



publique Algérienne Démocratique et Populaire Ministère
de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi - Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie



Département : Des êtres vivants.

MEMOIRE DE MASTER

Domaine: Sciences de la Nature et de la vie

Filière: Sciences Biologiques

Option: Ecophysiologie Animale.

THÈME:

Evaluation de l'activité des huiles essentielles
L'*Eucalyptus globulus* à l'égard d'une espèce de moustique,
Culex pipiens: *Biomarqueurs*

Présenté par :

- Melle MAIZI Rabiha.
- Melle ABAIDIA Chaima

Devant le jury:

Mme YAHIA Hadda	M.A.A.	Université de Tébessa	Encadreur
Mme DJELLAB Sihem	M.C.A.	Université de Tébessa	Présidente
Mr SOLTANI Nadjme-eddin	M.C.A.	Université de Tébessa	Examineur

Date de soutenance : Le 10/06/2023

Année universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant tout, Nous remercions notre Dieu qui nous a donné le courage et la volonté.

Nous remercions notre encadreuse YAHIA Hadda, pour ses conseils, ses encouragements, tout en nous laissant une grande indépendance

Nous souhaitons aussi adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce mémoire spécialement : Mme DJELLAB Sihem pour présider le jury et Mr SOLTANI Nadjme-eddin à examiner ce travail.

Nous remercions tous les enseignants qui nous ont fait profiter de leur savoir, tout au long de nos études. Enfin, nos remerciements vont à tous ceux qui ont collaboré à l'achèvement de ce travail.

Dédicace

*Nous dédions ce modeste travail à nos **parents** qui nous avons toujours encouragé pour que réussir dans nos études à ceux que nous aimons et que nous respectons infiniment, à mes chers frères ‘**Elouardi et Mohamed**’ et à nos chères sœurs ‘**Nour et Nada**’.*

*A toute la famille ‘**Maizi**’, nous dédions également ce travail à tous nos amis sans Exception, toute la promotion.*

2022-2023.

ان الذين نحبههم ونعرفهم مكانتهم ليست بين الاسطر والصفحات، لان مقامهم أجل وأعلى فالقلب سكناهم والذكرى ذكراهم والفؤاد لن ينساهم، نسأل الله اكرامهم.

RABIHA

Dédicace

*Nous dédions ce modeste travail à nos **parents** qui nous avons toujours encouragé pour que réussir dans nos études à ceux que nous aimons et que nous respectons infiniment, à nos chères sœurs " Aya,*

***Nour et Salsabil** ".*

A toute la famille "Abaidia", nous dédions également ce travail à tous nos amis sans Exception, toute la promotion du Master spécialité Instrumentation.

2022-2023.

CHAIMA

ملخص

يوصى بشدة بمكافحة المبيدات الحشرية النباتية، من بين الوسائل التي تستخدمها النباتات للدفاع عن نفسها ضد مفترساتها. في هذا السياق، يهدف هذا العمل إلى تقييم استجابات نوع من بعوض *Culex pipiens*، وهو الأكثر انتشاراً في منطقة تبسة، لتأثير مبيد حشري جديد يعتمد على الزيوت الأساسية من نبات *Eucalyptus globulus*. قدم محصول الزيت العطري *Eucalyptus* معدلاً معنوياً قدره $2.32 \pm 0.47\%$ اعتماداً على المادة النباتية الجافة.

تؤكد النتائج الإحصائية التي تم إجراؤها بين السلسلة الضابطة والمعالجة في يرقات المرحلة الرابعة L4 من *Culex pipiens* في أوقات مختلفة (24 ساعة و48 ساعة و72 ساعة) أن EOs في *Eucalyptus globulus* لها تأثير على المؤشرات الحيوية للسمية العصبية وإزالة السموم والإجهاد التأكسدي، تم اختباره عن طريق: انخفاض كبير في مستوى GSH، زيادة في الكاتالاز.

الكلمات المفتاحية: مبيدات، *Culex pipiens*، الزيوت الأساسية، المؤشرات الحيوية، *Eucalyptus globulus*.

Résumé

La lutte par les insecticides botaniques est très recommandée, parmi les moyens mis en œuvre par les plantes pour se défendre contre leurs prédateurs. Dans ce contexte, ce travail a pour but d'évaluer les réponses d'une espèce de moustiques *Culex pipiens* la plus répandue dans la région de Tébessa à l'impact d'un nouvel insecticide à base d'huiles essentielles de *Eucalyptus globulus*. Le rendement en huile essentielle de *Eucalyptus globulus* a fourni un taux important de $2,32\% \pm 0,47\%$ en fonction de la matière végétale sèche.

Les résultats statistiques effectués entre les séries témoins et traitées chez les larves de quatrième stade L4 de *Culex pipiens* aux différents temps (24h, 48h et 72h) confirment que les HE de *Eucalyptus globulus* ont un effet sur les biomarqueurs, de neurotoxicité, de la détoxification et du stress oxydant, testées par : une réduction significative du taux du GSH, une augmentation de la catalase.

Mots clés : Bioinsecticide, *Culex pipiens*, huiles essentielles, Biomarqueurs, *Eucalyptus globulus*.

Abstract

The fight with botanical insecticides is highly recommended, among the means used by plants to defend themselves against their predators. In this context, this work aims to evaluate the responses of a species of *Culex pipiens* mosquitoes, the most widespread in the region of Tébessa, to the impact of a new insecticide based on essential oils of *Eucalyptus globulus*. The essential oil yield of *Eucalyptus globulus* provided a significant rate of $2.32\% \pm 0.47\%$ depending on the dry plant matter.

The statistical results carried out between the control and treated series in the fourth stage L4 larvae of *Culex pipiens* at different times (24h, 48h and 72h) confirm that the EOs of *Eucalyptus globulus* have an effect on the biomarkers of neurotoxicity, detoxification and oxidative stress, tested by: a significant reduction in the level of GSH, an increase in catalase.

Keywords: Bioinsecticide, *Culex pipiens*, essential oils, Biomarkers, *Eucalyptus globulus*.

Table des matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumé	
Table des matières	I
Liste des figures	II
Liste des tableaux	III
Introduction générale	1

Chapitre I : Matériels et méthodes

1. Matériels et méthodes	3
1.1. Présentation de l'insecte, <i>Culex pipiens</i>	3
1.1.1. La position systématique.....	4
1.1.2. Morphologie.....	4
1.1.2.1. Cycle biologique.....	4
1.2. Techniques d'élevage.....	7
1.3. Présentation de la plante.....	8
1.3.1. Description.....	8
1.3.2. Position systématique.....	8
1.4. Les huiles essentielles.....	10
1.4.1. Définition des huiles essentielles.....	10
1.4.2. composition chimique des huiles essentielle.....	10
1.4.3. méthode d'extraction.....	11
1.5. Collecte de la plante et Protocol d'extraction des huiles essentielles.....	12
1.6. Calcul du rendement	13
1.7. Traitement.....	13
1.8. Dosage des biomarqueurs.....	13
1.8.1. Dosage du glutathion	14
1.8.2. Dosage de la catalase.....	16
1.8.3. Dosage des protéines totales.....	17
1.9. Analyse statistique.....	18

Chapitre II : Résultats

2. Résultats	19
2.1. Rendement des huiles essentielles d' <i>E. globulus</i>	19
2.2. Effets des huiles essentielles d' <i>E. globulus</i> sur le taux des protéines chez les larves <i>Cx pipiens</i>	19
2.3. Effets des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur le taux des GSH chez les larves <i>Culex pipiens</i>	20
2.4. Effets des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> sur l'activité de CAT chez les larves <i>Culex pipiens</i>	22

Chapitre III : Discussion

3. Discussion

3.1. Rendement en huiles essentielles.....	24
3.2. Effet des huiles essentielles extraites d' <i>E. globulus</i> sur les activités enzymatiques.....	25
3.2.1. Effet sur taux de GSH	25
3.2.2. Effet sur l'activité spécifique de catalase	26
3.2.3. Effet sur le taux des protéines	27
Conclusion générale	29
Références bibliographiques	30

Liste des figures

Figure 01 : Femelle de <i>Cx pipiens</i> gorgée de sang	3
Figure 02 : <i>Cx pipiens</i> male	4
Figure 03 : Aspect des œufs de <i>Cx pipiens</i>	5
Figure 04 : Morphologie générale d'une larve du stade 4 de <i>Cx Pipiens</i>	5
Figure 05 : Extrémité antérieure et postérieure de la larve 4 du <i>Cx pipiens</i>	5
Figure 06 : Morphologie générale d'une nymphe de <i>Cx pipiens</i>	6
Figure 07 : Cycle de développement de <i>Cx pipiens</i>	6
Figure 08 : Situation géographique de site délavage dans la wilaya de Tébessa (Google earth).	7
Figure 09 : Site d'échantillonnage Tébessa (Hammamet) (photo personnelle)	7
Figure 10 : L' <i>Eucalyptus globulus</i>	9
Figure 11 : Montage de l'hydro distillateur de type Clevenger. (Photo personnelle)	12
Figure 12 : Extraction et dosage du glutathion (GSH).....	15
Figure 01 : Effet des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> (CL25), sur le taux des protéines totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les larves du quatrième stade de <i>Cx pipiens</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$). (* : Différence significative ($p<0.05$) entre les séries témoins et traitées, ** : Différence hautement significative ($p\leq 0,01$) entre les séries témoins et traitées, *** très hautement significative $p\leq 0.001$).	20
Figure 02 : Effet des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> (CL25), sur le taux de GSH ($\mu\text{M} / \text{mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>Cx pipiens</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$) (* : Différence significative ($p<0.05$) entre les séries témoins et traitées, ** : Différence hautement significative ($p\leq 0,01$) entre les séries témoins et traitées, *** très hautement significative $p\leq 0.001$).	21
Figure 03 : Effet des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> (CL25), sur l'activité de catalase ($\mu\text{M}/\text{mg}$ des protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>Cx pipiens</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$) (* : Différence significative ($p<0.05$) entre les séries témoins et traitées, ** : Différence hautement significative ($p\leq 0,01$) entre les séries témoins et traitées, *** très hautement significative $p\leq 0.001$).	23

Liste des tableaux

Tableau 01 : La position systématique de <i>Culex pipiens</i>	4
Tableau 02 : Classification botanique d' <i>Eucalyptus globulus</i>	8
Tableau 03 : Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.....	17
Tableau 01 : Effet des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> (CL25), sur le taux des protéines totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les larves du quatrième stade de <i>Cx pipiens</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$) : comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)	19
Tableau 02 : Effet des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> (CL25), sur le taux de GSH ($\mu\text{M} / \text{mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>Cx pipiens</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$) : comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)	21
Tableau 03 : Effet des huiles essentielles d' <i>Eucalyptus globulus</i> (CL25), sur l'activité de catalase ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ des protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>Cx pipiens</i> ($m \pm \text{SD}$; $n= 3$) : comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)	22

Liste des abréviations

E. globulus : *Eucalyptus globulus*

Cx : *Culex pipiens*

L4 : Larve de stade 4

CL25: Concentration létale de 25% de la population

HES: huile essentielle

m: moyenne

SEM: écart- moyen

n : nombre de répétitions

p : coefficient de signification

ppm : partie par million

(%) Pourcentage

(<) Inférieur

(>) Supérieur

g : Gramme

mg : milligramme

h : heure

°C : degré Celsius

Introduction générale

Introduction générale :

Les invertébrés, représentent plus de 95% des espèces du règne animal (**Wilson et al., 1999**), Sont présents presque dans tous les types d'écosystèmes et constituent une part très importante de La biodiversité des milieux terrestres et aquatiques. Les Arthropodes sont l'un d'embranchements Des invertébrés les plus importants, avec plus d'un million d'espèces connues, dont les trois Quarts de ces espèces appartenant à la classe des insectes (**Gourmelon & Ahtiainen, 2007**).

A ce jour, 3530 espèces de moustiques sont décrites au niveau mondial (**Becker et al., 2003**). 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. 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. Parmi les espèces connues dans la transmission Des maladies à l'homme, nous citons celles appartenant aux genres Culex, Aedes et Anopheles. Les espèces du genre Culex transmettent des maladies parasitaires telles la filariose et la fièvre Jaune (**Alaoui Slimani et al., 1999**).

