



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de 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 (SNV)

Filière: Sciences Biologiques

Option: Ecophysiologie Animale

Thème:

**Efficacité des huiles essentielles extraites d'une plante médicinale,
Laurusnobilis à l'égard d'une espèce de moustique.**

Présenté par:

REZKALLAH OUMHANI.

AMRANI ZINEB

Devant le jury:

Dr. TINE Samir

Université de Tébessa

Président

Pr. TINE-DJEBBAR Fouzia

Université de Tébessa

Promoteur

Dr. BOUZERAA Hayette

Université de Tébessa

Examineur

Melle. BOUZIDI Oulfa

Université de Tébessa

Membre invité

Date de soutenance : Le 31 Mai 2018

Année Universitaire : 2018 /2019

Note : /20

Remerciements

J'exprime tous mes remerciements à Monsieur Samir TINE, Maître de conférences (Université Larbi Tébessi, Tébessa) pour m'avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Ma gratitude et ma reconnaissance s'adresse à Mme Fouzia TINE-DJEBBAR ma Directrice de thèse (Professeur au Département des êtres vivants, Université Larbi Tébessi, Tébessa) pour avoir accepté de diriger mes recherches. Je la remercie pour sa patience, sa disponibilité permanente et pour les conseils avisés qui m'ont permis de mener à bien ce travail.

Je remercie infiniment Melle Hayette BOUZERAA, Maître de conférences (Université Larbi Tébessi, Tébessa), pour m'avoir fait l'honneur d'évaluer ce travail et d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Mes plus vifs remerciements et toute ma considération à Melle Oulfa BOUZIDI (Doctorante au Département des êtres vivants, Université Larbi Tébessi, Tébessa) qui a bien voulu codiriger ce travail et de me faire l'honneur d'assister à ce jury.

Enfin, à toute l'équipe de Biologie Animale, je tiens à remercier tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

Merci 

Dédicace

À Nos parents

Nos familles

Et Nos amies

Merci beaucoup à toutes et à tous.



ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تجريب اثر الزيوت الأساسية المستخلصة من نبات الرند *Laurus nobilis* على نوع من البعوض الأكثر انتشارا في ولاية تبسة *Culiséta longiareolata* وتم تحديد العديد من المظاهر:

المظهر القياسي: الكثير من الجوانب القياسية أخذت بعين الاعتبار : عرض الصدر الوزن و حجم الجسم على الطور اليرقي الرابع للبعوض ، تظهر تحليل البيانات أن نبات الرند يسبب انخفاضا في هذه المعايير مقارنة مع الشواهد.

المظهر البيوكيميائي: صممت التجربة لتحديد تأثير نبات الرند على محتوى البروتينات اللبيدات و الكربوهيدرات و أظهرت النتائج انخفاض في نسبة البروتين مقارنة بالشواهد.

الجانب الإنزيمي: النتائج المحصل عليها تبين تغييرات في النشاط الإنزيمي بعد المعالجة بتركيز مختلفة خلال عدة ازمدة 24 ، 48 ، و 72 ساعة. حيث ان هذه المادة أدت إلى انخفاض في كمية ال GSH و النشاط الإنزيمي ل GST

الكلمات المفتاحية :

Laurus nobilis، المظهر القياسي، المكونات البيوكيميائية، الزيوت الأساسية، *Culiséta longiareolata*

Abstract

This study aims to evaluate the effect of the essential oil of *Laurusnobilis* against *Culisetalongiareolata*, the most abundant mosquito in Tébessa area, several aspects were determined:

Toxicological aspect: Allowed to establish lethal concentrations in fourth instar larvae. The essential oils of *Laurusnobilis* show toxicity to larvae 4 of *Culisetalongiareolata* at different periods after treatment with a dose-response relationship.

Morphometric aspect: several parameters morphometric were considered: body weight, body volume and the width of the thorax of the fourth instar larvae. The analysis of data shows that the essential oil of *Laurusnobilis* cause a reduction in these parameters compared to controls.

Biochemical aspect: the biochemical essay aims to determine the effect of essential oil of *L. nobilis* in the proteins, carbohydrates and lipids content. The results show a decrease in proteins in the treated series compared to control series at different periods (24, 48 and 72 hours).

Biomarker aspect: series of experiments evaluated the effects of essential oils in enzymatic (GSTs) and non-enzymatic (GSH) biomarkers in a mosquito species, *Culisetalongiareolata* at 24, 48 and 72 hours. Treatment resulted in an increased specific activity of GSTs and decreased glutathione levels.

Keywords: *Culisetalongiareolata*, *Laurusnobilis*, Essential oil, Morphometric aspect, biochemical aspect, Biomarkers..

Résumé

Cette étude a pour but d'évaluer l'effet des huiles essentielles de *Laurusnobilis* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata*, la plus abondante dans la région de Tébessa. Plusieurs aspects ont été déterminés :

Aspect toxicologique: a permis d'établir les concentrations létales chez les larves du quatrième stade. Les huiles essentielles de *Laurusnobilis* montrent une toxicité à l'égard des larves 4 de *Culiseta longiareolata* avec une relation dose-réponse.

Aspect morphométrique : plusieurs paramètres morphométriques ont été considérés : le poids, le volume corporel et la largeur du thorax des larves 4 au cours de la période testée. L'analyse des données montre que les HEs extraites de *Laurusnobilis* provoquent une réduction de ces paramètres par rapport aux témoins.

Aspect biochimique : le dosage biochimique a pour but de déterminer l'effet des HEs de *Laurusnobilis* sur le contenu en protéines, glucides et lipides. Les résultats indiquent une baisse de ces constituants biochimiques chez les séries traitées comparativement aux séries témoins.

Biomarqueurs: Les huiles essentielles extraites de *Laurusnobilis* provoquent une diminution du taux de GSH et augmentation de l'activité spécifique des GSTs.

Mots clés : *Culiseta longiareolata*, *Laurusnobilis*, huiles essentielles, Morphométrie, Biochimie, biomarqueurs.

Liste des figures

<u>Figures</u>	<u>Titres</u>	<u>Pages</u>
Figure 1.	Dents du peigne siphonal (flèche) de <i>Cs longiareolata</i> (Gr X40) (Tine-Djebbar, 2009).	4
Figure 2.	Taches d'écailles sombres sur l'aile (flèche) de <i>Cs longiareolata</i> (Gr : X 60) (Tine-Djebbar, 2009).	4
Figure 3.	Trois Bandes blanches (flèche) de <i>Cs longiareolata</i> (Gr : X 40) (Tine-Djebbar, 2009).	5
Figure 4.	Lobe basal du gonocoxite (flèche) de <i>Cs longiareolata</i> (Gr : X 150) (Tine-Djebbar, 2009).	5
Figure 5.	Cycle de vie du moustique (Dris, 2018).	7
Figure 6.	Etapas d'élevage (photo personnelle).	8
Figure 7.	<i>Laurus nobilis</i> L. 1753.	9
Figure 8.	Montage de l'hydrodistillateur (photo personnelle, 2018).	10
Figure 9.	Extraction des glucides, protéines et lipides totaux (Shibko <i>et al.</i> , 1967).	12
Figure 10.	Extraction et dosage de glutathion S- transférases d'après (Habig <i>et al.</i> , 1974).	16
Figure 11.	Extraction et dosage du glutathion (GSH) d'après Weckberker & cory (1988).	18
Figure 12.	Effets des HEs de <i>L. naubilis</i> , appliquées sur les larves 4 de <i>Cs. longiareolata</i> : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.	20
Figure 13.	Effet des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur le poids corporel (mg) des larves 4 de <i>Cs longiareolata</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) (ns : différence non significative (p>0,05) ; * : différence significative (p<0,05)).	21
Figure 14.	Effet des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> (CL ₂₅ et CL ₅₀) sur la largeur du thorax (mm) des larves 4 chez <i>Cs longiareolata</i> à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) (ns: différence non significative (p>0,05) ; * : différence significative (p<0,05), ** : différence hautement significative (p<0,01)).	23

- Figure 15.** Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le volume corporel (mm³) des larves 4 chez *Cs longiareolata* à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) (ns: différence non significative (p>0,05) ; **: différence hautement significative (p<0,01) ; *** : différence très hautement significative (p<0,001)). 24
- Figure 16.** Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en protéines totales chez les larves 4 de *Cs longiareolata* à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) (ns : différence non significative (p>0,05) ; * : différence significative (p<0,05) ; ** : différence hautement significative (p<0,01)). 26
- Figure 17.** Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en lipides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de *Cs longiareolata* à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) (ns: différence non significative (p>0,05)) 26
- Figure 18.** Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en glucides totaux (µg/individu) chez les larves 4 de *Cs longiareolata* à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) (ns: différence non significative (p>0,05)). 27
- Figure 19.** Effets des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀), sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéine) chez les larves 4 de *Cs longiareolata* à différentes périodes (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) (ns : différence non significative (p>0,05), *: différence significative (p>0,05) ; **: Différence hautement significative (p<0,01)). 28
- Figure 20.** Effets des HEs (CL₂₅ et CL₅₀) extraites de *Laurus nobilis* sur le taux de glutathion (nM/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cs longiareolata* (m ± SEM, n= 3 répétitions comportant chacune 20 individus) (ns : différence non significative (p>0,05) ; *: différence significative (p>0,05) ; **: différence hautement significative (p<0,01) ; *** : différence très hautement significative (p<0,001)). 31

Liste des tableaux

<u>Tableaux</u>	<u>Titres</u>	<u>Pages</u>
Tableau 1	La position systématique de <i>Cs longiareolata</i> (Aitken, 1954)	5
Tableau 2	La position systématique de <i>Laurus nobilis</i> L. 1753	9
Tableau 3	Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	13
Tableau 4	Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	13
Tableau 5	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	14
Tableau 6	Effet des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> (ppm) appliquées sur des larves du quatrième stade de <i>Cs longiareolata</i> , sur le taux de mortalité corrigée à différentes périodes après traitement ($m \pm SEM$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus).	20
Tableau 7	Efficacité des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> (ppm) appliquées sur des larves du quatrième stade de <i>Cs longiareolata</i> à différentes périodes: analyse des probits.	21
Tableau 8	Effet des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg) des larves 4 de <i>Cs longiareolata</i> à différentes périodes ($m \pm SEM$, $n= 3$ répétitions comportant chacune 20 individus) (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	22
Tableau 9	. Effet des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> (CL25 et CL50) sur la largeur du thorax (mm) des larves 4 de <i>Cs longiareolata</i> à différentes périodes ($m \pm SEM$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus) (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	23
Tableau 10	Effet des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> (CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm^3) des larves 4 de <i>Cs longiareolata</i> ($m \pm SEM$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).	25
Tableau 11	Effet des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en protéines totales (μg /individu) chez les larves 4 de <i>Cs ongiareolata</i> au cours de différentes périodes ($m \pm SEM$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus) (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).	26
Tableau 12	Effet des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en lipides totaux (μg /individu) chez les larves 4 de <i>Cs longiareolata</i> au cours de différentes périodes ($m \pm SEM$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus) (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres	27

majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

- Tableau 13** Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL25 et CL50) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves 4 de *Cs longiareolata* ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus) (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)). 28
- Tableau 14** Effet des HEs de *Laurus nobilis* (CL25 et CL50) sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéine) chez les larves 4 au cours de différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus) (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)). 29
- Tableau 15** Effet des HEs (CL25 et CL50) extraites de *Laurus nobilis* sur le taux de glutathion (nM/mg de protéines) chez les larves 4 de *Cs* au cours de différentes périodes ($m \pm \text{SEM}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus) (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)). 31

Sommaire

Remerciement	
Dédicace	
الملخص	
Résumé	
Abstract	
Liste des tableaux	
Liste des figures	

1. INTRODUCTION	1
2.MATERIEL ET METHODES	4
2.1. Presentation de l'espèce <i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954)	4
2.2. Cycle de development	5
2.3. Techniques d'élevage	7
2.4. Presentation de la plante, <i>Laurus nobilis</i> (Linné, 1753)	8
2.5. Collecte de la plante et extraction des huiles essentielles	9
2.6. Traitement et Tests de toxicité	10
2.7. Etude morphométrique	11
2.8. Extraction et dosage des metabolites	11
2.8.1. Dosage des protéines totales	13
2.8.2. Dosage des glucides totaux	13
2.8.3. Dosage des lipides totaux	14
2.9. Dosage des biomarqueurs	14
2.9.1. Dosage des glutathion S-transférases	14
2.9.2. Dosage du glutathion	16
2.10. Analyse statistique	18
3. RESULTATS	19
3.1. Rendement des huiles essentielles	19
3.2. Toxicité des H.E extraites de <i>Laurus nobilis</i> à l'égard des larves 4 de <i>Cs longiareolata</i>	19
3.3. Effet des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> sur la croissance pondérale de <i>Cs longiareolata</i>	20
3.4. Effets des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> sur la croissance linéaire de <i>Cs longiareolata</i>	22

3.4.1. Largeur du thorax	22
3.4.2. Volume corporel	23
3.5. Effets des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> sur la composition biochimique de <i>Cs longiareolata</i>	24
3.5.1. Contenu en protéines totales	25
3.5.2. Contenu en lipides totaux	26
3.5.3. Contenu en glucides totaux	27
3.6. Effet des HEs extraites de <i>Laurus nobilis</i> sur les biomarqueurs	29
3.6.1. Effet sur l'activité spécifique des GSTs	29
3.6.2. Effet sur le taux du glutathion	30
4. DISCUSSION	32
4.1. Rendement en huile essentielle	32
4.2. Toxicité des huiles essentielles extraites de <i>Laurus nobilis</i>	32
4.3. Effet des huiles essentielles sur la croissance	33
4.4. Effet sur la composition biochimique	34
4.5. Effet sur les biomarqueurs	36
4.5.1. Effet sur l'activité spécifique des GSTs	37
4.5.2. Effet sur le taux de glutathion GSH	38
CONCLUSION ET PERSPECTIVES	
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	

INTRODUCTION

Les Culicidae, appelés communément les moustiques, sont des insectes hématophages qui présentent une préoccupation majeure en termes de développement économique et de santé publique. Ils sont présents pratiquement dans tous les continents sauf l'antarctique, au niveau des gîtes d'eau stagnantes nécessaires pour leur développement et leur reproduction (Clement, 1999). En plus de leur nuisance, les moustiques sont des vecteurs actifs de plusieurs agents pathogènes tels que les protozoaires, les virus et les nématodes, transmettant à l'homme et aux animaux diverses maladies telles que le paludisme, la fièvre jaune, l'infection par le virus West-Nile et la filariose (Anupam *et al.*, 2012).

Dans les campagnes de lutte anti-moustique, les matières actives des insecticides utilisés appartiennent aux différentes familles telles que les organophosphorés, les pyréthrinoïdes, les organochlorés et les carbamates. Ces préparations, bien qu'elles se soient révélées très efficaces sur les moustiques culicidés, présentent plusieurs inconvénients. L'accumulation significative de matières actives dans les écosystèmes traités, aquatiques et terrestres est un problème de pollution (Barbouche *et al.*, 2001). Par ailleurs, les substances actives des produits utilisés présentent un large spectre d'action et n'épargnent pas les organismes non ciblés. A tous ces inconvénients, s'ajoute aussi un grand problème de développement de résistance aux insecticides chimiques chez les moustiques (Wondji *et al.*, 2009).

