques des extraits végétaux (**Bouayad et al., 2013**). Protéines sont nécessaires à la croissance des organismes pour assurer les activités biologiques (**Yazdani et al., 2014**). Les constituants biochimiques sont dosé dans le corps entier des larves L4 de *Cs. longiareolata*, après traitement aux extraits de plante, Les résultats montrent une diminution de la teneur en protéines chez les traités par rapport aux témoins La diminution des protéines peut être due à plusieurs facteurs, comme augmenter leur dégradation pour détoxifier les composants actifs présent dans les extraits de plantes (**Vijayaraghavan et al., 2010**). Les glucides constituent une source d'énergie pour les organismes sous deux formes : utilisable (tréhalose) et pour le stockage (glycogène); (Nation, 2008). Nos résultats indiquent une

réduction non significative dans ce composant chez les larves traitées avec l'extrait aqueux par rapport à l'éthanolique. **(Bouabida & Dris 2020)** ont remarqué des résultats similaires, glucides.

Les niveaux ont été réduits dans les larves L4 de *Cs. longiareolata* après traitement à l'extrait de *Nerium oleander*. Les glucides et les lipides sont les principales formes de réserve énergétique chez les insectes et jouent un rôle essentiel dans processus (mue, reproduction, etc.) **(Bouaziz et al., 2011)**. Nos résultats indiquent une réduction significative de la teneur en lipides dans larves, traités avec des extraits de *Nerium oleander*.



# **Conclusion**

**Conclusion :**

Les extraits des plantes médicinales et aromatiques sont des substances naturelles, possédant des caractéristiques physico-chimiques bien définies, et répondant à des critères de qualité qu'il faut connaître pour éviter tout risque de toxicité qui peut se révéler dangereuse pour la santé. Par ailleurs, ces produits présentent une grande variabilité de leurs constituants chimiques, leur attribuant de nombreuses propriétés médicinales et biologiques qu'il convient de connaître et de valoriser. Leur activité insecticide constituant une de leurs grandes vertus.

Cette étude basée sur l'évaluation de l'activité biocide de l'extrait éthanolique et aqueux des fleurs de plante *N.oleander* de la région Tébessa sur la croissance de moustiques (*Culiseta longiareolata*) la plus répandue dans la région de Tébessa.

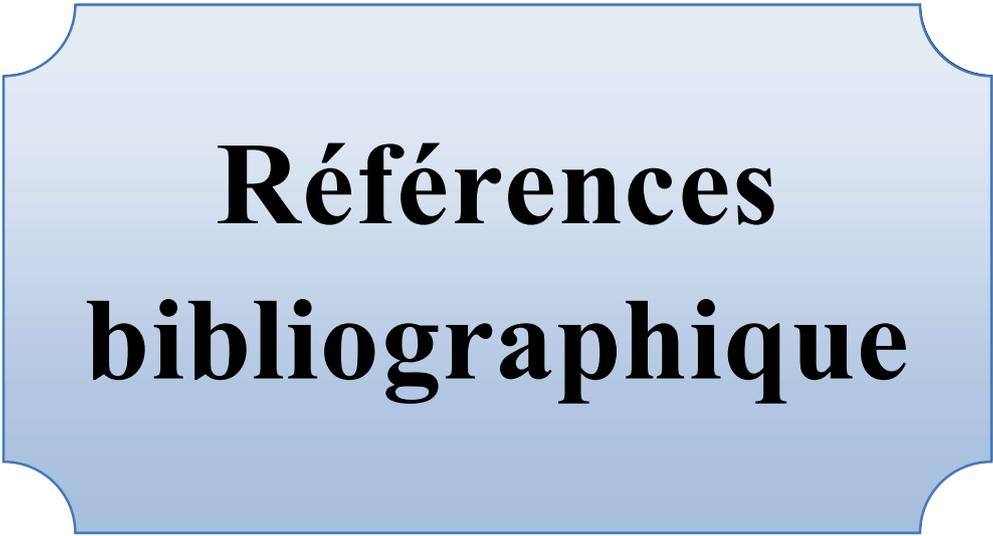
Le rendement des extraits aqueux et éthanolique des fleurs de plante *N.oleander* déterminées sont respectivement 13.6 % et 32.1%.

Le screening phytochimique des fleurs de *N.oleander* contenait des flavonoïdes, saponines, tanins, anthocyanes.