Pour prévenir la prolifération de ces maladies et améliorer la qualité de l'environnement et la santé publique, la lutte contre les moustiques s'avère indispensable. Elle est basée sur l'application d'insecticides synthétiques tels que les organochlorés et les organophosphorés. Ces préparations, bien qu'elles soient efficaces, présentent plusieurs inconvénients d'ordre techniques, économiques et écologiques (**Ghosh et al., 2012**). A tous ces inconvénients s'ajoute aussi un grand nombre de problèmes tels que l'apparition des espèces résistantes, l'impact sur les organismes non visés et la contamination des chaînes trophiques (**Domingues et al., 2010**).

Pour toutes ces raisons, et dans le cadre d'un programme de lutte biologique contre les moustiques, les études se sont orientées vers la recherche de nouvelles approches alternatives plus efficaces, plus spécifiques et biodégradables et l'exploration de la biodiversité florale qui entre dans le domaine de l'utilisation des insecticides d'origine végétale (**Anupam et al., 2012**).

Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées (**Philogène et al., 2008**), dont 344 espèces recensées ont un pouvoir anti Culicidien (Sukumar et al., 1991). Les Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Lamiaceae et Canelleceae sont les principales familles les plus prometteuses comme source de bioinsecticides (**Benayad, 2008**).

Les biomarqueurs mesurent l'interaction entre un système biologique et un agent environnemental (**Who, 1993**). L'inhibition ou l'induction des biomarqueurs sont de bons outils éco-toxicologiques pour évaluer l'exposition et les effets potentiels des xénobiotiques sur l'organisme (**Ozmen et al., 1999**).

Le comportement d'un organisme vis-à-vis d'un xénobiotique dépend le plus souvent de la bioaccumulation, la biotransformation et l'excrétion de ce xénobiotique. Les effets biologiques qui en résultent sont susceptibles de provoquer une altération d'une ou de plusieurs fonctions biologiques cellulaires et physiologiques qui modifient l'homéostasie et la capacité d'adaptabilité de ces organismes avec pour conséquence la remise en cause de la structure de leur population, mais aussi leur croissance, reproduction et voire même leur survie (**Vander Oost et al., 2003**).

Dans cette perspective, les recherches envisagées visent à évaluer les réponses des populations d'une espèce de moustique, *Culex pipiens*, la plus répandue dans la région de Tébessa (**Tine-Djebbar, 2009**) à l'impact des huiles essentielles d'une plante larvicide *Eucalyptus globulus*. Plusieurs aspects ont été étudiés :

- Les biomarqueurs des individus du stade larvaire 4 (GSH et la catalase) par la détermination du contenu en protéines à différentes périodes, 24, 48 et 72h après traitement.

Chapitre I :

Matériels et méthodes.

1. MATERIELS ET METHODES

Le présent travail consiste à évaluer l'activité des huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des fleurs d'*Eucalyptus globulus* cultivé dans la région de Tébessa à l'égard de *Culex pipiens*, agent de nuisance. L'aspect a été étudié : Les biomarqueurs chez les larves du quatrième stade.

1.1 Présentation de l'insecte *Culex pipiens*

Culex pipiens, l'espèce de moustique la plus courante dans les zones urbaines, est utilisée comme représentant du matériel biologique. Ce moustique a la capacité de coloniser divers habitats (**Savage et Miller, 1995**). À l'exception des zones trop froides, *Culex pipiens* (*Cx pipiens*) capable de se développer dans toutes les régions du monde (**Resseguier, 2011**).

Sa période d'activité s'étend sur toute l'année, mais c'est pendant les saisons chaudes qu'il atteint son pic de développement. Il se développe aussi bien dans les milieux dulçaquicoles, naturels (fosses, mares, flaques d'eau) ou artificiels (bassins, réservoirs, récipients, vieux pneus remplis d'eau de pluie, situés en général à proximité des habitations (**Moulinier, 2003 ; Faraj et al., 2006**).

Les moustiques appartiennent à la classe des insectes, à l'ordre des diptères et à la famille des Culicidés. Les moustiques sont cosmopolites et sont groupés en deux sous-familles, Culicinae et Anophelinae (**Trari et al., 2002**).

Les diptères du genre *Culex* sont des agents nuisants et des vecteurs compétents pour plusieurs agents pathogènes affectant l'homme et les animaux, tel est le cas du virus du Nil occidental et de la fièvre de la Vallée du Rift (**Moutailler et al., 2008 ; Krida et al., 2011 ; Reusken et al., 2011 ; Berrah et Ahcene, 2016**).



Figure 01 : Femelle de *Cx pipiens* gorgée de sang (**Falatico, 2011**).



Figure 02 : *Cx pipiens* male (Legros, 2010).

1.1.1 Position systématique

Le tableau ci-dessous présente la position systématique de cette espèce.

Tableau 01 : La position systématique de *Culex pipiens* (Linné, 1788).

Règne	Animalia
Embranchement	Arthropoda
Classe	Insecta
Ordre	Diptera
Famille	Culicidae
Sous-famille	Culicidae
Genre	Culex
Espèce	<i>Culex pipiens</i>

1.1.2 Morphologie

1.1.2.1 Cycle biologique

Le cycle de vie du moustique se compose de plusieurs étapes : œufs, larves et nymphes qui vivent dans l'eau, et l'adulte qui vit dans l'air (Jolivet, 1980). La vie du moustique *Cx pipiens* est composée de deux phases distinctes : une phase aquatique et une phase aérienne.

Après l'accouplement, les femelles prendront un repas sanguin nécessaire à l'élaboration des œufs. Cependant, les femelles de *Cx Pipiens* peuvent produire une première ponte sans repas sanguin : elles sont dites autogènes. Elles utilisent les réserves accumulées durant leur stade larvaire. Les œufs sont pondus dans l'eau, claire en général, mais on les

trouve également dans les eaux polluées, chargées en matières organiques qui permettront aux larves de se nourrir.

A. Œuf

Les œufs sont déposés dans une sorte de petite embarcation qui flotte à la surface de l'eau. Environ 24 à 48 heures après la ponte, les œufs éclosent.



Figure 03 : Aspect des œufs de *Cx pipiens* (Benkhedim-Aouati, 2009).

B. Larves

Les larves vivent uniquement dans l'eau pendant environ 5 à 6 jours, et subissent 4 mues avant de se métamorphoser en nymphes.

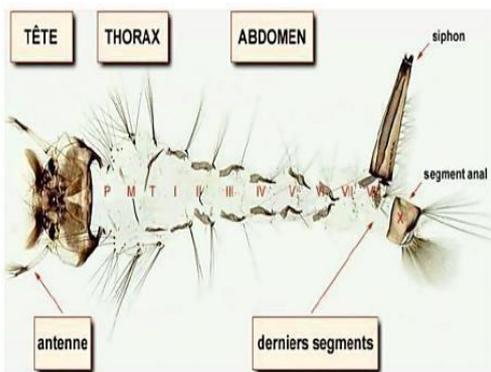


Figure 04 : Morphologie générale d'une larve du stade 4 de *Cx Pipiens* (Schaffner et al., 2001).

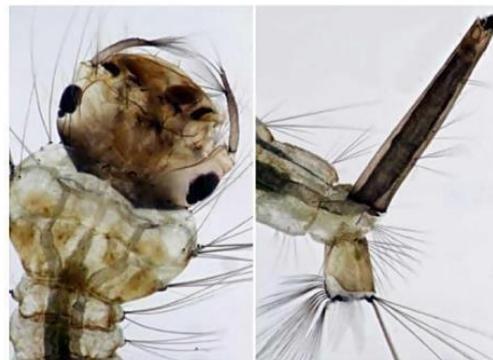


Figure 05 : Extrémité antérieure et postérieure de la larve 4 du *Cx pipiens* (Blaise et al., 2011).

C. Nymphe

La nymphe ne se nourrit plus et de profondes modifications anatomiques s'opèrent. Après 2 à 3 jours.



Figure 06 : Morphologie générale d'une nymphe de *Cx pipiens* (Anonyme).

D. L'adulte

L'adulte est entièrement développé à l'intérieur de sa coquille de nymphe. Le tégument se dessèche au contact de l'air et il se forme une déchirure en T sur sa face dorsale sous l'effet de l'augmentation de la pression interne. L'imago se dégage progressivement en se gonflant d'air pour s'envoler après un temps nécessaire au déplissage des ailes et des pattes par augmentation de la pression de l'hémolymphe (Grid et al., 2018).

Le cycle de vie de *Cx pipiens* est représenté dans le schéma ci-dessous.



Figure 07 : Cycle de développement de *Cx pipiens* (Benkhedim-Aouati, 2009).

1.2 Techniques d'élevage

Les œufs de moustiques sont récoltés des différents sites d'échantillonnages non traités de la ville de Tébessa (Hammamet) (**Figure 08** et **Figure 09**) Après l'éclosion les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients en plastique contenant d'eau déchlorurée et nourries avec du mélange biscuit 75% levure 25% (**Soltani et Rehim, 1999**).

L'eau est renouvelée chaque deux jours. 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 (**Wigglesworth, 1972**).



Figure 08 : Situation géographique de site délavage dans la wilaya de Tébessa

(*Google earth*).



Figure 09 : Site d'échantillonnage Tébessa "Hammamet"; (photo personnelle).

1.3. Présentation de la plante

1.3.1. Description

L'*Eucalyptus globulus* est une plante aromatique et médicinale originaire d'Australie. Cette plante appartient à la famille des Myrtacées et peut atteindre une hauteur de 25 à 35 mètres, voire plus sous des conditions favorables (**Figure 10**). Son écorce est lisse et grise, tandis que son bois est rouge. Les feuilles de *Eucalyptus globulus* (*E. globulus*) sont plates et brillantes, avec une forme de faucille. Au printemps, la plante produit des fleurs blanchâtres .

En Algérie, l'*Eucalyptus* a été introduit en 1854 et a réussi à s'étendre dans des régions très arides, presque désertiques, jusqu'aux zones côtières humides. Cette plante est capable de résister au froid et de pousser sur divers types de sols, tels que les sols secs, siliceux, calcaires, humides ou argileux, salés ou non, qu'ils soient proches ou éloignés de la mer (**Mekki et al., 2020**).

1.3.2. Position systématique

D'après les résultats obtenus par METRO (**Métro, 1970**), la systématique de l'*E. globulus* est la suivant (**Tableau 02**) :

Tableau 02 : Classification botanique d'*Eucalyptus globulus* (**Métro, 1970**).

Règne	Plantae
Embranchement	Spermaphyta
Sous-Embranchement	Angiospermes
Classe	Magnoliopsida /Dicotylédones
Sous /Classe	Rosidae
Ordre	Myrtalea
Famille	Myrtaceae
Genre	Eucalyptus
Espèce	<i>Eucalyptus globulus</i> L.



Figure 10 : L' *Eucalyptus globulus* (Bey–Ould Si Said et Boulekbache-Makhlouf, 2014).

1.4 . Les huiles essentielles

1.4.1 Définition

Les huiles essentielles (HES), appelés aussi essences, sont des mélanges de substances aromatiques produites par de nombreuses plantes et présentes sous forme de minuscules gouttelettes dans les feuilles, la peau des fruits, la résine, les bois. Elles sont présentes en petites quantités par rapport à la masse du végétal . Elles sont odorantes et très volatiles, c'est-à-dire qu'elles s'évaporent rapidement dans l'air (**Padrini et Lucherini, 1996**). Généralement se sont des antiseptiques antibactériens vermifuges ou stomachiques. On dénombre environ 600 essences utilisées de nos jours en aromathérapie dont l'essor s'étend dans le domaine médical et touristique (**Delille, 2010**).

L'usage des HES en tant que répulsifs cutanés pour la protection personnelle contre les Insectes est donc fortement déconseillé .Il est important de faire une différence entre les HES et les huiles végétales. Les huiles essentielles sont obtenues par expression (réservée aux agrumes) ou par distillation à la vapeur d'eau, Une huile végétale est obtenue par pression, et est constituée majoritairement de corps gras (**Binet et Brunel, 2000; Chaker, 2010**).