Pour assurer une meilleure intervention, tout en préservant au maximum le milieu naturel, de nouvelles méthodes préventives ainsi que de nouveaux produits sont constamment recherchés. Ainsi, pour contribuer à une gestion durable de l'environnement, la mise en place de nouvelles alternatives de contrôle des moustiques est d'avantage encouragée (Diakite, 2008).

L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides, est connue depuis longtemps. En effet, le pyrèthre, la nicotine et la roténone sont déjà connus comme agents de lutte contre les insectes (Crosby *et al.*, 1966). Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées (Grainge & Armed, 1988), dont 344 espèces ont prouvé leur efficacité anti-culicidienne (Ghosh *et al.*, 2012 ; Sukumar *et al.*, 1991). Les espèces de la famille des Lamiaceae, Rutaceae, Asteraceae, Meliaceae et Canellaceae sont les principales familles les plus prometteuses comme source de bio-insecticides (Benayad, 2008). Elles sont riches en composés phytochimiques tels que les alcaloïdes, les stéroïdes, les terpènes, les huiles essentielles et les composés phénoliques, efficaces contre les stades de développement des moustiques et biodégradables en produits non toxiques (Sutthanont *et al.*, 2010).

Les huiles essentielles représentent une piste d'avenir et les recherches sur ce sujet sont nombreuses. Toutefois, elles sont considérées comme moyens alternatifs pour le contrôle des moustiques puisqu'elles possèdent de nombreuses activités : larvicides (Ansari *et al.*, 1999 ; Amer & Mehlhorn, 2006 ; Kuppusamy & Murugan, 2008 ; Okigboet *al.*, 2010 ; Vigneshet *al.*, 2016), répulsives (Mihajilov-Krstevet *al.*, 2014 ; Pavela & Benelli, 2016 ; Tisgratog *et al.*, 2016), ovicides (Elumalaiet *al.*, 2010 ; Ramaret *al.*, 2014 ; Fokoet *al.*, 2016 ; Patricket *al.*, 2016), pupicides (Nasir *et al.*, 2015 ; Fokoet *al.*, 2016) et inhibiteurs de croissance (Sukumaret *al.*, 1991 ; Carvalho *et al.*, 2003 ; Cavalcantiet *al.*, 2004 ; Ansari *et al.*, 2005).

Laurusnobilis L. est une plante appartenant à la famille des Lauraceae, qui comprend 32 genres et environ 2500 espèces. La Turquie, l'Algérie et la France sont les centres commerciaux de production du laurier (Demiret *al.*, 2004). Cette plante riche en composés bioactifs possède un pouvoir toxique contre de nombreux ravageurs de cultures et de stocks (Chahalet *al.*, 2017).

Au cours des vingt dernières années, la faune Culicidienne d'Algérie a fait l'objet d'un grand nombre de travaux qui s'intéressent plus particulièrement à la systématique, la biochimie, la morphométrie, la lutte chimique et biologique (Lounaci, 2003 ; Boudjellidaet *al.*, 2005 ; 2008 ; Tine-Djebbar & Soltani, 2008 ; Bouazizet *al.*, 2011 ; Rehimiet *al.*, 2011 ; Lounaci & Doumandji, 2012 ; Tine-Djebbaret *al.*, 2011 ; 2012 a, b ; 2016 a, b, c, d ; Bendali-Saoudiet *al.*, 2013 ; Djeghaderet *al.*, 2013, 2018 ; 2014 ; Hamaidia, 2014 ; Bouabidaet *al.*, 2012, 2016, 2017 ; Aissaouiet *al.*, 2014 ; Aissaoui & Boudjelida, 2017 ; Oudainia, 2015 ; Bouguerraet *al.*, 2017 ; Driset *al.*, 2017a, b ; Guenezet *al.*, 2018).

Dans ce contexte, notre étude a été consacrée dans une première partie à l'évaluation du pouvoir larvicide des huiles essentielles extraites d'une plante aromatique, *Laurusnobilis* avec détermination des concentrations létales (CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀) à l'égard des larves du quatrième stade d'une espèce de moustique la plus répandue dans la région de Tébessa (Tine-Djebbaret *al.*, 2016).

La deuxième partie de notre étude vise à tester l'effet de ces huiles (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité de deux biomarqueurs de détoxification, le glutathion S-transférase et son cofacteur, le glutathion.

Tandis que la troisième partie traite l'impact de cette huile (CL₂₅ et CL₅₀) sur les paramètres morphométriques (poids et volume corporels) des larves 4 témoins et traitées à différentes périodes de développement (1, 3, 5 et 7 jours après traitement).

2. Matériel et Méthodes

Notre travail vise à évaluer l'effet des huiles essentielles extraites d'une plante *laurus nobilis* à l'égard d'une espèce de moustique, *Culisetalongiareolata*. Plusieurs paramètres ont été étudiés : toxicité, morphométrie et biomarqueurs.

2.1. Présentation de l'espèce *Culisetalongiareolata* (Aitken, 1954)

Culisetalongiareolata est une espèce multivoltine, elle peut présenter une diapause hivernale chez les adultes femelles (régions froides) et chez les larves (régions tempérées) (Bruhneset al., 1999).

Les œufs groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs (Boulkenafet, 2006). Les femelles sont sténogames et autogènes. Elles piquent de préférence les vertébrés surtout les oiseaux, très rarement l'humain, l'espèce est considérée comme un vecteur de Plasmodium d'oiseau.

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 (Figure 1 et 2), le thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues et fortes au niveau du lobe basal du gonocoxite (Figure 3 et 4) (Bruhneset al., 1999).



Figure 1. Dents du peigne siphonal (flèche) de *Cs longiareolata* (Gr X40) (Tine-Djebbar, 2009).

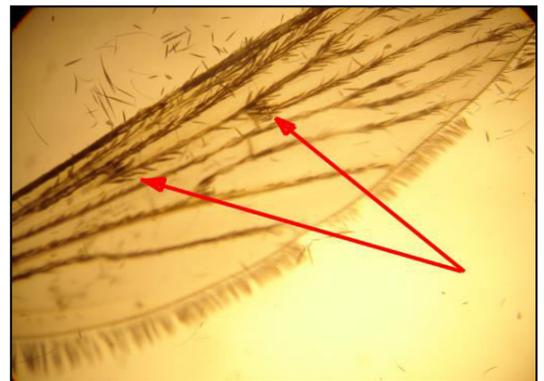


Figure 2. Taches d'écailles sombres sur l'aile (flèche) de *Cs longiareolata* (Gr : X 60) (Tine-Djebbar, 2009).



Figure 3. Trois Bandes blanches (flèche) de *Cs longiareolata* (Gr : X 40) (Tine-Djebbar, 2009).

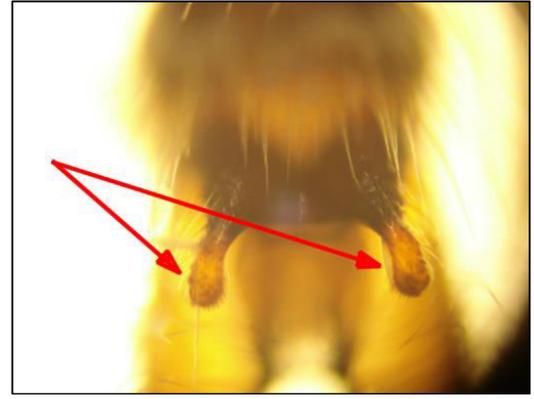


Figure 4. Lobe basal du gonocoxite (flèche) de *Cs longiareolata* (Gr : X 150) (Tine-Djebbar, 2009).

Tableau 1. La position systématique de *Cs longiareolata* (Aitken, 1954) est la suivante :

Règne	<i>Animalia</i>
Sous-règne	<i>Metazoa</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Sous-embranchement	<i>Hexapoda</i>
Super-classe	<i>Protostomia</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Sous-classe	<i>Pterygota</i>
Infra-classe	<i>Neoptera</i>
Super-ordre	<i>Endopterygota</i>
Ordre	<i>Diptera</i>
Sous-ordre	<i>Nematocera</i>
Infra-ordre	<i>Culicomorpha</i>
Famille	<i>Culicidae</i>
Sous-famille	<i>Culicinae</i>
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèce	<i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954).

2.2. Cycle de développement

Les moustiques sont des insectes holométaboles. Leur développement passe par une phase larvaire aquatique avant le stade adulte aérien entrecoupé d'une courte phase nymphale.

L'existence d'un moustique est rythmée par quatre stades de développement (œuf, larve, nymphe et adulte). Ils sont des insectes à métamorphose complète (holométaboles) car le passage de l'état larvaire à l'état adulte se fait par un état intermédiaire nymphal (Guillaumot, 2009). Le cycle biologique du moustique se décompose en deux phases :

- Une phase aquatique pré-imaginale (œuf, larve et nymphe),
- Une phase aérienne (stade adulte).

La phase aquatique, une phase de transformation des œufs en adultes, est indispensable à la survie de l'espèce, est une cible majeure pour les actions de lutte anti-vectorielle.

2.2.1. Œufs: les femelles pondent les œufs à la surface des différents gîtes (bassins, puits abandonnés, trous des rocher, mers, étangs, canaux, citernes, eau de pluie...), dont l'eau est toujours stagnante et riche en matières organiques. Ces gîtes sont permanents ou temporaires, ombragés ou ensoleillés, remplis d'eau douce ou saumâtre, propre ou polluée (Paul, 2009). Les œufs sont fusiformes, ils ont une taille de 0,5 à 1mm. Au moment de la ponte, ils sont blanchâtres et prennent rapidement par oxydation de certains composants chimiques de la thèque, une couleur noire (Peterson, 1980).

2.2.2. Larves: Les larves subissent trois mues avant d'atteindre leur taille maximale d'environ 10 millimètres en 6 à 12 jours selon les conditions environnementales (Guillaumot, 2009). Elles respirent généralement grâce à un siphon en se collant à la surface de l'eau et se nourrissent de plancton, de matière organique ou de petits animaux aquatiques. Au bout de 6 à 10 jours, la larve de stade 4 donne naissance à une nymphe.

2.2.3. Nymphes : la nymphe ou pupa est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (Boulkenafat, 2006). La nymphe, également aquatique (de 1 à 5 jours), ne se nourrit pas. Il s'agit d'un stade de transition, au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte (Peterson, 1980).

2.2.4. Adultes (ou imago): une déchirure ouvre la face dorsale de la nymphe, et l'adulte se dégage lentement. L'adulte qui vient d'émerger est plutôt mou en général, avant de s'envoler, il reste à la surface jusqu'à ce que ses ailes et son corps sèchent et durcissent. L'adulte pourra enfin voler de ses propres ailes, et leur corps est rigide grâce à la membrane chitineuse mince, il est composé de trois parties la tête, le thorax et l'abdomen bien différencié (Boulkenafat, 2006).

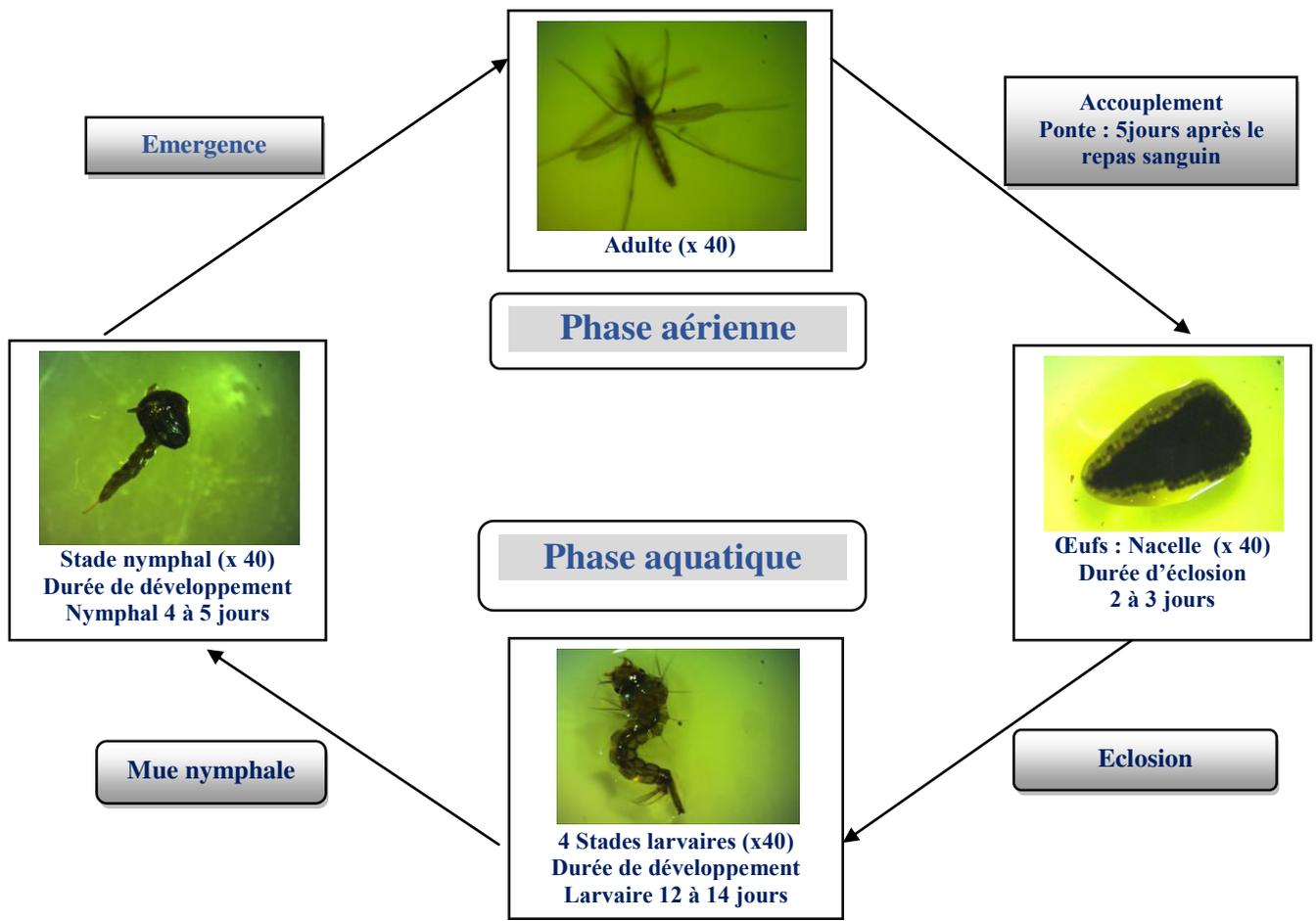


Figure 5. Cycle de vie du moustique (Dris, 2018).

2.3. Techniques d'élevage

Les œufs et les larves de *Cs longiareolata* sont récoltés des différents sites d'échantillonnage de la région de Tébessa. Les larves sont élevées au laboratoire dans des récipients contenant 150 ml d'eau déchlorurée et nourries avec 0,04g du mélange biscuit 75%, levure 25% (Rehimi & Soltani, 1999). L'eau est renouvelée chaque deux jour. Lorsque les larves atteignent le stade nymphale, Elles sont placées dans des récipients est déposées dans des cages où elles se transformeront en adulte (Fig.6).