Les différents résultats publiés indiquent qu'elles sont douées de plusieurs propriétés biologiques. Pour ce qui concerne l'activité insecticide, l'extrait éthanolique et aqueux a présenté des propriétés insecticides importantes sur les larves (stade L 4) de moustique *Culiseta longiareolata*.

Les extraits éthanolique et aqueux des fleurs de plante *N.oleander* de la région Tébessa présentent donc des propriétés intéressantes. Ce résultat ouvre des perspectives intéressantes pour son application dans la production des bios pesticides. Il est souhaitable de

- Tester les autres méthodes d'extraction et évaluer le rendement des substances obtenues.
- Tester l'extrait de chaque partie de la plante (feuilles, tige) à part et évaluer leur activité Insecticide.



**Références  
bibliographiques**

## Références bibliographiques :

### A

**Abagli, A. Z., & Alavo, T. B. (2020).** Suaveolens Poit. (Lamiaceae): Perspectives pour la lutte contre les moustiques en zones tropicales. *Journal of Applied Biosciences*, 149, 15330-15337.

**Anonyme, 2004b** – Info insectes- Moustique (Toile des insectes du Québec–Insectarium). Adresse URL : [http://www.toile\\_des\\_insectes.qc.ca/infoinsectes / fiches/ fic\\_fiche\\_18\\_moustique. Htm](http://www.toile_des_insectes.qc.ca/infoinsectes/fiches/fic_fiche_18_moustique.Htm).

**Arbaoui Latifa ; 2017.** Biodiversité et typologie des gites larvaires de Diptères Culicidae de la région d'Ain Fezza-Tlemcen. Mémoire master ; Université de Tlemcen, Algérie.

**Aubineaum., Bermond a. Bouglerb.et Estrade jr. 2002-** Larousse Agricole. Le monde agricole au 21 èmesiècle .Ed. Larousse, Canada ,767p.

### B

**Bakkali H., Ababou K., Nassim Sabah T., Moussaoui A., Ennouhi A., Fouadi F.Z, SiahS., Ihrai H.(2010):** Annals of Burns and FireDisasters - vol. XXIII - n. 3 .

**Banon. S., Ochoa. J., Alarcon. J. A., Sanchez-blanco. M. J. (2006) :** Hardening of oleander seedlings by deficit irrigation and low air humidity. *Environmental and Experimental Botany.*, vol. 56, pp. 36-43.

**Bayer, E., Buttler, K.P., Finkenzeller, X. and Grau, J. (2005):** Guide de la flore méditerranéenne. Caractéristiques, habitat, distribution et particularités de 536 espèces. (Ed.)

**Bendali-Saoudi F. 1989.** Etude de *Culex pipiens pipiens* autogène. Systématique, biologie, lutte (*Bacillus thuringiensis israelensis* serotype H14, *Bacillus sphaericus* 1953) et deux espèces d'hydracariens. Thèse de Magister en Arthropodologie, Université. D'Annaba.

**Beniston N .W. 1984-** Les fleurs d'Algérie .Ed.E.N.A.L, Algérie, 359p.

**Bruneton J (2001)-** Plantes toxiques :-végétaux dangereux pour l'homme et les animaux, 2ème édition, pp.129-136.

**Brunhes J., RHAÏM A., GEOFFROY B., ANGEL G. ET HERVY J.P. (1999)-** LesCulicidae d’Afrique méditerranéenne. Logiciel de l’Institut de Recherche pour leDéveloppement (I.R.D.), Montpellier, ISBN 2-7099-1446-8.

**Bouabida, H., Tine-djebbar, F., Tine, S., &Soltani, N. (2017).** Activity of a lipid synthesis inhibitor (spiromesifen) in *Culiseta longiareolata* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(12), 1120-1124.

**Bouabida, H., Dris, D., 2020.** Effect of rue (*Ruta graveolens*) essential oil on mortality, development, biochemical and biomarkers of *Culiseta longiareolata*. *S. Afr. J. Bot.* 133, 139–143.

**Boulkenafet F. (2006)** - Contribution à l’étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae)dans la région de Skikda. Présentation pour l’obtention du Diplôme de Magister entomologie (option; application agronomique et médicale). 191p.

**Bouaziz, A., Boudjelida, H., Soltani, N., 2011.** Toxicity and perturbation of the metabolite Contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*. *Ann. Biol. Res.* 2 (3), 134–142.