1.4.2 Composition chimique des huiles essentielles

Le terme « Huiles essentielles » est un terme générique qui désigne les composants liquides et hautement volatiles des plantes. Les terpènes (principalement les monoterpènes) représentent la majeure partie (environ 90%). Elles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l'eau. Par contre, elles sont solubles dans les solvants organiques (acétone, sulfure de carbone, chloroforme, etc.) (**Bastien, 2008 ; Benayad, 2008**)

L'HES d'*E. globulus* est 100% naturelle et non diluée. D'une couleur claire, elle dégage une odeur forte et camphrée. Ses principaux composants sont les Monoterpènes (limonène, para- cymène, alpha-pinène, et bêta-pinène), l'Oxyde terpénique (1,8-cinéole), les Monoterpénols (alpha- terpinéol) et les Sesquiterpènes (aromadendrane). Elle se révèle efficace pour l'hygiène buccale. Cette essence s'utilise pour les bains, dans la cuisine, en inhalation, pour un massage mais aussi pour un soin. Elle sert également à parfumer les produits de nettoyage (**Binet et Brunel, 2000; Chaker, 2010**).

1.4.3 Méthode d'extraction

Les HES ont été extraites par hydrodistillation à l'aide d'un dispositif de type Clevenger. Avant l'extraction, l'appareil a été nettoyé avec de l'acétone et rincé avec de l'eau distillée pour éliminer toute poussière ou graisse pouvant contaminer l'huile pendant l'extraction. Trois distillations ont été réalisées, chacune avec 200g de Fleurs séché et 1000 ml d'eau dans un ballon de 2 litres, surmonté d'une colonne de 60 cm de long reliée à un réfrigérant. La distillation a été effectuée par ébullition pendant 2 heures après l'apparition de la première goutte de distillat à la sortie du tube de condensation de la vapeur.

Les vapeurs chargées d'huile se sont condensées dans une burette graduée en traversant un réfrigérant (voir **Figure 11**).

Une fois décantée, l'huile essentielle est aspirée à l'aide d'une pipette, puis stockée dans des tubes en verre hermétiquement fermés. Les tubes sont ensuite recouverts de papier d'aluminium pour protéger l'huile contre toute altération, puis conservés au frais et à l'abri de la lumière jusqu'à leur utilisation à une température de -4°C (**Bhir et Guennouni, 2020**)



Figure 11 : Montage de l'hydro distillateur de type Clevenger. (Photo personnelle).

1.5 . Collecte de la plante et Protocol d'extraction des huiles essentielles

En janvier 2023, des fleurs d'*E globulus* a été récoltées dans différentes stations de la région de Tébessa, dans le nord-est de l'Algérie, pour l'extraction d'huiles essentielles

Après avoir été fraîchement récoltées, les fleurs ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Les huiles essentielles ont été extraites à partir de fleurs, en utilisant une biomasse de 200 g de matériel végétal et 1000 ml d'eau distillée dans un montage d'hydrodistillation de type Clevenger pendant 2 heures. L'HE récupérée après la distillation a été conservée à 4°C dans des petits flacons en verre ombré bien fermés avant son utilisation.

1.6. Calcul du rendement

Le rendement en HE correspond au rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante utilisée. Pour calculer ce taux, exprimé en pourcentage, on utilise la formule suivante :

$$R = PB / PA \times 100 \text{ ou } R = [\Sigma PB / \Sigma PA] \times 100$$

R : Rendement en huile en %

PA : Poids de la matière sèche de la plante en g.

PB : Poids de l'huile en g.

1.7 Traitement

Nous avons préparé une solution D'HE dans l'éthanol, une dose correspondant à la CL25 (6ppm = 0.9µl) (**Khaled & Dib, 2014**). Après agitation, 1ml de la solution préparée a été appliqué dans des récipients contenant 150 ml d'eau et 20 Larve (L4) de *Cx pipiens*, selon les recommandations de OMS (**Anonyme, 1983**). Après 24h de traitement, (L4) sont rincées et placées dans de nouveaux récipients contenant de l'eau propre et de la nourriture.

1.8. Dosage des biomarqueurs

Les larves du quatrième stade des séries témoins et traitées aux huiles essentielles ont été utilisées pour le dosage de l'activité enzymatique de la catalase, et du taux du glutathion (GSH).

Tous les dosages ont été menés sur des échantillons biologiques prélevés à 24, 48 et 72 heures après traitement. Par ailleurs, la concentration en protéines totales des différents échantillons a été préalablement déterminée suivant la méthode de Bradford, afin de pouvoir calculer les différentes activités spécifiques et le taux du glutathion. Des séries témoins sont réalisées parallèlement.

1.8.1. Dosage du glutathion

Le glutathion (GSH) est un composé thiol constitué d'une succession de trois acides aminés : l'acide glutamique, la cystéine et la glycine. Il joue un rôle antioxydant. Dans les conditions normales, le glutathion se trouve, soit sous forme réduite et libre (GSH) soit sous la forme oxydée (GSSG) ou bien lié à des protéines (GSS-prot) ou à des résidus appropriés comme le coenzyme A, la fonction thiol lui confère ses principales propriétés biochimiques.

Les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Cx pipiens* témoins et traitées par les huiles essentielles de *E.globulus* à une concentration de 6 ppm, correspondant à la CL25, sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures) puis pesées. Elles sont ensuite homogénéisées dans une solution d'EDTA (0,02 M) [7,448 g ECTA, 1000 ml eau distillée] à raison de 0,8 ml par 200 mg de poids. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant 20 individus chacune avec une série témoin.

L'homogénat (800 µl) additionné d'acide sulfosalicylique ASS (200 µl) est vortexé et laissé pendant 15 min dans un bain de glace. Après centrifugation (1000 trs/ mm pendant 5 min), le surnageant est récupéré et utilisé comme source d'enzyme (**Figure 12**).

Le dosage est réalisé selon la méthode de Weckberker et Cory, (1988) comme la suite : une aliquote de 500 µl du surnageant récupéré est ajoutée à 1 ml du tampon tris / EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448 g EDTA, 1000 ml eau distillée] et 0,025 ml de DTNB (0,01 M) [3,96 g DTNB, 1000 ml méthanol absolu]. La lecture des absorbances s'effectue à une longueur d'onde de 412 nm après 5 minutes de repos pour la stabilisation de la couleur contre un blanc où les 500 µl de surnageant sont remplacés par 500 µl d'eau distillée.

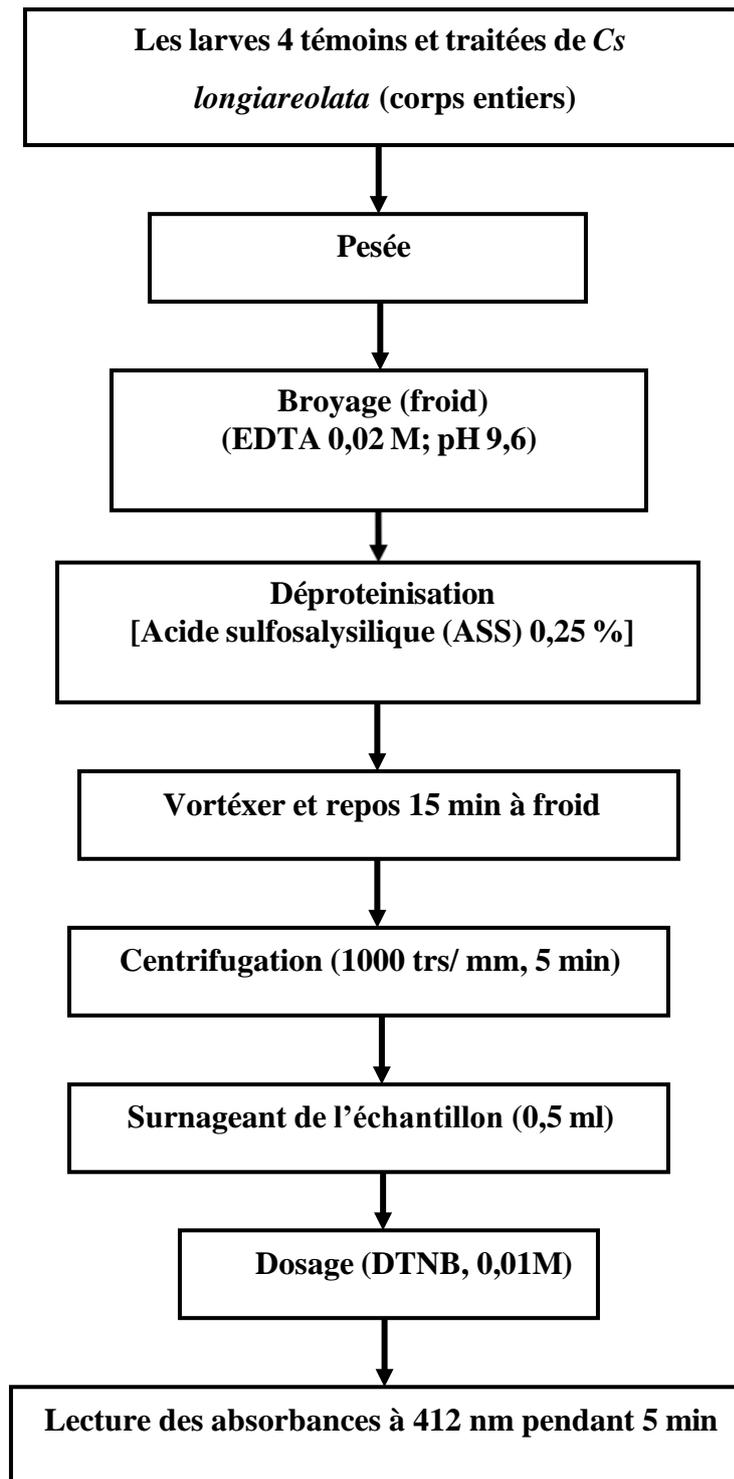


Figure 12 : Extraction et dosage du glutathion (GSH) (Weckberker & Cory, 1988).

Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$X = \frac{D_{\text{max}} - D_{\text{min}}}{0,04 \text{ mg de protéines}}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines ($\mu\text{M} / \text{mg}$ de protéines).

ΔD_o : différence de la densité optique obtenue après hydrolyse du substrat.

13,1 : coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH) ($\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Vd : volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisations : 1 ml [0,2 ml ASS + 0,8 ml homogénat].

Vh : volume de l'homogénat utilisé dans la déprotéinisations : 0,8 ml.

Vt : volume total dans la cuve : 1,525 ml [0,5 ml surnageant + 1 ml tris / EDTA + 0,025 ml DTNB].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,5 ml.

Mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

1.8.2 Dosage de la catalase

Le dosage de la catalase (CAT) est réalisé selon la technique de Claiborne (1985). Cette technique est basée sur la mesure spectrophotométrique de la réduction de l'eau oxygénée (H_2O_2) en une molécule d'oxygène (O_2) et deux molécules d'eau (H_2O) en présence de la CAT à une longueur d'onde UV de 240 nm, selon la réaction suivante :

Catalase



Les larves du quatrième stade témoins et traitées de *Cx pipiens*, sont prélevées à différentes périodes (24, 48, 72 et 96 heures), l'essai est conduit avec 3 répétitions comportant 20 individus. Les larves sont homogénéisées dans 1ml de tampon phosphate (100 Mm, pH 7,4), puis centrifugées à 15000 trs/mn, pendant 10 mn. Le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage de l'activité de la catalase s'effectue dans une cuve de spectrophotomètre en quartz à 250C, sur une fraction aliquote de 50 μl du surnageant dilué de façon à se situer entre 1 et 1,5 mg de protéines/ml, soit 0,05 à 0,75 mg dans la cuve, à la quelle on ajoute 750 μl de tampon phosphate (100 Mm, pH 7,4). Après agitation, la lecture est effectuée au spectrophotomètre. L'activité décroît rapidement, il est donc important de mettre toujours le même temps entre le pipetage du surnageant et le moment où on place la cuve dans le spectrophotomètre.

La lecture des absorbances s'effectue après 15 secondes d'attente toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde de 240nm contre un blanc avec 800 µl de tampon phosphate (100Mm, pH 7,4), et 200 µl de H₂O₂ (Claiborne, 1985).