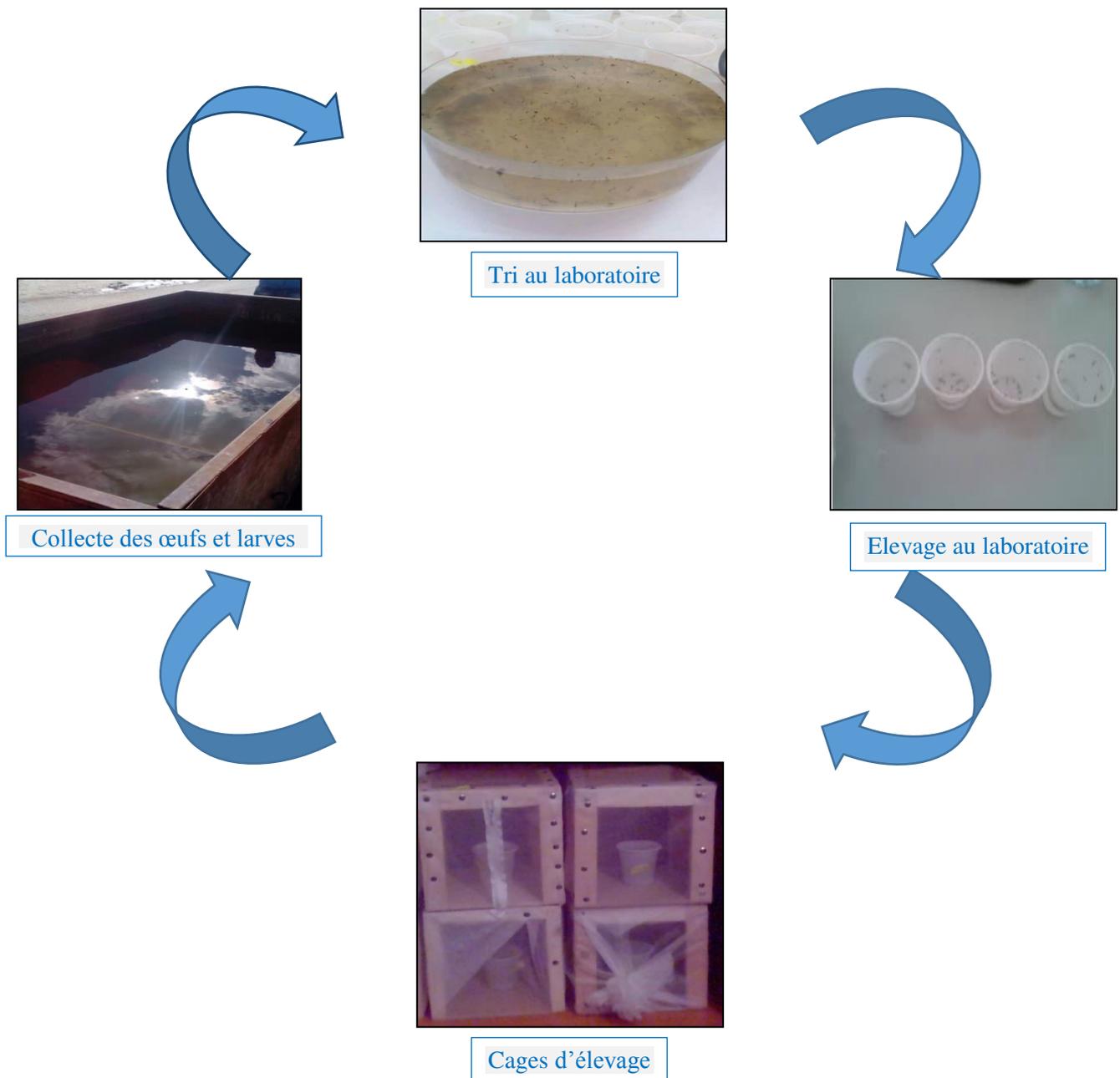


Figure 6. Etapes d'élevage (photo personnelle ,2018).

2.4. Présentation de la plante, *Laurus nobilis*(Linné, 1753)

La famille des Lauracées est composée d'arbres et arbustes aromatiques à feuilles persistantes pour la plupart des espèces (Steven, 2001). C'est une plante aromatique à tige droite grise dans sa partie basse et verte en haut. Ses feuilles sont alternées, coriacées, légèrement ondulées sur les bords, longues de 16 cm sur 8 cm de large. Persistantes dioïques, jaunes, groupées par 4 à 5 en petites ombelles, le fruit est une petite baie ovoïde de 2 cm de longueur sur 1 cm de largeur, noir vernissé à maturité.



Figure 7. *Laurus nobilis* L. 1753.

Tableau 2. La position systématique de *Laurus nobilis* L. 1753 est comme suit :

Règne	Plante
Sous-règne	Plante vasculaires
Embranchement	Spermaphytes
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Dicotylédones
Sous-classe	Diahypétales
Ordre	Laurales
Famille	Lauracées
Genre	<i>Laurus</i>
Espèce	<i>Laurus nobilis</i> L. 1753

2.5. Collecte de la plante et extraction des huiles essentielles

Les feuilles de *laurus nobilis* ont été achetées durant la période janvier-avril 2018. Les feuilles ont été séchées à l'ombre dans un endroit sec et aéré. Une biomasse de 50g du matériel végétal et 500 ml d'eau distillée est soumise à une hydrodistillation en utilisant un montage de type CLEVANGER durant 3 heures (Fig. 8). Les huiles essentielles recueillies par décantation à la fin de la distillation sont ensuite conservées à 4°C dans de petits flacons bien fermés en verre ombré jusqu'à l'utilisation.

Le rendement en huile essentielle est le rapport entre le poids de l'huile extraite et le poids de la matière sèche de la plante. Le rendement exprimé en pourcentage est calculé selon la formule suivante:

$$R = P_B / P_A \times 100$$

Ou

$$R = [\Sigma P_B / \Sigma P_A] \times 100$$

R : Rendement en huile en %

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

PB : Poids de l'huile en g.



Figure 8.Montage de l'hydrodistillateur (photo personnelle, 2018).

2.6. Traitement et Tests de toxicité

Après un test de Screening, on a pu déterminer la gamme des concentrations des huiles essentielles de *Laurus nobilis* qui sont de l'ordre de:25, 50, 100, 150 et 200 ppm. Ces concentration ont été appliquées dans des pots contenant 150mld'eau et 20 larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs longiareolata* selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé (Anonyme, 1983).Après 24h de traitement, les larves sont rincées et placées dans de nouveaux récipients contenant de l'eau propre et de la nourriture. Le témoin négatif ne contenait que de l'eau tandis que le témoin positif renfermait un millilitre d'éthanol. Le suivi de mortalité des larves a été réalisé à 24, 48 et 72 heures après traitement.Trois répétitions comportant chacune 20 larves, ont été réalisées pour chaque concentration.

Le pourcentage de mortalité observée est corrigé par la formule d'Abbott (1925) qui permet d'éliminer la mortalité naturelle et de déterminer la toxicité réelle du biopesticide. La détermination des concentrations sous létales et létales (CL_{25} , CL_{50} et CL_{90}) ainsi que leurs intervalles de confiance (95% IC) a été faite grâce à un logiciel GRAPH PAD PRISM 7.

2.8. Etude morphométrique

Deux paramètres morphométriques ont été pris en considération pour les larves témoins et traitées : le poids (mg) et le volume corporel (mm^3) calculé en fonction de la valeur cubique de la largeur du thorax (Timmermann&Briegel, 1999). Les mensurations ont été réalisées sous une loupe binoculaire préalablement étalonnée.

2.9. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de Shibkoet al.(1967) (Fig.9). Les individus témoins et traités (CL_{25} et CL_{50}) ont été prélevés à différentes périodes (24, 48 et 72h) et conservés dans 1 ml de TCA (acide trichloracétique) à 20%. Après homogénéisation aux ultrasons, puis centrifugation (5000 tours/min à 4°C pendant 10 min), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de Duchateau&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 (Goldworthyetal., 1972) et le culot II dissout dans de la soude (0,1N), servira au dosage des protéines selon Bradford(1976). L'essai est conduit avec 3 répétitions, chacune comprend 20 larves du quatrième stade.

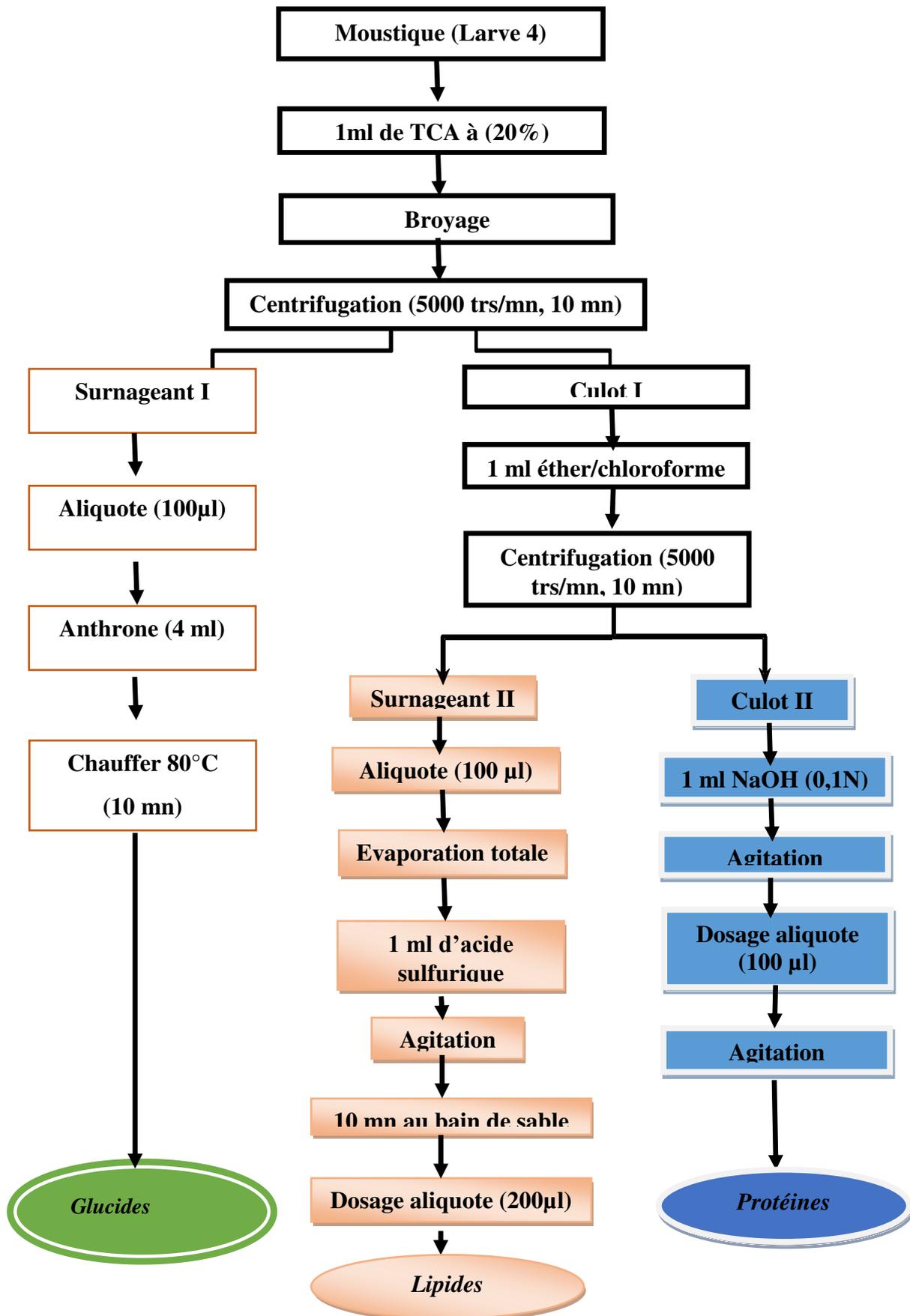


Figure 9. Extraction des glucides, protéines et lipides totaux (Shibkoetal., 1967).

2.9.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de [Bradford \(1976\)](#), dans une fraction aliquote de 100 μ l, à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de commassie (BBC) G250 (Merck). 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 (BSA) 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 (μ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (μ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine (μ g)	0	20	40	60	80	100

2.9.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon [Duchateau&Florkin\(1959\)](#). Cette méthode consiste à additionner 100 μ l du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 min, 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 gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml) (Tableau 4).

Tableau 4. Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de glucose (μ l)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (μ l)	100	80	60	40	20	0
Réactif d'anthrone (ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité de glucose (μ g)	0	20	40	60	80	100

2.9.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de Goldsworthy *et al.* (1972) utilisant le réactif sulfophosphovanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100 µl des extraits lipidiques ou de gamme étalon auxquelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, les tubes sont agités, et mis pendant 10 mn dans un bain de sable à 100°C. Après refroidissement, on prend 200µl de ce mélange auquel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfophosphovanillinique. Après 30mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. 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 et on ajoute 1ml d'éther chloroforme (1V/1V) (Tableau 5).

Tableau 5. Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution mère de lipides (µl)	0	20	40	60	80	100
Solvant (éther /chloroforme) (1V/1V)	100	80	60	40	20	0
Quantité de lipides (µg)	0	50	100	150	200	250

2.10. Dosage des biomarqueurs

Les larves du quatrième stade des séries témoins et traitées aux HES (CL₂₅ : 42,46 ppm et CL₅₀ : 72,04 ppm à 7 jours) ont fait l'objet d'un dosage des biomarqueurs de détoxification, les glutathion S-transférases (GSTs) et son cofacteur, le glutathion (GSH) à différentes périodes après traitement : 24, 48 et 72 heures. Par ailleurs, le contenu en protéines totales des différents échantillons a été préalablement déterminé, afin de pouvoir calculer l'activité spécifique de l'enzyme et le taux du glutathion.

2.10.1. Dosage des glutathion S-transférases

Les glutathion S-transférases (GSTs) représentent une famille d'enzymes multifonctionnelles, essentiellement cytosoliques, impliquées dans diverses opérations de transports et de biosynthèse intracellulaire. Les GSTs jouent un rôle important dans la détoxification des xénobiotiques ; elles catalysent souvent la conjugaison des molécules électrophiles avec le glutathion réduit (GSH). Les produits sont ensuite métabolisés en acide mercapturique et excrétés au niveau de la bile et des urines (Habiget *et al.*, 1974).

Les larves du quatrième stade de *Cslongiareolata* témoins et traitées à la CL₂₅ et la CL₅₀, sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), pesées puis broyées dans 1 ml de tampon phosphate de sodium (0,1M, pH 6). L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin. L'homogénat ainsi obtenu est centrifugé (14000 trs/min à 4°C pendant 30 min), le surnageant récupéré servira au dosage de l'activité des GSTs.