**Bradford M.M.1976.**A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding.*Analytic.Biochem.*72 .248 - 254. Bradford M.M.1976.A rapid and sensitive method of the quantitation microgram quantities of Protein utilising the principale dye binding.*Analytic.Biochem.*72 . 248 - 254.

**Belaid Soraya, BOUGHRARA Boudjema, Zerniz Nawal, Sassane Amina and Djilani Salah Eddine.(2023)** - phytochemical screening and physicochemical characterization of vegetable oil from the sideritis incana. -1(27),.174-179.

**Bouayad, N., Rharrabe, K., Ghailani, N.N., Jbilou, R., Castañera, P., Ortego, F., 2013.** Insecticidal effects of Moroccan plant extracts on development, energy reserves and enzymatic activities of *Plodia interpunctella*. *Span. J. Agric. Res.* 11 (1), 189–198.

## C

**Chaudhary, K. and Prasad, D.N. (2014):** A Review on: *Nerium oleander* Linn. (Kaner).*International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* 2014; 6(3): 593-597.

**Clements (1992)** -The biology of mosquitoes. Volume 1: development, nutrition and reproduction. The biology of mosquitoes.

## D

**Dalia M Mahmoud, Marah M Abd El-Bar, Dalia AM Salem and Magda H Rady, 2019,** Larvicidal potential and ultra-structural changes induced after treatment of *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae) larvae with some botanical extracted oils, 6(4) :01-09

**Djabri, Lahmidi (2021)** - l'effet pupicide D'Ocimum basilicum chez *Culiseta longiareolata*-Mémoire du diplôme de Master - Université de Larbi Tébessi –Tébessa.26p , 29p ,30p.

**Dris, D. (2019).** Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes : *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens*(Linné) et *Culiseta longiareolata*(Aitken). Thèse de doctorat. Biologie animale. Université Badji Mokhtar – Annaba. P 181

**Duchateau G et Florkin M.1959.** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signifiEnan E. 2001.Insecticidalactivity of essential oil : octopaminergic sites of action. Comparative Biochemistry and Physiology - Part C130.325-337.cation. Arch. Insect. Physiol. Biochem., 67 306-314.

**Dris, D., Tine-Djebbar, F., Bouabida, H., Soltani, N., 2017.** Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: toxicological, biometrical and biochemical aspects. S. Afr. J. Bot. 113, 362–369.

## G

**Goldworthy A.C; Mordue W &Guthkelch J.1972.**Studies on insect Adipo kineti chormone.Gen.Comp. Endocrinol.18.306-314.

## F

**Frederic Darriet (2014)** - Des moustiques et des hommes : Chronique d'une pullulation annoncée – 15

**Farjana, T., Tuno, N., 2013.** Multiple blood feeding and host-seeking behavior in *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* (Diptera: culicidae). J. Med. Entomol. 50 (4), 838–846.

## H

**Hamaidia, H., Berchi, S.** Systematic and Biotypical study of the family Culicidae (Diptera-Nematocera) in the region of Tebessa (Algeria) .International Journal of Mosquito Research.2018.

**Hassaine K ; 2002.** Les culicides (Diptera- Nematocera) de l’afrique méditerranéenne. Bioécologie d’Aedes caspius et d’Aedes detritus des marais salés, d’Aedes mariae des rock Pools littoraux et de culex pipiens des zones urbaines de la région occidentale algérienne. Thèses Doc. d’état. Univ. Tlemcen : 203p.

**Hostettman. K., Marston. A., Ndjoko. K., Wolfender. J. L. (2000) :** The potential of Africa plants as source of drugs. Current Organic Chemistry., vol. 4, pp. 973-1010.

## J

**Judde al. (2002)-**dans Botanique systématique.P366

## K

**Khaligh, F. G., Naghian, A., Soltanbeiglou, S., & Gholizadeh, S. (2020).** Autogeny in *Culiseta longiareolata* (Culicidae: Diptera) mosquitoes in laboratory conditions in Iran. BMC Research Notes, 13(1), 1-5.

**Kholkhali, F. Lazouni, H.A. Bendahou Mourad. (2013).** Etude phytochimique et évaluation de l'activité anti-oxydant de *Thymus Ciliatus* ssp *Coloratus*. Afrique Science: Revue internationale des sciences et technologie, Vol 9,1-P:151-158.