L'activité spécifique est calculée selon la formule suivante :

$$X = \frac{D_{0\max} - D_{0\min}}{0,04 \text{ mg de protéines}}$$

X : micromole de substrat réduit par minute et par mg de protéines (µM/mn/mg de protéines).

D₀ max : densité optique maximum obtenue.

D₀ min : densité optique minimum obtenue.

0,04 : coefficient d'extinction molaire du H₂O₂ (cm⁻¹ .mM⁻¹).

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

1.8.3 Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de comassie (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 3**).

Tableau 3 : Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine (µg)	0	20	40	60	80	100

1.9. Analyse statistique

Les moyennes ± SEM sont calculées pour chaque groupe d'expérience. La régression

linéaire, le test t de *student*, l'analyse de la variance à un critère de classification ont permis de mettre en évidence les différences entre les échantillons pour toutes les expérimentations.

Chapitre II :

Résultats.

2. RESULTATS

2.1 Rendement des huiles essentielles d'*E. globulus*

Les HES d'*E. globules* obtenues par hydrodistillateur de type Clevenger sont de couleur jaune claire ayant une odeur très forte, et avec un rendement de $2.32 \pm 0.47\%$ des fleurs sèches de la plante.

2.2 Effets des HES d'*E. globulus* sur le taux des protéines chez les larves *Cx pipiens*

Le taux des protéines totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$) a été calculé chez les groupes témoins et les traités par la dose létale 25 (CL25) chez les moustiques *Cx pipiens* d'après la méthode de (Bradford, 1976).

Les résultats relatifs au taux des protéines totaux sont présentés dans le **Tableau .01** et la **Figure .01**, ce sont exprimés en microgramme par mg ($\mu\text{g}/\text{mg}$).

Chez les séries témoins, on a remarqué une augmentation de taux des protéines, l'étude statistique révèle une différence non significative ($p \geq 0,05$) chez les témoins après 24 h et 48h, tandis qu'il y a une différence significative entre le témoin de 24 h et le témoin 72 h.

Chez les séries traitées par les huiles essentielles d'*E. globulus*, on a remarqué une augmentation de taux des protéines par rapport aux témoins ($p \geq 0,05$).

L'étude comparative des moyennes par le test de Fisher entre les séries traités et les séries témoins révèle une augmentation non significative du taux des protéines à 24h ($p=0.844$), 48h ($p=0.292$) et une augmentation significative à 72h ($p=0.046$).

Tableau .01 : Effet des huiles essentielles d'*E. globulus* (CL25), sur le taux des protéines totaux ($\mu\text{g}/\text{mg}$) chez les larves du quatrième stade de *Cx pipiens* ($m \pm SD$; $n= 3$) : comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoins	CL 25
24	44.257 \pm 6.052 a C	45.013 \pm 5.143a C
48	49.991 \pm 3.643a BC	54.124 \pm 0.945a B
72	56.969 \pm 3.128 a B	65.324 \pm 6.288b A

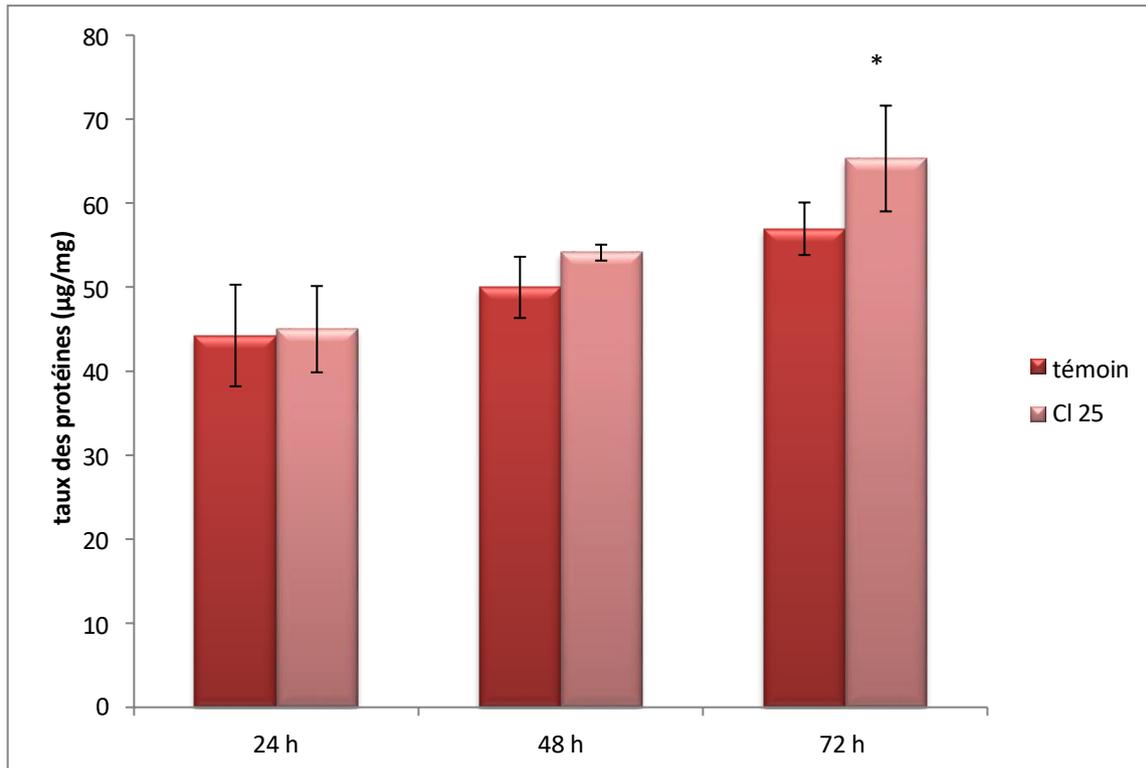


Figure .01 : Effet des HES d'*E. globulus* (CL25), sur le taux des protéines totaux (µg/mg) chez les larves du quatrième stade de *Cx pipiens* ($m \pm SD$; $n= 3$). (*: Différence significative ($p<0.05$) entre les séries témoins et traitées, **: Différence hautement significative ($p\leq 0,01$) entre les séries témoins et traitées, *** très hautement significative $p\leq 0.001$).

2.3 Effets des HES d'*E. globulus* sur le taux des GSH chez les larves *Cx pipiens*

Le taux du GSH ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) a été estimé chez les séries témoins et traitées aux HES de *E. globulus* (CL25) chez *Cx pipiens* par application de la formule de Weckberker & Cory (1988). Les résultats relatifs au taux de GSH sont exprimés en micromoles par milligramme de protéines ($\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines).

Les résultats relatifs au taux de GSH sont présentés dans le **Tableau .02** et la **Figure .02**, ce sont exprimés en $\mu\text{M}/\text{mg}$ de protéines).

Chez les séries témoins, on a remarqué une diminution de taux des glutathion, l'étude statistique révèle une différence non significative ($p \geq 0,05$) chez les témoins après 24 h 48 h et 72h.

Chez les séries traitées par les hes d'*E. globulus*, on a remarqué une diminution significative de taux de GSH entre les groupes traités.

L'étude comparative des moyennes par le test de Fisher entre les séries traités et les séries témoins révèle une diminution non significative du taux de GSH à 24h ($p=0.059$), et une diminution hautement significative à 48h ($p=0.002$) et à 72h ($p=0.004$) respectivement.

Tableau .02 : Effet des HES d'*E.globulus* (CL25), sur le taux de GSH (μM / mg de protéines) chez les larves du quatrième stade de *Cx pipiens* ($m \pm SD$; $n= 3$) : comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoins	CL 25
24	1.901 \pm 0.111a A	1.510 \pm 0.279a A
48	1.739 \pm 0.304a A	0.978 \pm 0.043b B
72	1.568 \pm 0.359a A	0.902 \pm 0.062b B

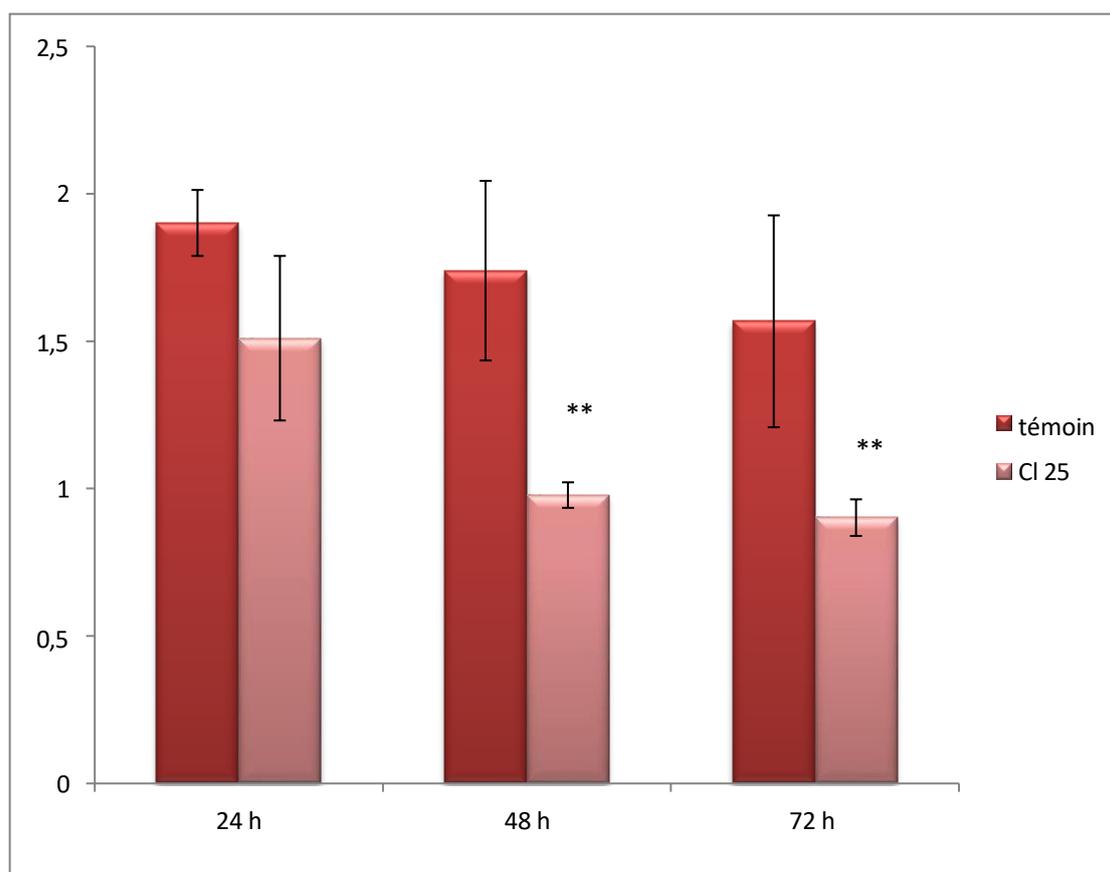


Figure .02 : Effet des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* (CL25), sur le taux de GSH (μM / mg de protéines) chez les larves du quatrième stade de *Cx pipiens* ($m \pm SD$; $n= 3$) (* : Différence significative ($p<0.05$) entre les séries témoins et traitées, ** : Différence

hautement significative ($p \leq 0,01$) entre les séries témoins et traitées, *** très hautement significative ($p \leq 0,001$).

2.4 Effets des HES d'*E. globulus* sur l'activité de CAT chez les larves *Cx pipiens*

L'activité spécifique de catalase est estimée selon la méthode décrite par Claiborne (1985). L'activité spécifique de catalase a été calculé chez les groupes témoins et les traités par la dose létale 25 (CL25) chez les moustiques *Cx pipiens* différents périodes (24 h, 48 h et 72 h).

Les résultats obtenus sont présentés dans le **Tableau .3** et la **Figure .3**, ce sont exprimés en micromoles par minutes par mg des protéines ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines)

Chez les séries témoins, on a remarqué une augmentation de l'activité spécifique de CAT, l'étude statistique révèle une différence non significative ($p \geq 0,05$) chez les témoins après 24 h, 48h et 72 h.

Chez les séries traitées par les HES d'*E. globulus* CL25 on a enregistré une augmentation de l'activité de catalase très hautement significative uniquement chez les moustiques traités pendant 72 h par rapport à celle traités pendant 24 h.