Le dosage est réalisé selon la méthode de [Habiget al. \(1974\)](#), elle consiste à faire réagir 200 µl de surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM)/GSH (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH 6)]. La lecture des absorbances est effectuée toutes les 1 mn pendant 5 minutes à une longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 µl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

L'activité spécifique est déterminée d'après la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta Do/mn}{9,6} \times \frac{Vt}{Vs} / \text{mg de protéines}$$

X : millimoles de substrat hydrolysé par minute et par mg de protéines (mM/min/mg de protéines).

Δ Do : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB (mM⁻¹ cm⁻¹).

Vt : volume total dans la cuve : 1,4 ml [0,2 ml surnageant + 1,2 ml du mélange CDNB/GSH].

Vs : volume du surnageant dans la cuve : 0,2 ml.

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

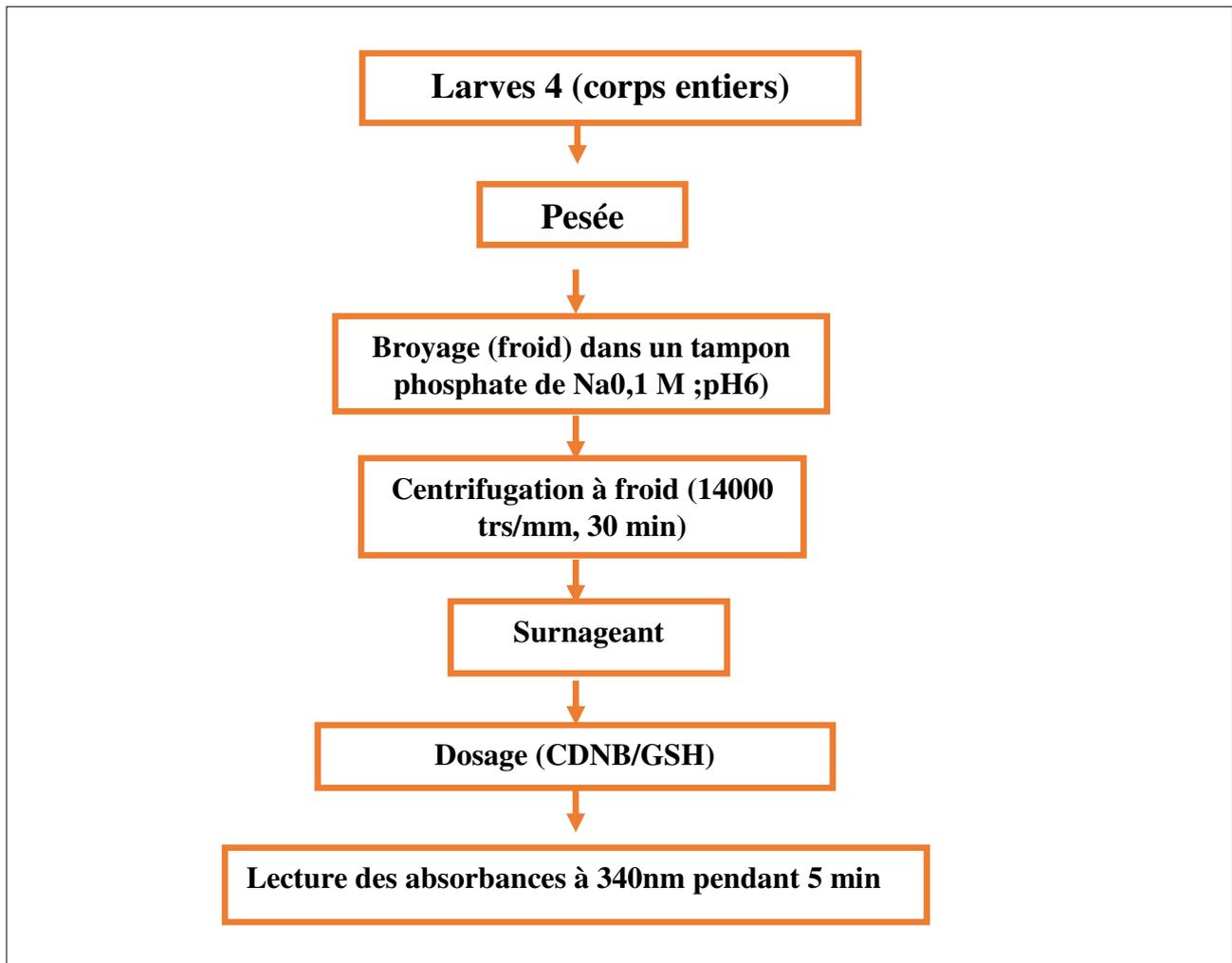


Figure10.Extraction et dosage de glutathion S- transférases d'après(Habiget *al.*, 1974).

2.10.2. 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 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 de *Cs longiareolata* témoins et traitées à la CL₂₅ et la CL₅₀ 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 EDTA, 1000 ml eau distillée] à raison de 0,8 ml par 200 mg de poids. L'essai est conduit avec 3 répétitions comportant chacune 20 individus avec une série témoin. L'homogénat (800µl) additionné d'acide sulfosalicylique ASS (200µl) est vortexé et laissé pendant 15min dans un bain de glace. Après centrifugation (1000trs/ mm pendant 5min), le surnageant est récupéré et utilisé comme source d'enzyme.

Le dosage est réalisé selon la méthode de [Weckberker& Cory \(1988\)](#). Une aliquote de 500µl du surnageant récupéré est ajoutée à 1ml du tampon tris / EDTA (0,02 M, pH 9,6) [63,04 g tris, 7,4448g EDTA, 100ml eau distillée] et 0,025ml de DTNB (0,01 M) [3,96g 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 500µl de surnageant sont remplacés par 500µl d'eau distillée. Le taux du glutathion est estimé selon la formule suivante :

$$X = \frac{\Delta D_o}{13,1} \times \frac{V_d}{V_h} \times \frac{V_t}{V_s} \quad / \quad \text{mg de protéines}$$

X : micromole de substrat hydrolysé par mg de protéines (µM / mg de protéines).

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

13,1:coefficient d'extinction molaire concernant le groupement thiol (-SH) (mM⁻¹cm⁻¹).

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

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

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

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

mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

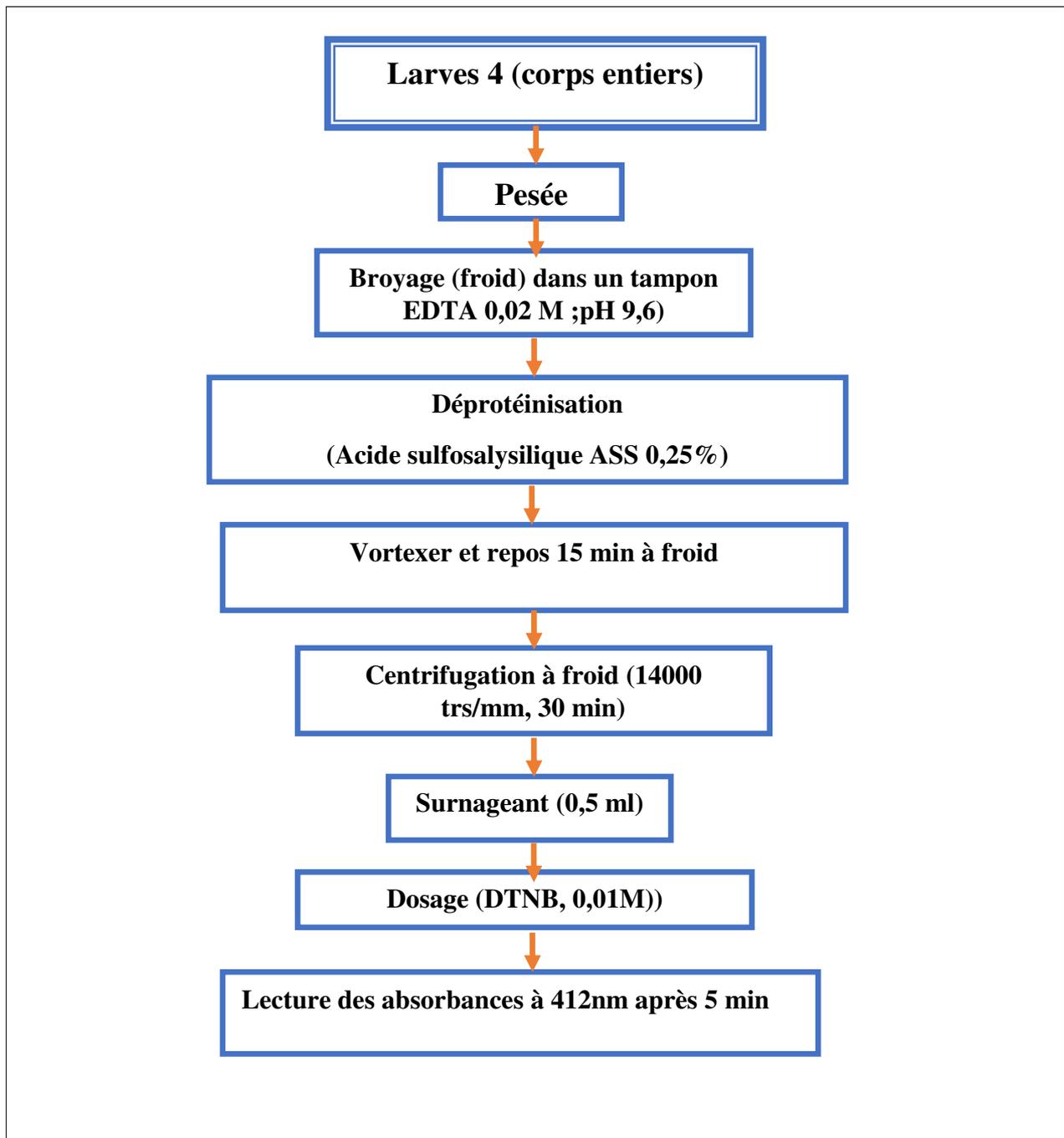


Figure11.Extraction et dosage du glutathion (GSH) d'après Weckberker&cory (1988).

2.11. Analyse statistique

Les moyennes \pm SEM sont calculées pour chaque groupe d'expérience. Le test t de student et 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.

3. RESULTATS

3.1. Rendement des huiles essentielles

Les huiles essentielles obtenues par hydrodistillation des feuilles séchées de *Laurus nobilis* ont de couleur transparente, avec une forte odeur. Le rendement en huiles essentielles marque une valeur de 1,58%.

3.2. Toxicité des H.E extraites de *Laurus nobilis* à l'égard des larves 4 de *Cs longiareolata*

Les essais toxicologiques ont permis de déterminer l'efficacité des huiles essentielles de *Laurus nobilis*, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les larves 4 à différentes périodes : 24, 48 et 72h après traitement.

Différentes concentrations : 25, 50, 100, 150, 200 ppm ont été appliquées sur les larves du quatrième stade nouvellement exuviées de *Cs longiareolata*. Les mortalités corrigées sont mentionnées dans le tableau 6, avec des taux variant de 6,8 à 16% pour la plus faible concentration (25ppm) jusqu'à 98% pour la plus forte concentration (200 ppm), avec une relation dose-réponse et cela à 24, 48 et 72h après traitement. Aucune mortalité n'a été signalée chez les témoins positifs et les témoins négatifs.

Tableau 6. Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (ppm) appliquées sur des larves du quatrième stade de *Cs longiareolata*, sur le taux de mortalité corrigée à différentes périodes après traitement (m ± SEM, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus).

Temps (heures)	25 ppm	50 ppm	100 ppm	150 ppm	200 ppm
24	6,67 ± 2,20	16,67 ± 5,56	41,67 ± 8,89	63,33 ± 14,44	98,33 ± 2,20
48	8,33 ± 2,20	18,33 ± 4,40	46,67 ± 8,89	63,33 ± 14,44	98,33 ± 2,20
72	16,67 ± 2,20	23,33 ± 2,20	53,33 ± 7,78	70,00 ± 10,00	98,33 ± 2,20

Les concentrations sous létales et létales (CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀) sont déterminées grâce à un logiciel GRAPH PAD PRISM 7. Les résultats montrent une diminution des concentrations létales en fonction des périodes testées (24, 48 et 72h) (Tableau 7 et Fig. 12).

Tableau 7. Efficacité des HEs extraites de *Laurus nobilis* (ppm) appliquées sur des larves du quatrième stade de *Cs longiareolata* à différentes périodes: analyse des probits.

Temps (heures)	Slope	R ²	CL25 (ppm) 95% FL	CL50 (ppm) 95% FL	CL90 (ppm) 95% FL
24	6,77	0,93	72,94 (41,11-129,12)	108,1 (76,83-153,10)	237,68 (113,76-497,73)
48	5,31	0,94	67,60 (38,02-120,50)	103,2 (72,44-146,89)	239,88 (114,28-502,34)
72	4,4	0,9	56,104 (26,49-11,58)	93,74 (58,74-149,62)	261,81 (97,05-707,94)

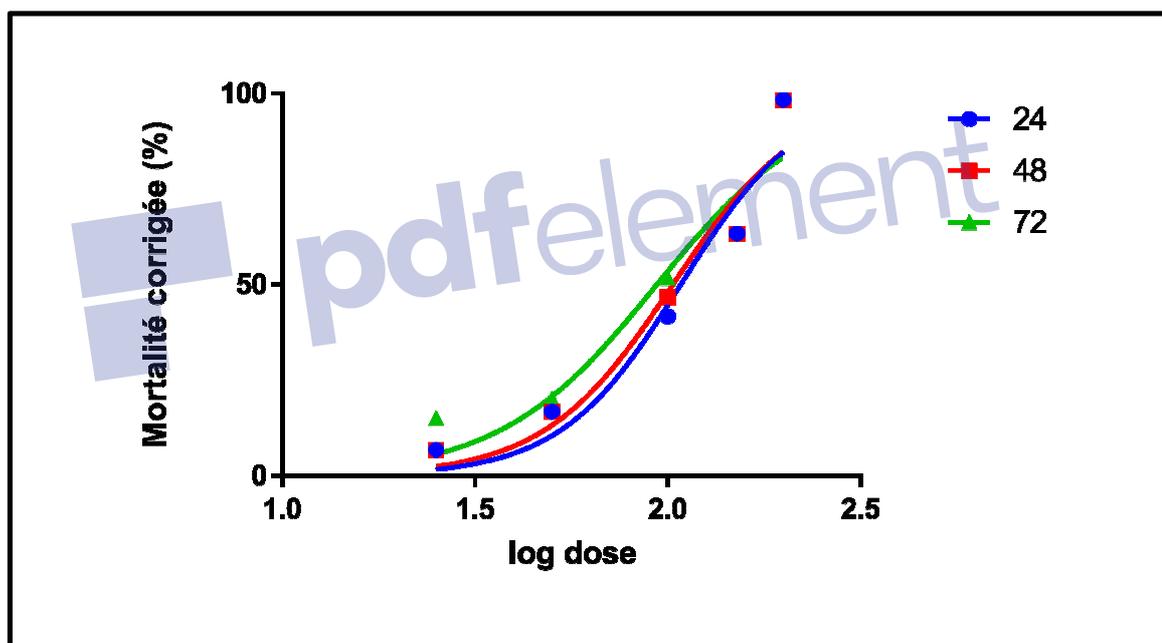


Figure 12. Effets des HEs de *L. naubilis*, appliquées sur les larves 4 de *C. longiareolata* : Courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

3.3. Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* sur la croissance pondérale de *Cs longiareolata*

Les résultats de l'évolution du poids corporel des larves du quatrième stade de *Cs longiareolata* sont mentionnés dans le tableau 8 et la figure 13. Pour les séries témoins et

traitées à la CL₂₅ et CL₅₀, on remarque une variation non significative ($p > 0,05$) du poids du corps des larves 4 au cours des périodes testées (1, 3, 5 et 7 jour après traitement).