**Koumba, A. A., Zinga-Koumba, C. R., Mintsa-Nguema, R., Ketoh, G. K., Djogbenou, L. S., & Mavoungou, J. F. (2020).** Identification et caractérisation des gîtes larvaires des moustiques en saison sèche à la périphérie de la ville de Mouila, Sud du Gabon. *Afrique SCIENCE*, 16(2), 192-205.

**Khelassi-Sefaoui, A.; Zaoui-Djelloul-Daouadji, M.; Naili, I.; Zaiter, L.; Benarima, H. and Khechekhouche, A. (2021).** Phytochemical investigation, anti bacterial and antioxidant activities of *Sideritis incana* L extracts. Algerian Journal of Engineering and Technology, 5: 49-54.

## L

**Laib D ( 2013)**- Etude de l'activité insecticide du champignon endophyte *Clado sporium* sp. Isolé du laurier rose *Nerium oleander*. (Apocynaceae, Gentiandes) sur la bruche des haricots *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchidae). P1-359p

**Langford S.D., Boor P.** Oleander toxicity: An examination of human and animal toxic exposures. *Toxicology*, 1996;109:1–13.

## M

**Matoug, H. (2018).** Inventaire de la faune Culicidienne de la région de Skikda et étude du comportement sexuel et alimentaire des Culicidae. Thèse de doctorat. Neurosciences. Université Badji Mokhtar – Annaba. P167

**Messai, Touahria(2021)** - Activité larvicide et ovicide de l'huile essentielle de *Rutagraveolens* chez deux espèces de diptère *Drosophila melano gaster et Culiseta longiareolata*- Mémoire du diplôme de Master - Université de Larbi Tébessi –Tébessa.9p.

**M. Rueda, Mustapha Debboun(2020)** - Taxonomy, Identification, and Biology of Mosquitoes - Mosquitoes, Communities, and Public Health in Texas.5p, 6p.

**Mounira KADRI &Abedelouahab YAHIA(2015)** Contribution à l'étude de l'effet des facteurs environnementaux sur l'accumulation des glycosides chez *Nerium oleander*L.Vol. 1, pp 23-27.

## N

**Nabti, I., &Bounechada, M. (2019).**Larvicidal Activities of Essential Oils Extracted from Five Algerian Medicinal Plants against *Culiseta longiareolata* Macquart. Larvae (Diptera: Culicidae). *European Journal of Biology*, 78(2).

## P

**Paris R.R et Moyses H (1971)**- Précis de matière médicale ,pharmacognosie spéciale dicotylédones (tome III), pp.32-52. Delachaux ET Niestlé. 287p.

**Paul .2009.** Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français .EID méditerranée .p (1-11).

## R

**Rodhain F, Perez C ; 1985.** Précis d'Entomologie Médicale et Vétérinaire. Maloine, s. a. 114 p.

**ROTH M. (1980)** - Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes, ORSTOM, Paris. 259p.

## T

**TabtiFayza.(2015)** . Contribution à l'étude de la biodiversité et l'écologie des Culicidés(Diptera, Culicidae) dans la région de Mghnia (Tlemcen) . mémoire de Master En Ecologie et environnement . Département d'Ecologie et Environnement. Université Abou BekrBelkaïd – Tlemcen

**Tine-Djebbar, F., Bouabida, H., &Soltani, N. (2016).** *Répartition spatio-temporelle des Culicidés dans la région de Tébessa: Inventaire des Culicidés dans la région de Tébessa (Nord-Est Algérien)*. Éditions universitaires européennes.

## S

**Shriff. N., Saudarshana. M. S., Umesha. S., Hariprasad. P. (2006)** :

Antimicrobial activity of Rauwolfiatetraphylla and Physalis minima leaf and callusextracts. Africa journal of biotechnology., vol. 5, n°. 10, pp. 946- 950.

## V

**Villeneuve,F et Désiré,CH.1965.**Zoologie.Bordas 1ere édition.23pages.

**Vijayaraghavan, C., Sivakumar, C., Zadda Kavitha, M., Sivasubramanian, P., 2010.** Effect of plant extracts on biochemical components of cabbage leaf webber, *Crociodolomia binotalis* Zeller. J. Biopestic. 3 (1), 275–277.

## Y

**Yazdani, E., Sendi, J.J., Aliakbar, A.R., Senthil Nathan, S., 2014.** Effect of *Lavandula angustifolia* essential oil against lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (Lep: pyralidae) and identification of its major derivatives. Pestic. Biochem. Physiol. 107 (2),250–257.