L'étude comparative des moyennes par le test de Fisher entre les séries traités et les séries témoins révèle une augmentation non significative de l'activité de cette enzyme à 24h ($p=0.561$), une augmentation significative à 48h ($p=0.026$) et une augmentation hautement significative à 72h ($p=0.002$) par rapport à leurs témoins.

Tableau .03 : Effet des HES d'*E. globulus* (CL25), sur l'activité de catalase ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ des protéines) chez les larves du quatrième stade de *Cx pipiens* ($m \pm SD$; $n= 3$) : comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoins	CL 25
24	9.424±0.853a BC	10.046±2.151a BC
48	8.376±0.816a C	11.025± 1.178 b AB
72	8.257±0.588a C	12.441±1.421b A

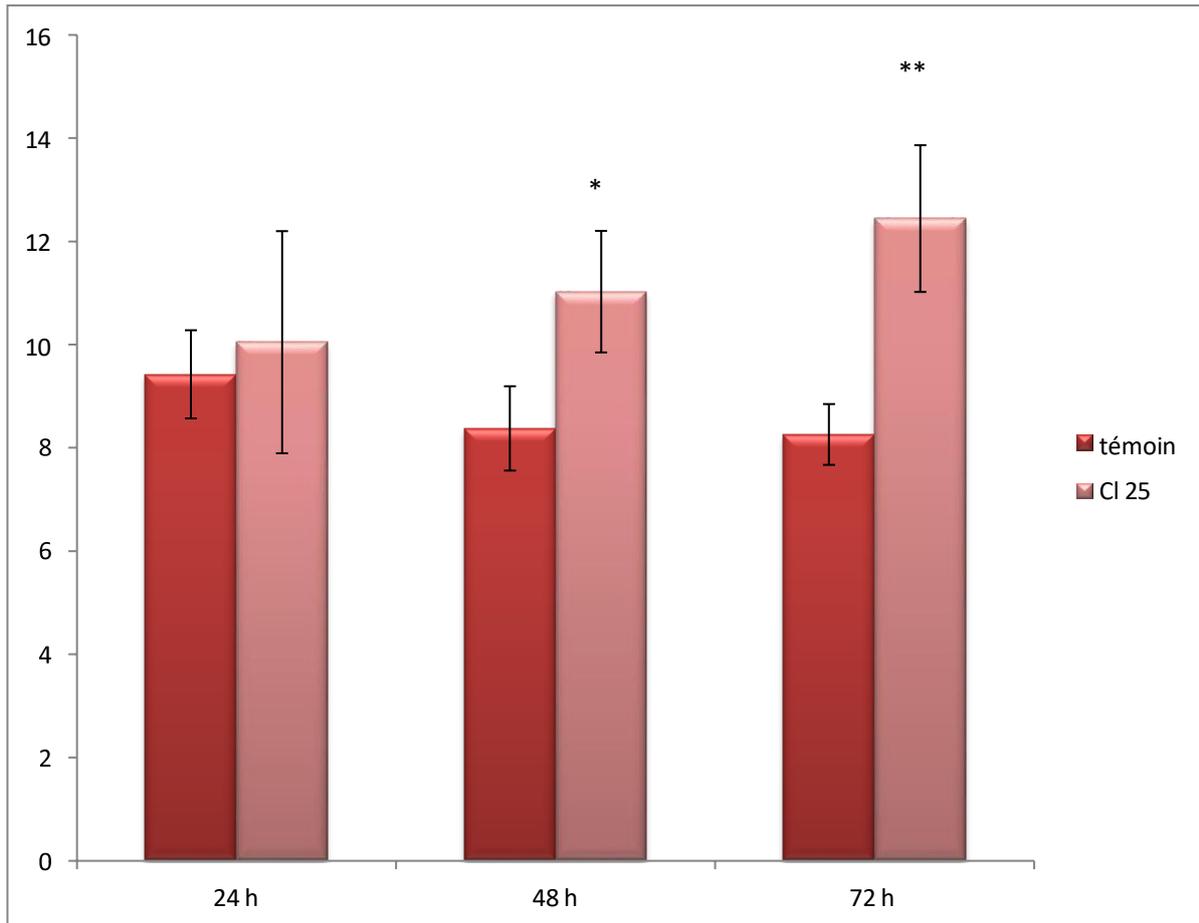


Figure .03 : Effet des HES d'*E. globulus* (CL25), sur l'activité de catalase ($\mu\text{M}/\text{mg}$ des protéines) chez les larves du quatrième stade de *Cx pipiens* ($m \pm SD$; $n= 3$) (* : Différence significative ($p < 0.05$) entre les séries témoins et traitées, ** : Différence hautement significative ($p \leq 0,01$) entre les séries témoins et traitées, *** très hautement significative ($p \leq 0.001$)).

Chapitre III :

Discussion.

3. DISCUSSION

3.1 Rendement en huiles essentielles

La méthode d'obtention des HES reste une étape très importante qui peut agir directement sur la qualité et la quantité des huiles essentielles. Le succès de cette étape est interprété par le calcul des rendements (**Bruneton, 1993**).

Les HES d'*E.globulus* obtenues par hydrodistillateur de type Clevenger sont de couleur jaune claire ayant une odeur très forte, Le rendement d'extraction a enregistré une valeur de 2.32 ± 0.47 %. En constat, chez la même espèce notre résultat de rendement d'extraction est un peu similaire de celle trouvée chez (**Degaichia et Shailia, 2017**) ce qui affiche un rendement de 3.12 ± 0.5 % des fleurs. Aussi on observe que notre valeur diffère de celle trouvée chez (**Khaled et Dib, 2015**) ce qui affiche un rendement de 1.76% des fleurs.

En revanche, il est observé également dans des différentes espèces d'eucalyptus des rendements de valeurs de 5% pour *Eucalyptus salmonophloia* (**Zrirae et al., 1994**), de 0,9% pour *Eucalyptus saligna* (**Tapondjou et al., 2004**), de 0,99% pour *Eucalyptus camadulensis* (**Mehani et al., 2014**), de 0,25 % pour *Eucalyptus cladocalyx* (**Abdellah et al., 2002**), de 2,6-3,2% pour *Eucalyptus sidéroxyton* et de 4,2 -4,7% pour *Eucalyptus elaeophora* (**Boland D.J. et al., 1991**).

Cette variation est observée également dans la même famille tel que *Thymus vulgaris* ou le rendement enregistré une valeur de 1,58 % (**Delloum et Rami, 2016**) et un rendement de 1% (**El Akhal et al., 2014**).

Le rendement varie d'une plante à une autre, il est 0,5% chez *Artemisia mesatlantica*, de 0,1 à 0,35% chez la rose, de 0,5 à 1% chez la menthe poivrée et le néroli, de 1 à 3 chez l'anis, de 0,8 à 2,8% chez la lavande, de 1 à 2,5% chez le romarin et de 2 à 2,75% chez le thym (**Bencheqroun et al., 2012**).

Cette variation en huile essentielle, tant au niveau de leur composition, que rendement, peut s'expliquer par différents facteurs : d'origine intrinsèque, lié au bagage génétique de la plante ou extrinsèque, liés aux conditions de la croissance et du développement de la plante (**Bouguerra, 2012**). D'autres facteurs peuvent également influencer ce rendement : l'espèce, la période de récolte, les pratiques culturales, la technique d'extraction, la température et la durée de séchage et l'état physiopathologique de la plante (**Tchoumboungang et al.; 2009**).

3.2 Effet des HES extraites d'*E. globulus* sur les activités enzymatiques

Les biomarqueurs concernent l'étude des changements physiologiques, biochimiques, moléculaires ou comportementaux révélant l'exposition présente ou passé d'un individu à au moins une substance chimique à caractère polluant qui peuvent être mesurés dans les tissus ou les fluides d'un organisme ou sur l'organisme entier pour mettre en évidence l'exposition à un ou plusieurs contaminants (**Badiou, 2007**).

Les principaux biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme lacatalase et non enzymatiques comme le glutathion, puisque leurs activités sont susceptibles d'être fortement modifiées après une exposition.

3.2.1 Effet sur taux de GSH

Pour limiter l'accumulation excessive des ERO dans l'organisme, la cellule utilise les antioxydants non enzymatiques parmi lesquels : Le glutathion qui est un tripeptide formé par l'association de 3 acides aminés (glutamate, cystéine, glycine) (**Meister et Anderson, 1983**). Il est présent chez tous les organismes, c'est le thiol libre le plus répandu dans les cellules, ce thiol est très abondant dans le cytoplasme et les mitochondries (**Massaad et Klann, 2011**). Il est directement ou indirectement impliqué dans de nombreux processus biologiques tels que la synthèse de protéines et des acides nucléiques, le transport cellulaire, l'activité de plusieurs enzymes, le métabolisme secondaire et la protection cellulaire (**Franco, 2009**). Le glutathion existe sous deux formes, oxydée GSSG et réduite GSH, et ces enzymes comprennent la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion S-transférase (GST) qui sont impliqués dans la détoxification (**Bouabida , 2014**).

C'est le principal système impliqué dans la détoxification des ions peroxyde et dans la lutte contre le stress oxydatif La fonction principale de ces derniers est la protection contre la peroxydation lipidique en arrêtant la formation des ROS (**Massaad et Klann, 2011**). Le glutathion constitue le système antioxydant de la première défense grâce à la fonction thiol qui se lie aux métabolites toxiques. Il joue son rôle antioxydant en synergie avec le glutathion peroxydase, la superoxydedismutase et le Catalase (**Morin et al., 2004**).

Nos résultats du dosage de la GSH chez les larves du quatrième stade de *Cx pipiens* traité par les HES extraites d'*E.globulus* à la concentration sous-létale (CL25) à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), révèle une diminution significative du taux de GSH.

Dans le même contexte, des études récentes ont montré que les HES et leurs constituants présentent un potentiel important en tant qu'agents insecticide, une étude réalisée par **Chettat en 2013** mis en évidence une diminution du taux de la GSH chez *Cs longiareolata* traitée par les HES extraites de la plante médicinale *Mentha piperita*, en ajout, les mêmes substances volatiles ont diminué le taux de GSH chez les moustiques *Cx pipiens* (**Khamene et al., 2014**). Nos données sont aussi en accord avec celles-ci obtenues par **Kemache et Meziani (2015)** et **Gouasmia et Bouchagoura (2013)**, qui ont étudié l'efficacité de l'*Ocimum basilicum* et *Lavandula dentata* contre *Culiseta longiareolata* et *Cx pipiens* respectivement. Dans la même ligne, les hes d'*E. globulus* sont enregistrés efficace vis-à-vis *Cx pipiens* (**Boutaleb et Boussida, 2016**)

La toxicité de certaines plantes aromatiques telles que *Artemisia herba alba*, *Marrubium vulgare*, *Laurus nobilis*, *E. globulus*, *Mentha spicata*, *Rosmarinus officinalis*, *Rutamontana*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula officinalis* et *Origanum compactum* sur les larves de *Cx pipiens* L. ont été étudié (**Aouati, 2016**).

La diminution de taux de GSH résultant de leur action avec des radicaux libres générés par ces molécules qui va diminuer le taux GSH dans sa forme oxydée disulfure de glutathion (GSSG), ainsi contribuant au stress oxydatif, l'apoptose et la sensibilisation à des stimuli oxydants (**Rahman, 2007**). Cette diminution pourrait être expliquée par une consommation accrue de ce cofacteur par les GSTs afin de détoxifier l'organisme. De plus, cette diminution du GSH traduit également une réduction du système antioxydant non enzymatique (**Bouabida, 2014**).

3.2.2 Effet sur l'activité spécifique de catalase

A la coté des systèmes non enzymatiques de défenses antioxydants, On trouve des systèmes enzymatiques (superoxydedismutase, catalase, glutathion peroxydase, glutathion réductase) (**Coeurdassier, 2001**), L'activité du système antioxydant subit une augmentation ou une inhibition sous l'effet d'un stress chimique (**Winston, 1991**).

Nos résultats ont mis en évidence une augmentation significative de l'activité spécifique de Catalase chez les séries traitées par les de la HE plante étudiée, probablement en raison de l'intensification de l'activité antioxydante chez les insectes. Selon

Halliwell et Gutteridge (1985), l'augmentation du stress oxydatif renforce l'activité des enzymes antioxydants chez les animaux.