La comparaison des valeurs moyennes par le test "t" de Student, révèle une diminution significative du poids corporel des larves 4 avec les deux doses testées et cela à 1jour après traitement. Par contre, des différences significatives entre témoins et traités avec la plus forte dose (CL₅₀) ont été observées à 3j ($p = 0,310$), 5j ($p = 0,514$) et 7j ($p = 0,347$) après traitement.

Tableau 8. Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le poids corporel (mg) des larves 4 de *Cs longiareolata* à différentes périodes ($m \pm SEM$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 20 individus) (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Temps (jours)	Témoins	CL ₂₅	CL ₅₀
1	7,57 ± 0,19 a A	5,91 ± 0,82 b A	4,99 ± 0,98 b A
3	7,39 ± 0,48 a A	3,96 ± 1,30 a A	3,91 ± 0,27 b A
5	6,47 ± 1,38 a A	4,27 ± 1,64 a A	4,00 ± 0,16 b A
7	5,85 ± 0,70 a A	3,94 ± 0,36 a A	3,95 ± 0,36 b A

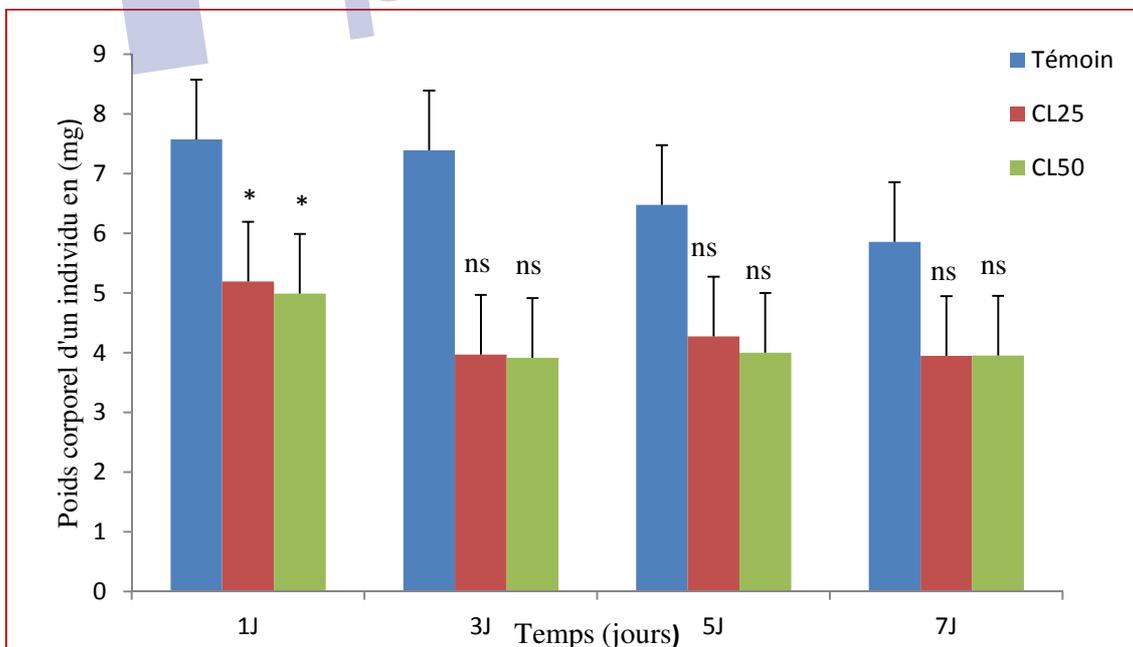


Figure 13. Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le poids corporel (mg) des larves 4 de *Cs longiareolata* à différentes périodes ($m \pm SEM$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 20 individus) (ns : différence non significative ($p > 0,05$) ; *: différence significative ($p < 0,05$)).

3.4. Effets des HEs extraites de *Laurus nobilis* sur la croissance linéaire de *Cs longiareolata*

3.4.1. Largeur du thorax

Les résultats de l'effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* sur la largeur du thorax des larves 4 de *Cs longiareolata* sont mentionnés dans le tableau 9 et la figure 14. Ce paramètre marque des variations significatives chez les témoins ($p=0,001$) et les traités à la CL₅₀ ($p=0,001$). Par contre, chez les séries traitées à la CL₂₅ aucune variation significative n'a été observée au cours de la période testée.

La comparaison des valeurs moyennes montre une différence significative de la largeur du thorax entre témoins et traités à la CL₂₅ ($p=0,014$) et la CL₅₀ ($p<0,001$) seulement à 1 jour après traitement. Par contre, aucune différence ($p>0,05$) n'a été signalée au cours des autres périodes testées (3, 5 et 7 jour après traitement).

Tableau 9. Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur la largeur du thorax (mm) des larves 4 de *Cs longiareolata* à différentes périodes ($m \pm SEM$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus) (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Temps (jours)	Témoins	CL ₂₅	CL ₅₀
1	22,19 ± 1,26 a A	12,83 ± 0,15 b A	12,92 ± 0,22 c A
3	17,81 ± 1,06 a B	14,14 ± 0,08 a A	14,21 ± 0,52 a B
5	14,63 ± 3,12 a C	16,60 ± 0,94 a A	16,48 ± 0,73 a C
7	11,80 ± 0,79 a D	16,48 ± 3,36 a A	14,63 ± 0,38 a D

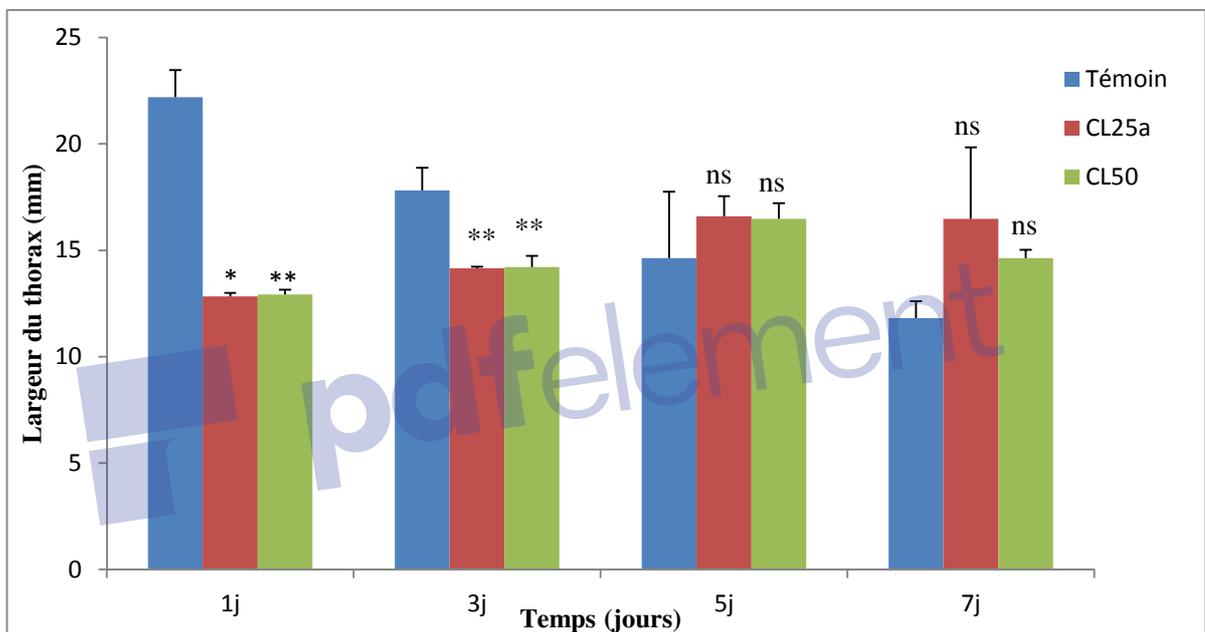


Figure 14. Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis*(CL₂₅ et CL₅₀) sur la largeur du thorax (mm) des larves 4 chez *Cs longiareolata* à différentes périodes ($m \pm SEM$, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus) (ns: différence non significative ($p > 0,05$) ; *: différence significative ($p < 0,05$), **: différence hautement significative ($p < 0,01$)).

3.4.2. Volume corporel

Les résultats du volume corporel des larves témoins et traitées à la CL₂₅ et la CL₅₀ suivent le même rythme d'évolution de la largeur du thorax (Tableau 10 et la figure15), car des variations significatives ont été signalées chez les témoins ($p=0,0003$) et les traités à la CL₅₀ ($p=0,001$). Par contre, aucune variation significative ($p > 0,05$) n'a été signalée chez les séries traitées à la CL₂₅ au cours de la période testée.

La comparaison des valeurs moyennes par le test t de student entre les séries témoins et traitées montre que le traitement (CL25 et CL50 respectivement) diminue significativement le volume corporel des larves à 1j ($p= 0,014$ et $0,009$) et 3j ($p= 0,04$ et $0,000$). Par contre, aucun effet n'a été observé à 5 et 7jour ($p>0,05$) après traitement.

Tableau 10. Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le volume corporel (mm³) des larves 4 de *Cs longiareolata* ($m \pm SEM$, $n=3$ répétitions comportant chacune 20 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (jours)	Témoins	CL ₂₅	CL ₅₀
1	22,19 ± 4,64 a A	12,83 ± 1,88 b A	12,90 ± 2,11 c A
3	18,78 ± 5,35 a B	14,14 ± 2,16 b A	14,19 ± 2,51 c B
5	14,63 ± 4,18 a C	16,60 ± 2,40 a A	16,48 ± 2,40 a C
7	11,80 ± 2,02 a D	16,47 ± 3,59 a A	14,63 ± 3,59 a D

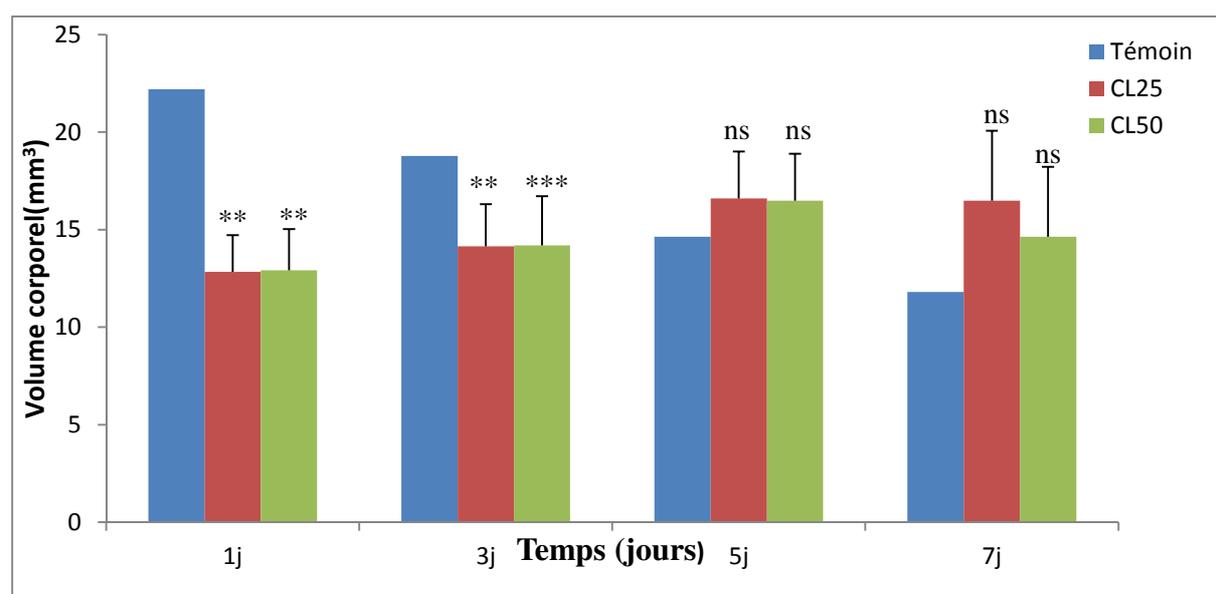


Figure15. Effet des HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le volume corporel (mm³) des larves 4 chez *Cs longiareolata* à différentes périodes ($m \pm SEM$, $n=3$ répétitions

comportant chacune 20 individus) (ns: différence non significative ($p > 0,05$) ; **: différence hautement significative ($p < 0,01$; *** : différence très hautement significative ($p < 0,001$)).

3.5. Effets des HEs extraites de *Laurus nobilis* sur la composition biochimique de *Cs longiareolata*

Le dosage biochimique (glucides, lipides et protéines) a été réalisé chez les larves 4 témoins et traitées aux HEs de *Laurus nobilis* (CL25 et CL50).



4. DISCUSSION

4.1. Rendement en huile essentielle

Les HEs servent comme produits phytosanitaires pour combattre les ravageurs dans les cultures, les infections fongiques, bactériennes ou virales (Salhi *et al.*, 2015). Elles apportent des solutions en agriculture et en biologie, réduisant les effets néfastes des pesticides de synthèse comme la pollution ou le développement de résistance. La méthode d'extraction des huiles essentielles, la température et la durée de séchage et l'état physiopathologique de la plante restent des conditions très importantes qui peuvent agir directement sur la qualité et la quantité des huiles essentielles (Tchoumboungang *et al.*, 2005 ; 2009). Le succès de cette étape est interprété par le calcul des rendements (Bruneton, 1987).

Les huiles essentielles extraites des feuilles de *Laurus nobilis* sont de couleur transparente. Le rendement enregistré est de l'ordre de 1,58%. Des résultats similaires ont été obtenus par l'extraction des feuilles de *Thymus vulgaris* (1,58%) (Bouguerra *et al.*, 2017). Par ailleurs, des rendements supérieurs ont été affichés chez la même espèce de Laurier atteignant 5,94% jusqu'à 10,38% (Bouderhem, 2015), chez *Thymus vulgaris* (3,6%) et *Mentha pulegium* (3,5%) (Zantar *et al.*, 2015) et *Thymus algeriensis* (2,96%) (Zayyad *et al.*, 2014). Par contre, de faibles rendements ont été rapportés chez *Citrus limonum* (0,94%) (Benkhedime & Djedouani, 2017) et *Rosmarinus officinalis* (1,1%) (Asressu & Tesema, 2014).

Cette variabilité de rendement dépend de plusieurs facteurs tels que l'espèce, l'origine géographique, la période de récolte, la durée de séchage, la température et la technique d'extraction (Svoboda & Hampson, 1999; Smallfied, 2001).

4.2. Toxicité des huiles essentielles extraites de *Laurus nobilis*

Généralement, les huiles essentielles sont des métabolites secondaires produits par les plantes comme moyen de défense contre les ravageurs phytophages (Csek *et al.*, 1999). Ces extraits contiennent en moyenne 20 à 60 composés qui sont pour la plupart des molécules peu complexes. Leur mécanisme d'action est méconnu et relativement peu d'études ont été réalisées à ce sujet (Isman, 2000). Les biopesticides à base d'huiles essentielles peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de résistance aux biopesticides. Ces derniers peuvent être utilisés seuls et à répétition sans potentiellement inciter le développement de la résistance chez les insectes (Csek *et al.*, 1999). Ils peuvent également être utilisés en alternance avec les pesticides de synthèse afin de prolonger la durée de vie de ces derniers.

L'activité biologique des huiles essentielles est liée à sa composition chimique qui détermine son niveau de toxicité (Akono *et al.*, 2012), cela peut varier considérablement en fonction de l'espèce végétale (Singh *et al.*, 2007; Yadav *et al.*, 2002), de la partie de la plante utilisée (Rajkumar *et al.*, 2005, Chowdhury *et al.*, 2008), de l'âge de ses parties (jeune, mature ou sénescence), le solvant utilisé lors de l'extraction ainsi que l'espèce cible (Choochote *et al.*, 2005; Chansang *et al.*, 2005).

La toxicité des huiles essentielles extraites de *Laurus nobilis* a été testée à partir du taux de mortalité enregistrée et qui dépend des concentrations administrées. Les résultats révèlent une activité larvicide avec une relation dose-réponse. Cependant, les concentrations létales des HES extraites de *Laurus nobilis* marque des valeurs décroissantes en fonction du temps : CL₂₅ (72,94 ; 67,60 et 56,10ppm) et CL₅₀ (108,1 ; 103,2 et 93,74ppm) à 24, 48 et 72 heures après traitement respectivement.

Plusieurs plantes ont prouvé leurs efficacités larvicides contre les espèces de moustiques. Les travaux de Dris *et al.* (2017) sur *Lavandula dentata* L, ont affiché des concentrations létales (CL₅₀ et CL₉₀) de 77,09 et 104,45 ppm contre *Cs longiareolata* et 113,38 et 150,38 ppm contre *Cx pipiens*. Cependant, l'application des huiles extraites d'*Ocimum basilicum* sur les larves 4 de *Cs longiareolata* a provoqué une CL₅₀ de 73,45 ppm à 24h après traitement (Dris *et al.* Non publié). Par ailleurs, l'application de cinq plantes (*Acorus calamus*, *Mentha arvensis*, *Ocimum basilicum*, *Saussurea lappa* et *Cymbopogon citratus*) sur les larves 3 d'*Aedes aegypti* et *Cx quinquefasciatus*, a montré une activité larvicide élevée avec un effet marqué d'*Ocimum basilicum* avec une CL₅₀ de 75,35 ppm et 92,30 ppm respectivement (Manzoor *et al.*, 2013).

Des résultats similaires ont été enregistrés chez *Cx pipiens* traité aux HES de *T. vulgaris* avec une CL₅₀ et CL₉₀ de 72,04 et 207,01 ppm respectivement. Des travaux antérieurs ont montré l'activité larvicide de plusieurs plantes telles que *Caulerpa racemosa* contre *Cx pipiens* (Walied *et al.*, 2010), *Tagetes patula* contre *Ae aegypti*, *An Stephensi* et *Cx quinquefasciatus* (Dharmagadda *et al.*, 2005) et *Ganum syriacum*, *Lavandula stoechas* (Traboulsi *et al.*, 2002) et *Kelussia Odoratissima mozaffarian* contre *Cx pipiens* (Vatandoost *et al.*, 2012). L'efficacité de *Laurus nobilis* a été démontrée aussi par les travaux de (Aouati, 2016), après traitement avec un extrait des feuilles sur les larves de *Culex pipiens* avec une mortalité 49% pour une concentration de 900mg/l.

4.3. Effet des huiles essentielles sur la croissance

Le processus de la croissance larvaire et le contrôle endocrine de la métamorphose ont été étudiés chez les Lépidoptères, essentiellement *Manduca sexta* (Nijhout, 1994 ; 1975) est le premier auteur qui a décrit les paramètres morphométriques de *Manduca sexta* et leur seuil critique pour contrôler la libération des hormones indispensables à certaines activités physiologiques. Le volume

corporel des moustiques peut influencer quelques paramètres essentiels tels que le volume du repas sanguin consommé, le degré de son utilisation dans les voies métaboliques et le nombre d'œufs qui arrive à la maturation (Hosoi, 1954 b ; Van Den Heuvel, 1963). Colless & Chellapah (1960) ont démontré la relation entre la fécondité d'*Aedes aegypti* et la quantité de sang ingéré qui sont tous deux sous le contrôle du volume corporel, déterminant d'une part l'oogenèse et d'autre part, le nombre d'œufs produits. Le poids corporel chez les insectes dépend généralement de la présence de la nourriture dans leurs habitats, des conditions environnementales et surtout des caractères héréditaires de chaque espèce (Braquenier, 2009).

Les résultats de notre expérimentation montre que les HEs (CL₂₅) et (CL₅₀) appliquées sur les larves 4 affectent les paramètres biométriques comme ; la largeur du thorax, le poids et le volume corporel.

L'application des HEs extraites d'*Ocimum basilicum* sur *Cx pipiens* (Dris *et al.*, 2017) provoque une diminution de la largeur du thorax, le poids et le volume corporel des larves 4. Par contre, Attia & Kouider (2016) ont constaté que les HEs de *Laurus nobilis* appliquées sur les larves 4 de *Culex pipiens* n'affectent pas les paramètres biométriques étudiés (poids et volume corporel). Des résultats similaires qui ont été faites par Boudershem (2015) exprime que le traitement par la *Laurus nobilis* (DL50) des stades larvaires de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*, cause une réduction de divers paramètres biométriques comme; le poids et la largeur du thorax des larves 4^{ème} stade.

De plus, ERLER et ses collaborateurs (2006) indique l'huile essentielle extraite à partir du feuillage frais du *Laurus nobilis* a été examinée pour son activité répulsive contre les femelles adultes d'une espèce de moustique (*Culex pipiens*), cette huile a montré un degré de répulsion intéressant contre ces parasites vecteurs de plusieurs maladies comme la malaria, fièvre jaune, dengue, encéphalite...etc. (ERLER *et al.*, 2006 ; ROZMAN *et al.*, 2007).

Par ailleurs, Landry *et al.* (1988) ont montré une variation saisonnière significative du volume corporel chez *Aedes triseriatus* et une corrélation positive entre le volume corporel et les réserves nutritives telles que le glycogène et les lipides.

4.4. Effet sur la composition biochimique

Chez les insectes, le corps gras est l'organe principal responsable du métabolisme énergétique, exécutant une fonction semblable à celle du foie chez les vertébrés. C'est également l'organe de la conversion et de stockage des lipides, des glucides et des protéines (Chapman, 1998; Arrese & Soulages 2010). Chez les moustiques, la synthèse des lipides et des protéines se fait au niveau de cet organe au quatrième stade larvaire (Timmermann & Briegel, 1999). L'étude biochimique a

permis de doser les principaux constituants (protéine, lipide et glucide) dans le corps entier des larves 4 de *Cs longiareolata* traitées aux huiles essentielles de *Laurus nobilis*.

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces biologiques vivantes connues (Mahler *et al.*, 1968).

Au cours de notre étude, on a noté une variation significative des protéines totales pour la forte dose chez les larves 4 traitées aux HEs extraites de *Laurus nobilis*. D'autres résultats sont exprimés par la réduction de la quantité des protéines induite par halofenozide, (le RH-0345) sur les larves traitées de *Cx. pipiens* (Amira, 2014), le novaluron sur des larves de *Culiseta longiareolata* et de *Cx pipiens* (Bouaziz *et al.*, 2011; Djeghader *et al.*, 2013) révèle la même réduction des taux des protéines. Une baisse de la protéinémie est enregistrée chez *Tenebrio molitor* après l'application de RH-0345 (Soltani *et al.*, 2002).

Les expérimentations menées au niveau de notre laboratoire dans le but de tester les effets des HEs sur les réserves énergétiques des moustiques ont mis en évidence des perturbations chez *Cx pipiens* et *Cs longiareolata* traités à l'*Ocimum basilicum* (Bouzidi & Ziani, 2015), *Lavandula dentata* (Sahbi & Aouni, 2015) et *Laurus nobilis* (Kouider & Attia, 2016).

Les glucides forment un groupe de composés très importants. Certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose), soit sous forme de réserves (glycogène); d'autres ont un rôle structural (cellulose, chitine, acide hyaluronique). Le taux de glycogène et de tréhalose dans les tissus sont étroitement liés aux événements physiologiques tels que le vol, la mue, et la reproduction (Wiens & Gilbert, 1967). Le tréhalose est la fraction la plus importante des glucides circulants. Il joue un rôle métabolique de premier plan dans le cycle de développement (Steel, 1981) et constitue une source énergétique essentielle en libérant le glucose sous l'action d'une enzyme, tréhalase, sa concentration dans l'hémolymphe est déterminée par la vitesse de deux processus: son retrait pour les besoins énergétiques de l'insecte et son stockage dans le corps gras (Wyatt, 1967). La dépense énergétique tout en volant, courant, et nageant exige la mobilisation des métabolites chez les insectes, et le stockage et la libération des glucides, lipides, protéines, et acides aminés (Gade, 2004). L'évolution du contenu en glucides montre une variation non significative chez les larves 4 de *Cs longiareolata* traitées par *Laurus nobilis* avec la CL₂₅ et la CL₅₀. Ceci concorde avec les résultats obtenus par Bouzidi & Ziani (2015) où le traitement de *Cs longiareolata* par l'*Ocimum basilicum* et *Cx pipiens* par *Laurus nobilis* (Kouider & Attia, 2016) n'a présenté aucun effet sur ce contenu.

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenackers *et al.*, 1985), transportés aux corps gras, site de leurs synthèse et stockage (Keely, 1985; Van Hensdan & Law, 1989) vers les organes utilisateurs, notamment les ovaires (Kilby, 1963; Chino *et al.*, 1981), via l'hémolymphe pour être utilisés lors de la vitellogénèse (Downer, 1985 ; Keely, 1985). Plusieurs

études ont démontrées que les triglycérides, dont le corps gras est le site majeur de stockage chez les insectes, sont une réserve métabolique importante.

Briegel (1990), a trouvé que les moustiques femelles avec un grand volume corporel synthétisent plus de lipides que les petites femelles. Les études de Van Handel (1984) ont montré qu'en absence de repas sanguin, les besoins énergétiques pour le métabolisme de base sont fournis par l'oxydation des lipides.

Les résultats obtenus au cours de notre travail ont montré une variation non significative des lipides totaux chez les larves 4 traitées aux HEs extraites de *Laurus nobilis* (CL₂₅ et CL₅₀).

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus chez *Cx pipiens* traité par *Laurus nobilis* (Kouider & Attia, 2016). Par contre, l'application des HEs de l'*Ocimum basilicum* sur la même espèce provoque une diminution de ce composé chez les stades testés (larvaire, nymphale et adulte mâle et femelle (Bouzidi & Ziani, 2015 ; Dris *et al.*, 2017). De plus, *Blatta orientalis* traitée à l'azadirachtine présente une diminution du contenu en lipides (Bouhouhou & Chorfi, 2016 ; Tine *et al.*, 2016).

4.5. Effet sur les biomarqueurs

Les marqueurs biologiques ou 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 (Badiou, 2007).

Les biomarqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la glutathion peroxydase, les glutathion-S-transférases. Les enzymes du système de détoxification sont aussi beaucoup étudiées puisque leurs activités sont susceptibles d'être fortement modifiées après une exposition à un ou plusieurs contaminants.

La lutte contre les organismes nuisibles (rongeurs, arthropodes vecteurs de maladies ou ravageurs de culture) se traduit invariablement par la sélection d'individus résistants, c'est à dire capable de survivre et de se reproduire malgré la présence dans leur environnement de composés toxiques pouvant tuer des individus dits sensibles (Magnin *et al.*, 1985).

Plus de 500 espèces d'arthropodes sont maintenant résistantes à au moins, un insecticide ou larvicide. En dépit des diversités chimiques des insecticides et biologiques des ravageurs, seulement un petit nombre de mécanismes de résistance sont capable de détoxifier les insecticides en métabolites moins toxiques (Soderlund, 1997). Ces mécanismes sont généralement classés en trois:

- Le premier est dû à une diminution de la pénétration cuticulaire qui est un mécanisme de résistance de moindre importance mais qui peut contribuer en association avec d'autres à augmenter le niveau de résistance (Georghiou, 1994; Pasteur & reymond, 1996; Taylor & Feyereison, 1996).
- Le deuxième mécanisme, relativement le plus important, assure une bonne détoxification des différents tissus de l'organisme, est lié à une augmentation du taux des divers enzymes de détoxification (Sodrlund, 1997) telles que les monooxygénases à cytochrome P450 (Kassi *et al.*, 1998; Scott, 1999), l'estérase (Field *et al.*, 1999; Zhu *et al.*, 1999, Harold & Ottea, 2000), la glutathion-S-transférase (Parapanthadara *et al.*, 2000; Yu & Abo-Elghar, 2000; Sun *et al.*, 2001), et la lactate déshydrogénase entre autre (Saleem & Shakoori, 1987; Ribeiro *et al.*, 1999).
- Enfin, le troisième mécanisme, aussi important que le second, traite de l'altération des sites cibles et leur insensibilité aux insecticides. Parmi ces sites cibles on note les canaux sodium, les récepteurs GABA et surtout une enzyme du système nerveux, l'acétylcholinestérase (Rufingier *et al.*, 1999; Tomita *et al.*, 2000; Siegfried & Scharf, 2001).

Pour contribuer à une compréhension de ces mécanismes, nous avons évalué l'effet des huiles essentielles extraites du *Laurus nobilis* sur l'activité d'enzyme de détoxification, les glutathion S-transférases et son cofacteur, le glutathion, chez une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata*.

4.5.1. Effet sur l'activité spécifique des GSTs

Les GSTs sont des enzymes multifonctionnelles impliquées dans l'étape de conjugaison du «glutathion réduit» à un grand nombre de xénobiotiques (Boyer, 2006). Elles sont surtout localisées dans le cytoplasme des cellules, du corps gras et des muscles aires (Haubrug & Amichot, 1998). Elles ont un rôle important dans la détoxification de substances xénobiotiques et interviennent en catalysant la conjugaison de ces substances avec le groupement thiol du glutathion endogène (Jakoby & Habig, 1980). Ceci résulte en synthèse d'un acide mercapturique qui est ensuite facilement éliminable. Donc, le rôle majeur du glutathion est de convertir des composés lipophiles en molécules hydrophiles facilement excrétables (Habig *et al.*, 1974). Les GSTs permettent le développement de la résistance envers les agents chimiothérapeutiques, les insecticides, les herbicides et les antibiotiques microbiens. Elles jouent un rôle important dans la physiologie du stress, le transport intracellulaire et dans les différentes voies de biosynthèse (George, 1994).