En effet, les catalases (CAT) sont des enzymes péroxysomales dont le rôle est de prévenir les peroxydations des molécules biologiques induites par l'eau oxygénée (**Livingstone et al., 1993**) grâce à une transformation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et en oxygène moléculaire (O_2) (**Brown et al., 2004**). Elles sont sensibles à certains contaminants inducteurs de stress oxydatifs au niveau des membranes cellulaires, comme les HAP, les PCB, certains pesticides (**Livingstone et al., 1993**).

Une des hypothèses retenues est que cette activité enzymatique semble très sensible aux facteurs environnementaux d'origine anthropique ou naturelle (**Pellerin-Massicotte, 1994**), hypothèse corroborée par les résultats obtenus par Pellerin-Massicotte et al., (1997), observant une induction de l'activité catalase dans un endroit non pollué qui pourrait être due à un stress physiologique comme une répétition de la ponte. Selon ces auteurs, la catalase pourrait être sensible à des variations subtiles des conditions environnementales.

Nos résultats sont en accord avec celles obtenue par **Boutaleb et Boussida, 2016**, l'augmentation de l'activité de la catalase a été observés chez les larves du quatrième stade *Cx pipiens* et *Culiseta longiareolata* traitées par l'*Ocimum basilicum* de *Lavandula dentata* (**Mousbahi et Halaimia, 2016**) , chez *Culiseta longiareolata* et *Cx pipiens* traité avec spiromesifène (**Bouabida, 2014**), chez les poissons et des bivalves exposés à des polluants organiques (HAP, PCB, pesticides et eng rais chimiques) (**Cossu et al., 1997**).

Cette augmentation de l'activité traduit une mise en place du processus de détoxification qui est une forme de défense de l'insecte contre le pesticide (**Boutaleb et Boussida, 2016**).

3.2.3 Effet sur le taux des protéines

Quand l'insecte entre en contact avec le pesticide, ce dernier pénètre dans l'organisme et atteint, plus ou moins rapidement, au niveau cellulaire, les protéines et les enzymes cibles dont il entrave le fonctionnement normal (**Haubruge et Amichot, 1998**).

La synthèse des protéines est nécessaire pour le maintien de croissance et la reproduction. Les protéines entrent dans plusieurs réactions comme la régulation hormonale,

et elles sont intégrés dans les cellules comme élément structurale avec les lipides et les glucides (**Dris et al., 2017**).

Chez les moustiques autogènes, les protéines stockées aux stades larvaires et qui proviennent de la digestion des couches proticulaires profondes de l'ancienne cuticule sont utilisées pour la formation des oeufs. Cependant, chez les moustiques anautogènes, le repas sanguin représente la principale source de protéines nécessaires (**Briegel, 1985**).

Nos résultats montrent une augmentation significative de taux des protéines chez les larves des moustiques traités par la dose sous-létale 25 des HES d'*E.globulus* à différentes périodes d'exposition.

Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus par **Berghiche et al., 2015**, qui trouve une augmentation de taux des protéines chez *Palaemonad spersus* exposé à un inhibiteur de la synthèse de la chitine, le novaluron. Aussi une élévation de taux des protéines est enregistrée chez les larves des versblancs *rhizotrogini* traités par les extraits hydroalcooliques des feuilles de *Neriumoleander*(*Apocynacées*) (**Madaci et al., 2008**); chez le mollusque bivalve *Donax trunculus* exposé aux polluants environnementaux (**Sifi, 2009**), aussi, chez *Tenebrio molitor* traitée par un analogue de hormone juvénile, pyriproxifène (**Aribi et Lakbar, 2001**); en plus chez les poissons *Labeorohita* exposés à un insecticide organophosphoré (**Thenmozhi et al., 2011**).

Tandis que **Dris et al., 2017**, révèle une action inhibitrice sur les protéines chez les larves de quatrième stade de *Cx pipiens* exposés aux HES de *O. basilicum*. Aussi, une diminution de taux des protéines est enregistré chez les larves de *Culiseta longiareolata* exposé aux novaluron (**Bouaziz et al.,2011**), et aux halofenozide (**Tine- Djebbar et Soltani, 2008**). Plusieurs travaux signalent une diminution des protéines chez différentes espèces après l'exposition à différentes molécules, on peut citer celle de **Tine- Djebbar, (2009)**, qui étudie les effets de methoxyfenozone et l'halofenozide chez deux espèces de moustiques: *Cx pipiens* et *Cs longiareolata*; et celle de **Kannupandi et al., (2001)**, sur le phosphamidon chez les larves de *Sesarma brockii*.

Le traitement par les pesticides organochlorés provoque une baisse de taux des protéines totales chez *Metapenaeus monoceros* (Fabricius) (**Suryavanshi et al.,2009**), aussi, l'exposition des larves *Spodoptera ittoralis* à un agoniste d'ecdysone non stéroïdien, RH-5849, peut diminuer cette métabolite (**Smaghe et al., 1992**).

Conclusion générale

Conclusion générale

Ce travail, nous a permis d'évaluer les effets des HES extraites de la plante *E. globulus* sur la toxicité, le taux des protéines et du glutathion et sur l'activité enzymatique spécifique d'une enzyme de détoxification, la catalase, chez une espèce de moustiques *Culex pipiens* pendant 24h, 48h et 72 heures de traitement.

L'extraction des huiles essentielles de la plante étudié se fait par un hydrodistillateur Clevenger ; le rendement en huile essentielle est égal à 2.32 ± 0.47 %.

L'application des huiles essentielles extraites sur les larves de *Cx pipiens*, a permis d'établir la concentration sous-létale, CL25.

L'évaluation des biomarqueurs indique que les HES d'*E. globulus* semblent être toxiques puisqu'elle capable de diminuer le taux de GSH de manière significative et d'augmenter l'activité spécifique de catalase.

De plus, Ces huiles induisent une augmentation de taux des protéines totaux à l'avenir, il serait intéressant de compléter ces résultats par une analyse d'autres métabolites comme les lipides et les glucides, et le dosage d'autres enzymes du système de détoxification (GST, GPx). Aussi, le pouvoir neurotoxique de ces huiles doit être étudié.

Références bibliographiques

A

1. Abdellah F., Mohamed F. & Abdelaziz C.,2002. Effet de l'hybridation interspécifique sur la teneur et la composition chimique des huiles essentielles d'eucalyptus cultivés au Maroc, *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2002 6 (3), 163–169
2. Alaoui Slimani N., Jouid N., Benhoussa A., Hajji K. (1999). Typologie des habitats d'Anopheles dans une zone urbaine (DipteraCulicidae). *Entomologiste* 55(5), 181–190p.]
3. Anonym <http://www.lachimie.fr/materiel/extraction.php>.
4. Anupam G, Nandita C, Goutam C. (2012) Plant extracts as potential mosquitolarvicide. *Indian J Med Res.* 135: 581– 598.Australia third edition.Bloomings. Melbourne.
5. Aouati A. 2016. Étude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). Thèse de doctorat. En entomologie 150 pages.
6. Aribi, N. et Lakbar, C. 2001. Effets du pyriproxifène sur certains aspects physiologiques du développement de *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae). *Revue synthèse.*, 9 : 78 -94.

B

7. Badiou A., 2007. Caractérisation cinétique et moléculaire du biomarqueur acétylcholinestérase chez l'abeille, *Apis mellifera*. Thèse de Doctorat, Université d'Avignon et des Pays de Vaucluse, FRA.
8. Bastien F., 2008. Effet larvicide des Huiles essentielles sur *Stomoxys calcitrans* à la Réunion. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat. Université Paul-Sabatier de Toulouse. 78 p.
9. Berghiche H., Benradia H et Soltani N., 2015. Evaluation de l'impact d'un inhibiteur de la synthèse de la chitine, le novaluron, sur l'hormone de mue et la composition biochimique des cuticules chez *Palaemon adspersus*. 45e congrès du Groupe Français des Pesticides, 27-29 mai 2015, Versailles. 10pages.
10. Benayad N., 2008a. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines : moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université Mohammed V - Agdal. Rabat. 63p.) a)
11. Benayad N., 2008b. Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales Marocaines : Moyen de lutte efficace contre les denrées alimentaires stockées. Faculté des sciences de Rabat, projet de recherche, 59p.) b)
12. BENCHEQROUN Hassania K. (1,2), Mohamed GHANMI (1), Badr SATRANI (1), Abderrahman Aafi (1) et Abdelaziz CHAOUCH , Activité antimicrobienne des huiles essentielles d'*Artemisia mesatlantica*, plante endémique du Maroc. Antimicrobial activity of the essential oil of an endemic plant in Morocco, *Artemisia mesatlantica*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*, Vol. 81, 2012 p. 4 - 21
13. Bendali F., Djebbar F. & 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.

14. Ben khedim kh., Djedouani H., 2017. Etude de l'effet larvicide, pupicide et adulticide d'une plante du genre Citrus à l'égard d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata*. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi-Tebessa. P: 23-31.
15. BERRAH, F., & AHCENE, H. (2016). Etude préliminaire de l'effet larvicide d'une plante du genre Rosmarinus à l'égard de *Culex pipiens* (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi Tebessa).
16. Benkhedim-Aouati, A. (2009). Inventaire des culicidae des zones humides et des forêts de chêne-liège. Caractérisation systématique par les profils des hydrocarbures cuticulaires. Essais de lutte (Doctoral dissertation, Annaba).
17. Bey–Ould Si Said, Z., & Boulekbache-Makhlouf, L. E. (2014). Activités biologiques des huiles essentielles des feuilles et du fruit d'une plante médicinale *Eucalyptus globulus*.
18. BHIR, M., & GUENNOUNI, M. (2020). Effet insecticide des extraits des huiles essentielles de l'*Eucalyptus globulus* et *Citrullus colocynthis* sur la pyrale des dattes (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller).
19. Binet P. & Brunel J. P., 2000. Physiologie Végétale. Tome II. Edit., Doin. p54.
20. Blaise, M. (2011). <http://aramel.free.fr/INSECTES15-3.shtml>.
21. Bouabida H., 2014, Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiromesifène sur la reproduction de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*: aspects écologique et biochimique. Thèse de doctorat spécialité Biologie animale. 172 pages.
22. Bouaziz A., Boudjelida H. et Soltani N..2011. Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata* *Annals of Biological Research*, 2 (3) :134-142
23. Boutaleb k. et Boussida K. 2016. Effet des huiles essentielles de l'*Eucalyptus globulus* sur les biomarqueurs à l'égard d'une espèce de moustique *Culex pipiens*. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi-Tebessa.
24. Boland D.J., Brophy J.J., & House A.P.N., 1991, *Eucalyptus Leaf Oils*, ISBN 0-909605-69-6.
25. Boudershem A., 2015. Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*) Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master académique Université ECHAHID HAMMA LAKHDAR D'EL-OUED ;p45 .
26. Bouguerra A., 2012. Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des Graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur Alimentaire. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine, 120 p.
27. 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 en entomologie (option ; application agronomique et médicale). 191 pages.

28. Bouzidi O., Ziani R., 2015. Etude de l'impact des huiles essentielles d'une plante larvicide, l'*Ocimum basilicum* sur une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* : aspect morphométrique et biochimique. Mémoire du diplôme de Master. Université des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie-Tébessa. 28p.
29. Braquenier J-B., 2009. Etude de la toxicité développementale d'insecticides organophosphorés : Analyse comportementale de la souris CD1. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Liege. 217 p.
30. Brooker M. I. H. & Kleinig D.A., 2006. Field guide to Eucalyptus. Vol.1. South-eastern.
31. Bruhnes J., Rhaim A., Geoffroy B., Angel G. & Hervy J. P. ,1999. Les Culicidae de l'Afrique méditerranéenne. Logiciel de l'institut de recherche et de développement de Montpellier (France).
32. Bruneton J., 1993. Pharmacognosie et phytochimie, plantes médicinales. Ed : Tec & Doc.Lavoisier. Paris. 915p.
33. Briegl, H. 1985. Mosquito reproduction, incomplete utilization of the blood meal rotein for oogenesis. J. Insect. Physiol., 31 : 15-21.
34. Brown P.J., Long S.M., Spurgeon D.J., Svendsen C., Hankard P.K. 2004. Toxicological and biochemical responses of the earthworm *Lumbricus rubellus* to pyrene, a noncarcinogenic polycyclic aromatic hydrocarbon. Chemosphere. 57 : 1675-1681.