L'activité spécifique de la GST chez les larves 4 témoins et traitées de *Cs longiareolata* a été évaluée à 24, 48 et 72h. Les résultats obtenus montrent une diminution non significative de ce biomarqueur après traitement aux huiles essentielles de *Laurus nobilis* comparativement aux témoins. La diminution de l'activité de la GST n'exerce aucun effet sur le mécanisme de

résistance. Par contre, *Culex pipiens* traité à l'*Ocimum basilicum* (Sayada & Messai, 2015) et *Lavandula dentata* (Gheraibia & Abaidia, 2014), et *Cs longiareolata* traitée par *Mentha piperita* (Chettat, 2013), par *Ocimum basilicum* (Kemache et Meziani, 2015) et par *L. dentata* (Gouasmia et Bouchagoura, 2013).

L'accroissement de l'activité spécifique de la GST peut provenir soit d'une modification de la conformation de l'enzyme la rendant plus efficace soit d'une production accrue de protéine, pouvant parfois représenter jusqu'à 12% des protéines totales d'un individu, la surproduction d'enzymes peut être due à une modification d'un gène régulateur contrôlant le degré d'expression de l'enzyme, et à une augmentation du nombre de copies du gène qui code pour ces enzymes (Cédric, 2008).

4.5.2. Effet sur le taux de glutathion GSH

Le glutathion, un biomarqueur non-enzymatique, joue un rôle crucial dans le processus de défense intracellulaire. Le glutathion existe sous deux formes, oxydée GSSG et réduite GSH. L'oxydation du glutathion réduit se fait par la glutathion peroxydase et la réduction du glutathion oxydé par la glutathion réductase (Gannagé-Yared *et al.*, 1998).

Les résultats obtenus au cours de nos expérimentations, révèle une diminution significative du taux de la GSH chez les séries traitées (CL₂₅, CL₅₀) comparativement aux séries témoins durant la période testée (24, 48 et 72h).

En accord avec nos résultats, plusieurs travaux obtenus aident à mieux expliquer la relation entre la diminution du taux de GSH et l'administration des molécules exogènes. Les expérimentations menées dans notre laboratoire ont mis en évidence une diminution du taux de GSH chez *Cs longiareolata* traitée par *Mentha piperita* (Chettat, 2013), chez *Cx pipiens* (Sayada & Messai, 2015) et *Culiseta longiareolata* (Kemache & Meziani, 2015) traitée par l'*Ocimum basilicum*.

Cette diminution de la GSH traduit également une réduction du système antioxydant non enzymatique ou l'utilisation de ce dernier comme cofacteur pour d'autres enzymes de détoxification.

Conclusion et Perspectives

En raison des problèmes liés à l'utilisation des insecticides chimiques et leur impact nocif sur la santé et l'environnement, le recours à des alternatifs naturels remplaçant les insecticides de synthèse et présentant des avantages écologiques et économiques, s'avère nécessaire.

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer chez une espèce de moustiques, *Cs longiareolata*, l'effet des huiles essentielles extraites du *Laurusnobilis*, sur la toxicité, la morphométrie, la composition biochimique (protéines, glucides et lipides) et l'activité spécifique de quelques biomarqueurs enzymatiques et non enzymatiques, glutathion S-transférases (GSTs) et son cofacteur, le glutathion (GSH).

L'application de ces huiles chez les larves de *Cs longiareolata* permis d'établir les concentrations sous létales et létales (CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀). Ces huiles montrent une activité insecticide avec une relation dose-réponse.

Laurusnobilis (CL₂₅ et CL₅₀) testé sur les larves 4 de *Cs longiareolata* perturbent les paramètres biométriques et le contenu en protéines totales au cours de la période testée (1, 3, 5 et 7 jour).

L'évaluation des biomarqueurs indique que ces huiles présentent une réduction du taux de GSH et induction du système de détoxification par le biais d'une augmentation significative de l'activité des GSTs, à 24, 48 et 72 heures après traitement, mettant en évidence la mise en place d'un mécanisme de détoxification.

A l'avenir, il serait intéressant de compléter ces résultats par une étude de l'effet des huiles essentielles sur le potentiel reproducteur des moustiques. Par ailleurs, le dosage d'autres enzymes du système de détoxification (estérases, mono-oxygénase à P450) pourrait contribuer à mieux comprendre le mécanisme d'action de ces huiles.

Références Bibliographiques

A

- Aissaoui L., 2014.** Etude écophysiological et systématique des Culicidae dans la région de Tébessa et lutte biologique. Thèse de doctorat en Science. Université Badji Mokhtar, Annaba. 168p.
- Aouti A. & Berchi S. (2015).** Larvicidal Effect of Marrubium Vulgare on Culex pipiens in Eastern Algeria. International Conference on Technologies and Materials for Renewable Energy, Environment and Sustainability, TMREES.15. (74). 1026-1031.
- Afnor, 2000.** Huiles essentielles. Ed. PARA Graphic. Tome1 – Echantillonnage et méthode d'analyse 471 P. Tome 2 – Volume 1 Monographie relative aux huiles essentielles 323 P. Tome 2 – Volume 2 Monographie relative aux huiles essentielles 663 P.
- Aitken T.H.G., 1954.** The Culicidae of Sardinia and Corsica (Diptera). *Bull. Ent. Res.* 45: 437-494.
- Amira K., 2014.** Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires et l'effet d'un régulateur de croissance, RH-0345 sur le développement et la reproduction de *Culex pipiens*. Thèse de doctorat en Science. Université Badji Mokhtar, Annaba. 56p
- Amira K., Boudjelida H. & Farine J.P., 2013.** Effect of an insect growth regulator (halofenozide) on the cuticular hydrocarbons of *Culex pipiens* larvae. *African Entomology*. 21(2):
- Anonyme., 2005.** Mosquito borne diseases. National Center for Infectious Diseases, Centers for Disease Control, Atlanta, Georgia.
- Arya N., Chaurasia S., Shakya A., Bharti M. & Sahai N., 2011.** Efficacy of *Ageratum conyzoides* against the control of mosquitoes. *Inter. J. Pharm. Sci. Res.* 2(12): 3235-3237.
- Asressu K.H. & Tesema T.K., 2014.** Chemical and antimicrobial investigations on essential oil of *Rosmarinus officinalis* leaves grown in Ethiopia and comparison with other countries. *J. App. Pharm.* 6 (2): 132-142.

B

- 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, France.
- Barla A., Topcu G., Oksuz S., Tumen G. & Kingston D.G.L., 2007.** Identification of cytotoxic sesquiterpene from *Laurus nobilis* L. *Food. Chem.* 104 :1478-1484.
- Belkou H. Beyad. F. Taleb Bahmed . Z; 2005** - approche de la composition biochimique de la menthe verte (*Mentha spicata* L) dans la région de Ouargla ; mémoire des universités de Ouargla p 2.61.
- Beloued .A; 2001** – plantes médicinales d'Algérie . office des publications universitaires. Alger p 124.

- Benayad N., 2008.** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines moyen efficace contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Projet de recherche faculté des sciences de Rebat. p :63
- Bendali - Saoudi F., Gacem H. & Soltani N. (2013).** Morphometry of Pionauncata Koenoke, 1888 females (Hydrachnidae : Pionidae) collected from two protected sites in Annaba (Algeria). *Annals of Biological Research* 4(4), p. 23-28.
- Benkhedim Et Djedouani ; 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* ; 43p.
- Bouabida H., 2016.** Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiromesifène sur la reproduction de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*: aspects écologiques et biochimiques.
- Bouabida H., Djebbar F. & Soltani N., 2012.** Etude systématique et écologique des Moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Tébessa (Algérie). *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology*
- Bouabida H., Tine- Djebbar F. & Soltani N., 2016.** Bioactivité du spiromesifène sur deux espèces de moustiques. Editions Universitaires Européennes. ISBN : 978-3-8416-3980-6.
- Bouamer .A. Bellaghit. M. et Mollay Amara ; 2004-** Etude comparative entre l'huile essentielle de la menthe poivrée de la région de ourgla ; mémoire des univ ourgla p2.5.10.19.21.22.
- Bouaziz Et Al., 2011a. Bouaziz, H. Boudjelida And N. Soltani, 2011,** Toxicity and perturbation of the metabolite contents by a chitin synthesis inhibitor in the mosquito larvae of *Culiseta longiareolata*, *Scholars Research Library Annals of Biological Research*, 2 (3) :134-142
- Bouderhem 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*). Master Académique. Université Echahid Hamma Lakhdar d'El-Oued.
- Boudjellida. Ali Bouaziz, Nour Eddine Soltani, Thomassoïn guysmaghe 2005 effects of ecdysone agonist thalofenozide against culex pipiens page :115-123**
- Boudjellida H. , Aissaoui L., Bouaziz A., Smaghe G**
- Bouhouhou Et Chorfi, 2016.** Evaluation Des Effets d'un Biopesticide Sur *Drosophila Melanogaster*. Master. Université des Frères Mentouri Constantine. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. & Soltani N., 2008. Laboratory evaluation of bacillus thuringiensis (Vectobac WDG) against mosquito larvae, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Comm. Appl. Biol. Ghent*
- Boulkenafet .F; 2006** contribution à l'étude de la biodiversité des phlébotomes (diptéra : University psychodidae) et appréciation de la faune culicidienne (diptéra : culicidae) dans la région

de skikda. Présentation pour l'obtention du diplôme de magister en entomologie (option, application agronomique et médicale) 191p.

Bouzi O. et 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.

Boyer S, 2006. Résistance Métabolique des Larves de Moustiques aux Insecticides : Conséquences Environnementales. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Laboratoire d'Ecologie Alpine. 78 pages.

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

Briegel H, 1990 .Metabolic relationship between female body size reserves and fecundity of *Aedes aegypti*. *J. Insect. Physiol.* 36: 165 – 172.

Brunhes J. Geoffrou B ; Angel G ; et Hervy J.P ; 1999 –Les culicidae d'Afrique méditerranéenne. logiciel de l'Institut de Recherche pour le développement (I.R.D) ; montpellier ; ISBN 2-7099-1446-8.

Buyukguzel E., 2009. Evidence of oxidative and antioxidative responses by *Galleria mellonella* larvae to malathion. *J. Econ. Entomol.* 102:152-159.

C

Cédric P., 2008. Interactions entre insecticides non pyréthrinoides et répulsifs pour la lutte contre *Anopheles gambiae*: Mécanismes, efficacité et impact sur la sélection de la résistance. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat. Université de Montpellier I. *Formation doctorale : Parasitologie.*, 207 pages.

Chino H., Katase H., Downer R. C. & Hard Takahashi, K., 1981. Diacylglycerol carrying lipoprotein of hemolymph of the American cockroach: Purification, Characterization and Function. *J. Lipid. Res.* 22:7-15.

Cseke L.J., Kaufman P.B., Warber S., Duke J.A. et Brielmann H.L., 1999. Natural products from plants. *CRC Press LLC, Boca Raton, USA.*

Clement A.N. (1999) - The Biology of Mosquitoes: Sensory Reception and Behaviour. CAB International Publishing, p 576.

Choochote W., Chaiyasit D., Kanjanapothie D., Rattanachanpichai E., Jitpakdi A., Tuetun B., et pitasawat B., 2005. Chemical composition and anti mosquito potential of rhizome extract and volatile oil derived from *Curcuma aromatica* against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Journal of vector ecology.*, Vol.30, no.2

D

- Dannau M., Leenaers L., Amichot M. & Haubruge E., 2003.** Biomarqueurs d'exposition en milieu terrestre: impact d'hydrocarbures halogénés sur l'activité de trois systèmes enzymatiques chez *Drosophila pseudoobscura*. *Environnement, Risque et Santé*. 2 (6) :344 - 349.
- Demir.V.Guhan.T.Yagcioglu.A.K.Degimencioglu.A; 2004** –Mathematical modeling and the determination of some quality parameters of Air -dried bay leaves biosystems engineering – 88(3):325-335.
- Dharmagadda V.S.S., Naik S. N., Mittal P. K. Vasudevan P., 2005.** Larvicidal activity of *Tagetes patula* essential oil against three mosquito species. *Bioresource Technology*.96: 1235 - 1240.
- Dhadialla T.S., Retnakaran A. & Smagghe G. 2005.** Insect growth and development disrupting insecticides. In: Gilbert L. I.; Kostas I. And Gill S. (Eds.) *Comprehensive Insect Molecular Science*. Pergamon Press, New York, NY. 6: 55-116.
- Djghader N.E.H., Boudjelida H., Bouaziz A. & Soltani N., 2013.** Biological effects of a benzoylphenylurea derivative (Novaluron) on larvae of *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Advances in Applied Science Research*,
- Dris D., Tine-Djebbar F., Bouabida H. & Soltani N., 2017.** *Lavandula dentata* essential oils: chemical composition and larvicidal activity against *Culiseta longiareolata* and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *African Entomology* 25(2): 00–00 Sous Presse.

E

- Erler F, Ulug I, Yalcinkay B .(2006)** - Repellent activity of five essential oils against *Culex pipiens*- *Fitoterapia*. Vol.77.pp.491-494, Turkey.

F

- Field L.M., Blackman R.L., Tyler-Smith C. & Devonshire A.L., 1999.** Relationship between amount of esterase and gene copy number in insecticide-resistance *Myzus persicae* (Sulzer). *Biochem. J.*339: 737-742.

G

- Gannagé-Yared M., Khneisser I., Salem N., Gouyette A., Loiselet J. & Halaby G., 1998.** Glutathion et glutathion S-transférase sanguins et leucocytaires: relation avec la cholestérolémie chez des volontaires sains. *Annales de Biologie Clinique*.,56(3):321-327.
- George S.G., 1994.** Enzymology and molecular biology of phase II xenobiotic conjugating enzymes in fish. In: malins, D.C., Ostrander, G.K. (Eds.), *Aquatic. Toxicology, Molecul.Biochem and Cell.Perspect*. Lewis, Boca Raton, FL, pp 37-85.
- Ghosh,R.;** Banerjee, K., Mitra, A, Seaweed in the lower Gangetic Delta. In: See-know Kim (Ed), *Handbook of marine macroalgae: biotechnology and applied phycology*. Wiley-Blackwell.

Ghoumni .Z; Salhi .A; 2013 – Mémoire master académique _ étude de l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle extraite de la plante *Laurus nobilis* -2013 P 12.

Goldsworthy A.C., Mordue W. & Guthkelch, J.,1972. Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* 18:306-314.

Gouasmia et Bouchagoura, 2013. Etude insecticide des huiles essentielles de *Lavandula dentata* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*. Mémoire de Master. Université de Tébessa.

H

Habes D., Kilani-Morakchi S., Aribi N., Farine J.P & Soltani N., 2006. Boric acid toxicity to the German cockroach, *Blattella germanica*: Alterations in midgut structure, and acetylcholinesterase and glutathione S-transferase activity. *Pesticide Biochemistry and Physiology.* 84:17-24.

Habig W.H., Pabs M. J & Jakoby W. B.,1974. Glutathione S-Transferases: the first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J. Biol. Chem.* 249:7130-7139.