 _C

35. Cassida, J. et Quistad, B. 1998. Golden age of insecticide research : past present or future. Annu Rev. Entomol., 43 : 1-16.
36. Cavalcanti E.S.B., Morais S.M., Lima M.A. & Santana E.W.P., 2004, Larvicidal activity of essential oils from Brazilian plants against *Aedes aegypti*. L. Mem Inst Oswaldo Cruz. 99, 541- 544.
37. Chettat, H, 2013, Etude insecticide des huiles essentielles de *Mentha piperita* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiorelata*. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi-Tebessa. 61 p.
38. Chaker E., 2010 - Thèse sur: Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées, l'Institut National
39. Chennoufi R., Morizur J.P., Richard H. & Sandret F., 1980. Étude des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* du Maroc. (Feuilles de jeunesse et feuilles adultes). Riv. Ital. E.P.P.O.S. 62 (7), 353-357.
40. Charnot, A. (1945). La toxicologie au Maroc. Mémoire de la Soc. Sci. Nat. Du Maroc, Rabat, n° XLVII. p 826.
41. Coeurdassier M., 2001. Utilisation de mollusques gastéropodes pulmonés terrestres (*Helix aspersa*) et aquatiques (*Lymnia stagnalis* et *Lymnia palustris*) comme indicateurs de pollution par les éléments métalliques et les xénobiotiques. Thèse de doctorat, université de franche comté, France.281pages.
42. Colless D. H. & Chellapah W. T., 1960. Effects of body weight and size of blood-meal upon egg production in *Aedes aegypti* (Linnaeus) (Diptera: Culicidae). Ann.

Trop.Med. Parasitol. Dec. 54:475 - 482.

43. Cossu, C., Doyotte, A., Jacquin, M. C., Babut, M., Exinger, A. & Vasseur, P. 1997. Glutathione reductase, selenium-dependent glutathione peroxidase, glutathione levels, and lipid peroxidation in freshwater bivalves, *Unio tumidus*, as biomarkers of aquatic contamination in field studies. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 38 : 122-131
44. Claiborne, A. (1985) Catalase activity. In : Greenwald RA (eds) *Handbook of Methods for Oxygen Radical Research* Boca Raton, FL: CRC 283–284 p.

D

45. Daizy R. B., Harminder P. S., Ravinder K. K. & Shalinder K. ,2008. Eucalyptus essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 2565 :(12), 2166-2174.
46. Degaychia F., Sehailia M., 2017. Etude de l'effet des huiles essentielles, d'*Eucalyptus globulus* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata* : Toxicité et morphométrie Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi-Tebessa. P : 19-44
47. Delille A.L., 2010. les plantes medicinales d'Algerie. 2eme edition .Berti edition.p239 Doc., Paris, p 488, 489, 490, 491, 510, 533, 536, 537, 538.
48. Delloum et A , Rami.I (2016)Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide, *Thymus vulgaris* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Toxicité et biomarqueurs. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi- Tebessa. 24 p.
49. Domingues, I. Agra, AR. Monaghan, K. Soares, AM. Nogueira, AJ.(2010).Cholinesterase and glutathione-S-transferase activities in fresh water invertebrates as biomarkers to assess pesticide contamination. *Environ Toxicol Chem*; 29: 5-18. du Val, laboratory of Environmental and Applied chemistry, Faculty of Science,
50. 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. Under review. (a)
51. 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. *South African Journal of Botany* 113 (2017) 362–369. (b)

E

52. Edwards C.A. & Fisher, S.W., 1991. The use of cholinesterase measurements in assessing the impacts of pesticides on terrestrial and aquatic invertebrates. In: Mineau P. (ed). *Cholinesterase inhibiting insecticides*. Elsevier, Amsterdam. pp. 255 – 275.
53. El-Akhal, F., Greche, H., Ouazzani Chahdi F., Guemmouh R., El Ouali endémique du Maroc. *Bulletin de la société Royale des sciences de liège*, 81 : 4-21.essential oil as a natural pesticide. *Forest Ecology and Management*, 2565 :(12), 2166.

F

54. Faraj, C., Elkohli, M., & Lyagoubi, M. (2006). Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. Bulletin de la Société de pathologie exotique, 99(2), 119-121.
55. Falatico, P. (2011). <http://aramel.free.fr/INSECTES40bis-1.shtml>.
56. Foudi C. Y., 1991. Etude comparative des huiles essentielles algériennes d'*Eucalyptus globulus* la bill. Et camaldulensis. These magister. U.S.T.H.B., Alger, 159p.

G

57. Ghosh A., Chowdhury N., Chandra G., 2012. Plant extracts as potential 22.Mosquito larvicides. Indian J Med Res .135: 581-98.
58. Giovanni B., 2016.Ethnobotanical knowledge on botanical repellents employed in the African region against mosquito vectors. Experimental Parasitology Volume 167, August 2016, 103-108.
59. Gouasmia, H., Bouchagoura, M. 2013. Etude insecticide des huiles essentielles de *Lavendula dentata* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi-Tebessa. 68 p.
60. Gourmelon A. and Ahtiainen J. 2007. Developing test guidelines on invertebrate development and reproduction for the assessment of chemicals, including potential endocrine active substances- The OECD perspective. Ecotoxicol., 16 :161-167 p.]
61. Gomes B, Sousa CA, Novo MT, Freitas FB, Alves R, Côte-Real AR, Salgueiro P, Donnelly MJ, Almeida AP, Pinto J (2009). Asymmetric introgression between sympatric molestus and pipiens forms of *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) in the Comporta region, Portugal. BMC Evol Biol 9 : 262 p.
62. Grimstad P.R. & Haramis L.D., 1984. *Aedes triseriatus* (Dipt: Culicidae) and La Crosse virus. III. Enhanced oral transmission by nutrition-deprived mosquitoes. J. Med. Ent.21: 249 – 256.
63. GRID, N., & HAMAI, A. (2018). Etude comparative de l'effet des extraits aqueux et des huiles essentielles de certaines plantes contre les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). (Doctoral dissertation, Université des Frères Mentouri Constantine).

H

64. Halliwell and Chirico S. 1993. Lipid peroxidation : its mechanism, measurement, and significance. The American journal of clinical nutrition. 57 : 715-724.
65. Haubruge, E. et Amichot, M. 1998. Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. France. Biotechnol. Agron. Soc. Environ., 2 (3): 161–174.
66. Hamaidia H., 2004. Inventaire et biodiversité des Culicidae (Diptera- Nematocera) dans la région de Souk-Ahras et de Tébessa (Algérie). Thèse de magistère université de Constantine Algérie.hormone. Gen. Comp. Endocrinol., 18 : 306-314.

Références bibliographiques

67. Hassanane, M. S. (2001). A genotoxic study of the citrllus colocynthis extract. Bulletin of the National Research Centre, 26(2), 223-35.
68. Hawley W. A., 1985. A high fecundity aedine; factors affecting egg production of the western tree hole mosquito *Aedes sierrensis* (Diptera: Culicidae). J. Med. Ent.22: 220 – 225.
69. Hien D.S., 1976. Biology of *Aedes aegypti* (L. 1762) and *Aedes albopictus* (Skuse, 1895) (Diptera: Culicidae). Acta. Parasitol. Pol.24: 37-55.
70. Hosoi T., 1954. Egg production in *Culex pipiens pallens* coquillet. I.V. Influence of breeding conditions on wing length, body weight and follicule production. J. Med. Sci. Biol., 7: 129-134.

J

71. Jolivet, P. (1980). Les insectes et l'homme. Insecte d'importance médicale.

K

72. Kannupandi, T., Vijayakaumar, G. & Soundarapandian, P. (2001). Impact of phosphamidon on total protein, carbohydrate and lipid contents during the larval development of *Sesarma brockii* de Man. Indian. J. Fish., 48(2) : 203-209.
73. Kemache, A., Meziani, H. 2015. Etude de l'effet des huiles essentielles d'*Ocimum basilicum* sur les biomarqueurs à l'égard de deux espèces de moustiques *Culiseta Longiareolata* et *Culex pipiens*. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi-Tebessa. 82 p.
74. Khamene, I. 2014. Etude de l'activité insecticide d'extrait de l'*Ocimum basilicum* à l'égard d'une espèce de moustique *Culex pipiens*, Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi-Tebessa. 43 p.
75. Khaled I., Dib D., 2015. Evaluation De L'Activité des Huiles Essentielles De l'*Eucalyptus globulus* A L'Egard D'Une Espèce De Moustique *Culex pipiens* : Toxicologie, Développement, Morphométrie et Biochimie Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi-Tebessa. p 61.
76. Kouider, S., & Attia, L. (2016). Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide, *Laurus nobilis* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens* : Toxicité, morphométrie, biochimie et biomarqueurs (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
77. Kouider S., Attia L., 2016. Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide, *Laurus nobilis* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens*: Toxicité, morphométrie, biochimie et biomarqueurs.
78. Krida, G., Diancourt, L., Bouattour, A., Rhim, A., Chermiti, B., & Failloux, A. B. (2011). Assessment of the risk of introduction to Tunisia of the Rift Valley fever virus by the mosquito *Culex pipiens*. Bulletin de la Société de pathologie exotique, 104, 250-259.

L

79. Lacey L. A. & Orr, B. K., 1994. The role of biological control of mosquitoes in integrated vector control. American journal of tropical Medecine and hygiene, 50 (6),

97 – 115.

80. Legros, P. (2010). <http://aramel.free.fr/INSECTES15-3.shtm>.
81. Livingstone D.R., Lemaire P., Matthews A., Peters L.D., Bucke D., Law R.J., 1993. Pro- oxidant, antioxidant and 7-ethoxyresorufin O-deethylase (EROD) activity responses in liver of dab (*Limanda limanda*) exposed to sediment contaminated with hydrocarbons and other chemicals. *Marine Pollution Bulletin*. 26: 602-606.
82. Linné, C. V. (1788). *Systema naturae per regna tria naturae*. Humboldt-Universität zu Berlin.

M

83. Madaci, B., Merghem, R., Doumandji, B. et Soltani, N. 2008. Effet du *Nerium oleander*, laurier-rose, (Apocynacées) sur le taux des protéines, l'activité de l'AchE et les mouvements des vers blancs rhizotrogini, (Coleoptera : Scarabaeidae). *Science et Technologie.*, 27 : 73 -78.
84. Massaad C.A. et Klann E. 2011. Reactive oxygen species in the regulation of synaptic plasticity and memory; *Antioxid. Redox Signal* ; 14 ; 2013-2054.
85. Ma Fe Andres Marta E., Sosa,Hugo G., Lancelle Carlos E., Tonn Azucena Gonzalez-Coloma . Insecticidal and nematicidal essential oils from Argentinean *Eupatorium* and *Baccharis* spp. *Biochemical Systematics and Ecology*, Volume 43, August 2012, Pages 132-138
86. Marc J. Klowden, Chinchang Yeh, (1990). Effects of male accessory gland substances on the pre-oviposition behaviour of *Aedes aegyptimosquitoes*. *Journal of Insect Physiology*, Volume 36, Issue 11, 1990, Pages 799-803
87. Mehani,M. & Segni, L. (2014). Effet antimicrobien des huiles essentielles de la plante *Eucalyptus camadulensis* sur certaines bacteries pathogene , *Annales des Sciences et Technologie* Vol. 6, N° 1, Mai 2014.
88. Metro A., 1970. Les eucalyptus dans le monde méditerranéen. Ed.masson et cie.Paris. p513.
89. Meister, A. et Anderson, M.E. (1983). Glutathion. *Ann. Rev. Biochem.*, 52 :711 – 760.
90. MEKKI, E. H., & MESSAOUDI, O. (2020). Evaluation de l'activité des huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus* à l'égard d'une espèce de moustique *Culex pipiens* : Morphométrie (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
91. Métro, A. (1970). Les Eucalyptus dans le monde méditerranéen. *Revue forestière française*, 22(3), 339-354.
92. Moulinier, C. (2003). Parasitologie et mycologie médicales : éléments de morphologie et de biologie. Editions Médicales Internationales.
93. Moutailler, S., Krida, G., Schaffner, F., Vazeille, M., & Failloux, A. B. (2008). Potential vectors of Rift Valley fever virus in the Mediterranean region. *Vector-borne and zoonotic Diseases*, 8(6), 749-754.
94. Morin D., Zini R., Tillemont S. P. et Burdeau A. 2004. Prevention of cell damage in

ischemic-reperfusion mitochondrial respiratory chain as a pharmacological target. *Letters in drugs and Discovery*. 1 : 279-284.

- 95.** Mousbahi A. et Halaimia N. 2016. Evaluation de deux plantes larvicides sur les biomarqueurs chez deux espèces de moustique *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*. Mémoire de master.

N

- 96.** Ngakegni-Limbili, A. C. (2012). Etude de synergie des effets chimiques et biologiques des lipides de réserve et des huiles essentielles des fruits et graines saisonniers de la sous-région Afrique Centrale (Doctoral dissertation).
- 97.** Nuttall I., 1997. Web pages, Division of Control of Tropical Diseases. World Health Organization, Geneva, Switzerland.

O

- 98.** O.M.S., 2007. Paludisme : lutte anti vectorielle et protection individuelle : rapport d'un groupe d'étude de l'OMS. OMS, Série de rapports techniques; 93.6. Genève, Suisse.
- 99.** Ozmen, N., Sener, S., Mete, A. & Kucukbay, H. (1999). In vitro and In vivo acetylcholinesterase inhibition effect of new class of organophosphorus compounds. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18: 241- 246.

P

- 100.** Padrini F. & Lucheroni M.T., 1996. le grande livre des huiles essentielles .Ed de Vecchi. Page 115.
- 101.** Paul R., 2009. Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français .EID méditerranée .p: (1-11).
- 102.** Patrick G. T., Walker Jamie T. Griffin Neil M. Ferguson Azra C. Ghani, 2016. Estimating the most efficient allocation of interventions to achieve reductions in *Plasmodium falciparum* malaria burden and transmission in Africa: a modelling study. *The Lancet Global Health*, Volume 4, Issue 7, July 2016, Pages e474-e484
- 103.** Patrick A.N, Philippe B, Francois T, Eric-Moise B. F, Henri F, 2012. Composition chimique et effets insecticides des huiles essentielles des feuilles fraîches d'*Ocimum canum* Sims et d'*Ocimum basilicum* L. sur les adultes d'anophèles funestes, vecteur du paludisme au Cameroun.
- 104.** PETERSON E.L. (1980) -Alimit cycle interprétation of a mosquito circadian oscillator .*J. theor. Biol.* 84 : (281-310).
- 105.** Pellerin-Massicotte J., 1994. Oxidative processes as indicators of chemical stress in marine bivalves. *Journal of Aquatic Ecosystems Health*. 3 : 101-111.
- 106.** Philogène, B. J.R., Regrnault, R. C. & Vincent, C. (2008). Produits phytosanitaires insecticides d'origine végétale : promesses d'hier et d'aujourd'hui. In plante camaldulensis sur certaines bactéries pathogène, Vol.6, N° 1.

-R-

- 107.** Rahman K. 2007. Studies on free radicals, antioxydants, and cofactors, *Clinical*

Interventions in Aging, vol. 02, no. 02, 219-236.

- 108.**Reusken, C., De Vries, A., Ceelen, E., Beeuwkes, J., & Scholte, E. J. (2011). A study of the circulation of West Nile virus, Sindbis virus, Batai virus and Usutu virus in mosquitoes in a potential high-risk area for arbovirus circulation in the Netherlands, "De Oostvaardersplassen.". *Eur Mosq Bull*, 29, 66-81.
- 109.**Resseguier, P. (2011). Contribution à l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens* (Doctoral dissertation).
- 110.**Rodriguez-Ortega M.J., Grosvik B.E., Rodriguezariza A., Goksoyr A. & Lopez-Barea J., 2003. Changes in protein expression profiles in bivalve molluscs (*Chamaeleagallina*) exposed to four model environmental pollutants. *Proteomics*, 3: 1535–1543p.
- 111.**Rodriguez-Ortega M.J., Grosvik B.E., Rodriguezariza A., Goksoyr A. and Lopez-Barea J. 2003. Changes in protein expression profiles in bivalve molluscs (*Chamaeleagallina*) exposed to four model

-S-

- 112.**Sahbi F., Aouni M., 2015. Impact des huiles essentielles de *Lavandula dentata* sur la biochimie, la morphométrie chez une espèce de moustique *Culex pipiens* Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master Université Larbi Tébessi-Tebessa.
- 113.**Said Z., Rachid H., Mohamed Ch., Amin L., Mounir Hassani Z., 2015. Effect of gamma irradiation on chemical composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Thymus vulgaris* and *Mentha pulegium* essential oils. *Radiation Physics and Chemistry*, Volume 115, October 2015, Pages 6-11.
- 114.**Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Llaique, H., Villalobos, M., Smeriglio, A., Trombetta, D., Ezzat, S., Salem, M.A., Zayed, A., Salgado Castillo, C.M., Emamzadeh Yazdi, S., Sen, S., Acharya, K., Sharopov, F. et Martins, N. (2019). Insights into *Eucalyptus* genus chemical constituents, biological activities and health-promoting effects. *Journal Science Direct. Trends in Food Science & Technology*, Vol n°91. Edition Elsevier. P : 609-624. (a)
- 115.**Savage, H., & Miller, B. (1995). HOUSE MOSQUITOES OF THE USA, CULEXPIPENS COMPLEX.
- 116.**Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hervy, J. P., Rhaïem, A., & Brunhes, J. (2001). Les moustiques d'Europe : logiciel d'identification et d'enseignement= The mosquitoes of Europe : an identification and training programme. IRD Editions & EID Méditerranée : Montpellier, France.
- 117.**Soltani, N., Rehim, N., Beldi, H., & Bendali, F. (1999). Activite du triflumuron sur *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) et impacts sur deux espèces larvivores non visées. In *Annales de la Société entomologique de France* (Vol. 35, pp. 502-508).
- 118.**Sifi, K. 2009. Biosurveillance de la qualité des eaux du Golf d'Annaba : croissance, composition biochimique et dosage des biomarqueurs du stress environnementale chez *Donax trunculus* (Mollusque : Bivalve). Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Annaba. 229 pages.

119. Smagghe, G. et Degheele, D. 1992. Effects of RH-5849, the first non steroidal ecdysteroid agonist on larvae of *Spodoptera littoralis* (Boisd) (Lepidoptera: Noctuidae). *Arch. Insect. Biochem. Physiol.*, 21 : 119 - 128.
120. Soltani N., et Rehimi N., Beldi H. & Bendali F., 1999. Activité du triflumuron sur *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) et impact sur deux espèces larvivoires non visées. *Ann. Soc. Entomol. Fr. (N.S.)*, 35 : 502 – 508.
121. Sukumar K., Perich M.J., Boobar L.R., 1991. Botanical derivatives in mosquito control: a review. *J Am Mosq Control Assoc.*, 7: 210-37.
122. Suryavanshi, U., Sreepada, R.A., Ansari, Z.A., Subhanchi, N et Shahin, B. 2009. A study on biochemical changes in the penaeid shrimp, *Metapenaeus monoceros* (Fabricius) following exposure to sublethal doses of organochlorine pesticide (endosulfan). *Chemosphere.*, 77(11) : 1540-1550.
123. Svoboda K. P. & Hampson J. B., 1999. Bioactivity of essential oils of selected temperate aromatic plants: antibacterial, antioxidant, anti inflammatory and other related pharmacological activities. *Aromatopia*. 35:50–54

-T-

124. Tapondjoua A.L., Adlerb C., Fontemc D. A., Boudaa H., Reichmuthb C., 2004. (Comparative potential of powders and essential oils from leaves of *Clausena anisata* and *Eucalyptus saligna* to protect stored grains from attack by *Callosobruchus maculatus* and *C. chinensis* (Coleoptera, Bruchidae) Integrated Protection of Stored Products IOBC Bulletin/wprs Vol. 27 (9) 2004, pp. 117-125.
125. Tchoumboungang F., Dongmo P. M. J., Sameza M.L., Mbanjo E.G. N., Fotso G.B.T., Zollo P.H.A. et Menut C. 2009. Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2009 13(1), 77-84.
126. Thenmozhi C., Vignesh V., Thirumurugan R. et Arun, S. 2011. Impacts of malathion on mortality and biochemical changes of freshwater fish *Labeo rohita*. *Iran. J. Environ. Health. Sci. Eng.*, 8 (4) : 387-391.
127. Timmermann S.E. & Briegel H., 1998. Molting and metamorphosis in mosquito larvae: a morphometric analysis. *Mitt. Schweiz. Entomol. Ges.*, 71 : 373-387..
128. Tine-Djebbar F., 2009. Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide, méthoxyfenozide) à l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipien* et *Culiseta longiareolata*: toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université Badji Mokhtar de Annaba. 168 p. Université de Tébessa. p : 28-32.
129. Tine-Djebbar F et Soltani N. 2008. Activité biologique d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue sur *Culiseta longiareolata* : analyses morphométriques, biochimique et énergétique. *Revue Synthèse* N° 18. 23-34.
130. Tine-Djebbar F. 2009. Bioécologie des moustiques de la région de Tébessa et évaluation de deux régulateurs de croissance (halofenozide, méthoxyfenozide) à

l'égard de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* : toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université Badji Mokhtar de Annaba. 168p

131. Trari, B., Dakki, M., Himmi, O., & El Agbani, M. A. (2002). Les moustiques (Diptera Culicidae) du Maroc. Revue bibliographique (1916-2001) et inventaire des espèces. Bull. Soc. Pathol. Exot, 95(4), 329-334.

-V-

132. Van den Heuvel M. J., 1963. The effect of rearing temperature on the wing length, thorax length, leg length and ovariole number of the adult mosquito, *Aedes aegypti* (L.). Trans. R. Entomol. Soc. Lond. 115:197-216.
133. Van der Oost, R., Beyer, J. & Vermeulen, N.P.E. (2003). Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: a review. Environ. Toxicol. Pharmacol., 13 : 57 - 149.
134. Villeneuve F. & Desire Ch., 1965. Zoologie bordas. 257-268
135. Virmani O. P., & Datta S. C., 1967. Oil of eucalyptus citriodora. Perfumery essential oil. Rec. 58, 851-858.

-W-

136. WHO, I.P.C.S. (1993). Environmental Health Criteria 155. Biomarkers and risk assessment: concepts and principles. IPCS, World Health Organization, Geneva
137. Wichtl, M. et Anton, R. (2003). Plantes thérapeutiques. 2ème édition. Edition Tec & Doc, Edition médicales internationales. Lavoisier.
138. Wigglesworth, 1972. The principles of Insect physiology. Seventh Edition. Chapman and Hall, 827p.
139. Wilson J.D., Morris A.J., Arroyo B.E., Clark S.C. and Bradbury R.B. 1999. A review of the abundance and diversity of invertebrate and plant foods of granivorous birds in northern Europe in relation to agricultural change. Agric. Ecosyst. Environ. 75:13-30p.]
140. Winston G.W. 1991. Oxidants and antioxidants in aquatic animals. Comparative biochemistry and physiology 100 C: 173-176.

-Z-

141. Zhang X., Zhang J.Z., Park Y. & Zhu K.Y., 2012. Identification and characterization of two chitin synthase genes in African malaria mosquito, *Anopheles gambiae*. Insect Biochem. Mol. Biol., 42: 674-682p.
142. Zhang J.Z., Yang M.L., Zhu K.Y., Xuan T., Liu X.J., Guo Y.P. & Ma E.B., 2016. Mechanisms of organophosphate resistance in a field population of oriental migratory locust, *Locusta migratoria manilensis* (Meyen). Arch. Insect Biochem. Physiol., 71(1): 3-15.
143. Zrira Saadi a. Fatiha E. & Bachir B., 1994. Huiles essentielles de six espèces xérophyles d'Eucalyptus: effet du milieu sur les rendements et la composition chimique, Actes Inst. Agron. Veto (Maroc) 1994, Vol. 14 (1): 5 - 9.