Hamaidia K., 2014. Biodiversité des moustiques de la région de Souk-Ahras et lutte chimique : aspects écologique, morphométrique, biochimique et toxicologique. Thèse de doctorat es Sciences en Biologie Animale, Université Badji Mokhtar, Annaba

Harold J.A & Ottea J.A.,2000. Characterization of esterases associated with profenofos resistant in the tobacco budworm *Heliothis virescens*(F). *Arch. Insect. Biochem. Physiol.* 45 : 47-59.

Haubruge E. & 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.

Haubruge E. & 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

Hellal .Z ; 2001 .Des propriétés antibactériennes et anti oxydants de certaines huiles essentielles extraites _Magistère université mouloud mammeri de tiziouzou p1.8.45.78.

I

Isman M.B.,2000. Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Prot.* 19: 603- 608.

J

Jacoby W.B. & Habig W.H.,1980. Glutathiontransferase. In: Jacoby, W.B (Eds). Enzymatic basis of detoxification. *Academic press. New York.* 2:63-94.

K

Kammenga, J.E., Dallinger, R., Donker, M.H., Kohler, H.R., Simonsen, V., Triebkorn, R. & Weeks, J.M. (2000). Biomarkers in terrestrial invertebrates for ecotoxicological soil risk assessment. In: warz, G.W. (Eds). *Rev. Environ. Contam. Toxicol.*, 175 Fifth Ave/New York/NY 10010/USA, Springer-Verlag., 146: 93 – 147 pp.

Keely L.L.,1985.Physiology and biochemistry of Fat body, pp. 211 – 248. In GA Kerkutet L.I. Gilbert (eds): Comprehensive Insect Biochemistry, physiology and pharmacology, vol. 3, Pergamon Press, oxford.

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 de Master. Université de Tébessa.

Kilby B. A.,1963.The biochemistry of the insect. *Fact. Adv. Insect. Phys.* 1:112-174.

Kumar A.N., Murugan K., Shobana K. &Abirami D. 2013. Isolation of *Bacillus sphaericus* screening larvicidal, fecundity and longevity effects on malaria vector *Anopheles stephensi*. Academic Journals. Sci. Res. Essays, 8(11): 425-431.

L

Lagadic, L., Caquet, T., Amiard, JC &Ramade, F. (1997).Biomarqueurs en écotoxicologie« Aspects fondamentaux ». Masson. Paris.

Landry S. V., De Foliart G.R. &Hogg D. B.,1988.Adult body size and survivorship in a field population of *Aedes triseriatus*. *J. Am. Mosq. Contr. Ass.* 4: 121 – 128.

Lee C.Y., Hemingway J., Yap H.H. & Chong N.L.,2000.Biochemical characterization of insecticide resistance in German cockroach, *B. germanica*, from Malaysia. *Medical Veterinary Entomol.*14:11-18.

Limoe M., Enayati A. A., Ladonni H., Vatandoost H., Baseri H. &Oshaghi M.A., 2007.Various mechanisms responsible for permethrin metabolic resistance in seven field-collected strains of German cockroach from Iran, *B. germanica*(L.)(*Dictyoptera: Blattellidae*). *Pest.Biochem. Physiol.*87:138-146.

Lounaci Z, 2003 – Biosystématique et bioécologie des Culicidae (Diptera, Nematocera) en milieu rural et agricole. Thèse Magister, Inst. nati. agro, El Harrach, 324 p.

Lounaci Z. et Doumandji S, 2012 – Biodiversité des Culicidae (Diptera, Nematocera) d'intérêt médical et vétérinaire du marais de Réghaia et Tiziouzou (Algérie). 3 ème Congrès Franco-Maghrebain Zoo. Ichtyol, 6-10 novembre 2012, Marrakech, Maroc.

M

Mahler H et Cordes E., 1968.Biological chemistry, Harper and Row.

Meghlaoui Z.Mansouri K., 2010.Effet d'un bio-insecticide, le spinosad sur *Blattella germanica* (*Dictyoptera: Blattellidae*): Activité spécifique de la GST et du GSH. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master Université de Badji Mokhtar. Annaba., pp 7-21.

Maiza A., Aribi N., Smaghe G., Kilani-Morakchi S., Bendjedid M. & Soltani N. 2013. Sublethal effects on reproduction and biomarkers by spinosad and indoxacarb in cockroaches *Blattella germanica*. *Bull. Insectol.*, 66 (1): 11-20.

Messaoudi .S ;2008 –Les plantes médicinales .troisième édition ; DAR ELFIKR.

Morakchi S., Maïza A., Farine J.P., Aribi, N. & Soltani N., 2005. Effects of a neonicotinoid insecticide (acetamiprid) on acetylcholinesterase activity and cuticular hydrocarbons profile in german cockroaches. *Comm. Appl. Biol. Sci. Ghent. University.* 70 (4):843-848.

O

Oubrahimi.A;2011 _Thèse en vue de l'obtention d'un diplôme de doctorat (LMD) –Evaluation de l'effet antimicrobien et anti oxydant de trois plantes aromatique (*Laurus nobilis* L ; *Ocimum basilicum* L et *Rosmarinus officinalis* L) de l'est algérien p 11.

Oudainia Wafa, 2015 Etude bioécologique et systématique des Culicidae de la région d'Oum El Bouaghi. Effet de la température sur l'agressivité et la biologie de *Culex pipiens*. 183page.

Ozmen N., Sener, S., Mete A et Kucukbay H., 1999. *In vitro* and *In vivo* acetylcholinesterase inhibition effect of new class of organophosphorus compounds. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18:241-24.

P

Parapanthadara L., Promtet N., Koottathep S., Sombon P. & Ketterman A.J., 2000. Isoenzymes of glutathion S-transferase from mosquito *Anopheles* species B: the purification, partial characterization and interaction with various insecticides. *Insect. Biochem. Mol Biol.*, 30: 395-403.

Pasteur N. & Raymond M., 1996. Insecticide resistance genes in mosquitos: their mutations, migration and selection in field population. *Journal of Heredity.* 87: 444-449.

Paul .R ; 2009- Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français .EID méditerranée p : 1-11.

Poupardin R. 2011 - interactions gènes – environnements chez les moustiques et leur impact sur résistance aux insecticides _Thèse pour obtenir le grade de docteur de l'université de Grenoble spécialité : biodiversité ; écologique et environnement p : 275. professionnels de la santé et de la médecine sous la direction du docteur Pierrick Horde p : 1.

PETERSON.E.L ; 1980 - A limit cycle interpretation of a mosquito circadian oscillator .*J. Theor Biol.* 84 (281-310) .

Prajapati V., Tripathi A.K., Aggarwal K.K. & Khanuja S.P.S., 2005. Insecticidal, repellent and oviposition-deterrent activity of selected essential oils against *Anopheles stephensi*, *Aedes aegypti* and *Culex quinquefasciatus*. *Bioresource Technol.* 96:1749–1757.

Pugazhvendan S.R.&Elumali K.,2013. Larvicidal activity of selected plant essential oil against important vctormosquitoes:Dengue Vector, *Aedesaegypti*(L.), Malarial Vector, *Anopheles stephensi*(Liston) and Filarial Vector, *Culexquinquefasciatus*(Say) (Diptera: Culicidae), Middle-East Journal of Scientific Research.18(1):91-95.

Pavela R. 2009. Larvicidal property of essential oils against *Culexquinquefasciatus* Say(Diptera: Culicidae). Industrial Crops and Products, 30: 311–315.

Q

Quezel P. et Santa S.(1962) - Nouvelle flore de l'Algérie et des regions désertiquesméridionales .Ed C.N.R.S. Tome I. 565 p.

R

Rihimi N.; Alouani A.&Soltani B., 2011. Efficacy of azzadiracthin against Mosquito larvae *Culex pipiens*(Diptera: Clicidae) under Laboratory conditions .European journal of scientific research

Rehimi .N et Soltani.N;1999 – Laboratory evatuation of alsystin a chitin synthesis inhibitor ;against.*Cx; pipiens L* (diptera:culicidae) effects on development and cuticule secretion .J.Appl. Entomol 123: 437_441.

Rivera .D Et Obon.C ; 1995- the ethnopharmacology of mederia and portosanto .

Rufeingier C., Pasteur N., Lagnel J., Martin C. &Navajas M.,1999.Mechanisms of insecticide resistance in the aphid *Nsonoviaribisnigri*(Mosley) (Homopetra: Aphididadae) from France. *Insect. Biochem. Mol. Biol.*29: 385-391.

S

Saci-Messiad. R., 2006. Effet d'un régulateur de croissance, l'azadirachtine chez *Blattellagermanica* (Dictyoptera: Blattellidae): physiologie, activité enzymatique et comparaison de la détoxification avec d'autre groupes de pesticides. Mémoire pour l'obtention du Diplôme de Master Université de Badji Mokhtar- Annaba. 94 p.

Sahbi F.et Aouni M., 2015. Impact des huiles essentielles de *Lavanduladentata* sur la biochimie, la morphométrie chez une espèce de moustique *Culex pipiens*. Mémoire de Master. Université de Tébessa. p: 28-32.

Salhi N., Goumni S., Mehani M., et Terzi V., 2015.Evaluation de l'activité antifongique in vitro des huileessentielles de *LaurusNobilis* L. sur la croissance mycéliennede *FusariumSporotrichoide*,Vol.8 ,n°2,34-44.

Sayada N.&Messai S.,2015. Etude de l'effet des huiles essentielles d'une plante larvicide *Ocimum basilicum* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens*: aspect morphométrique et biomarqueurs. Mémoire de Master. Université de Tébessa.,37p.

- Scharf M.E., Neal J.J.& Bennett G.W., 1998.**Changes of insecticide resistance levels and detoxication enzymes following insecticide selection in the German cockroach, *B. germanica*. *Pest.Biochem. Physiol.* 40:150-156.
- Scharf M.E., Neal J.J.& Bennett G.W., 1998.**Changes of insecticide resistance levels and detoxication enzymes following insecticide selection in the German cockroach, *B. germanica*. *Pest.Biochem. Physiol.* 40:150-156.
- Scott J.G., 1999.**Cytochrome P450 and insecticide resistance.*Insect.Biochem. Mol. Biol.* 29: 757-777.
- Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyneck C., New Hall. &Feidman L., 1966.** A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from a subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, 19 : 415-528
- Siegfried B.D.&Scharf M.E.,2001.**Mechanisms of organophosphate resistance in insect. Department of Entomology.*University of Nebraska Lincoln NE, USA.* p: 269-291.
- Sifi K.,2009.**Biosurveillance de la qualité des eaux du Golf d'Annaba : croissance, composition biochimique et dosage de biomarqueurs du stress environnemental chez *Donax trunculus* (Mollusque : Bivalve). Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Annaba., 229 p.
- Smallfield B., 2001.**Introduction to growing herbs for essential oils, medicinal and culinary purposes. *Crop & Food Research.*45:4.
- Soderlund D.M., 1997.**Molecular mechanisms of insecticide resistance. In situ V (Ed). Molecular mechanisms of resistance to agrochemicals, Chemistry of plant protection. *Springer, Berlin Heidelberg New York.*,13: 21-56.
- Sohail A., Wilkins R.M.& Mantel D., 1998.**Comparison of proteolytic enzyme activities in adults of insecticide resistance and susceptible strains of the housefly *M. domestica*(L.). *Insect.Biochem.Mol. Biol.* 28:629 - 639.
- Sohail A., Wilkins R.M.& Mantel D., 1998.**Comparison of proteolytic enzyme activities in adults of insecticide resistance and susceptible strains of the housefly *M.domestica*(L.). *Insect.Biochem.Mol. Biol.* 28:629 - 639.
- Souissi S., Forget-Leray J., Budzinski H., Dauvin J.-C., Schmitt F. G., Hwang J.S.& Eunmi Lee C.,2008.** Synthèse des travaux réalisés sur le modèle biologique *Eurytemora affinis* dans Seine-Aval 3. UMR CNRS 8187 LOG. 49 + 45, Rapport Seine-Aval.
- Steel J.E.,1981.**The role of carbohydrate metabolism in physiological function.Pp: 103-133. IM R. G. H. Downer (eds): Energy metabolism insects plenum press, New York

Sturm A., Worgam J., Segner H.&Liess M., 2000. Different sensitivity to organophosphate of acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from three spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*): application on biomonitoring. *Environ. Toxicol. Chem.* 19:1607 – 1617.

Sugumaran M. 2010. Chemistry of cuticular sclerotization. *Advances in insect Physiol.*, 39:151-209.

T

Taylor M. & Feyereisen R., 1996. Molecular biology and evolution of resistance to toxicants. *Mol. Biol. Evol.* 13: 719 – 734.

Tine-Djebbar F., Bouabida H. & Soltani N. (2008). Caractérisation morphométrique et biochimique de certaines espèces de moustiques. 19^{èmes} Journées Biologiques ; 3^{ème} Congrès international de Biotechnologie. Tunisie, 24 – 27 mars 2008. Communication affichée

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. 168 pages.

Todorova T., 2007. Glutathione S-transferases and oxidative stress in *Saccharomyces cerevisiae*. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université de Louis Pasteur, Strasbourg et de l'Université de Sofia St. Kliment Ohridski., 160p.

Tomita T., Hidoh O. & Kono Y., 2000. Absence of protein polymorphism attributable to insecticide-insensitivity of acetylcholinesterase in the green rice leafhopper, *Nephotettix cincticeps*. *Insect. Biochem. Mole. Biol.* 30: 325-333.

Traboulsi A.F., Taoubi K., El-Haj S., Bessiere J.M. & Rammal S., 2002. Insecticidal properties of essential plant oils against the mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera: Culicidae). *Pest. Manag. Sci.* 58:491–495.

V

Van Handel E., 1984. Metabolism of nutrients in the adult mosquito. *Mosq. News.* 44 : 573 – 579.

Van Hendsen H. C. & Law J.H., 1989. An insect transfer particle promotes lipid loading from fat body to lipoprotein. *J. Biol. Chem.* 264: 287-292.

Varo I., Navarro J.C., Amat F. & Guilhermino L., 2001. Characterization of cholinesterases and evaluation of the inhibitory potential of chlorpyrifos and dichlorvos to *Artemia salina* and *Artemia parthenogenetica*. *Chemosphere.* 48:563 – 569.

Vatandoost J., Zomorodipour A., Sadeghizadeh M., Aliyari R., Bos M. H. & Ataei F., 2012. Expression of biologically-active human clotting factor IX in drosophila S2 cells: γ -carboxylation of a human vitamin K-dependent protein by the insect enzyme. *Biotechnol Progr.* 28:45–51.

Viarengo A., Lowe D., Bolognesi C., Fabbri E. & Koehler A., 2007. The use of biomarkers in biomonitoring: a 2-tier approach assessing the level of pollutant-induced stress syndrome in sentinel organisms. *Comp. Biochem. Physiol.* 146 C: 281- 300.

Villeneuve Et Desire ,1965-Zoologie bordas 1ere édition. Pages 323.

W

Walied M. A., Abou-Elnaga Z. S., Nayyad S. & Al-lihaibi S.,2010. Insecticidal Metabolites from the Green Alga *Caulerparacemosa*. *CLEAN – Soil, Air, Water*, 38(5-6):548-557.

Watson Et Dallwitz ; 1992 ; Richteretwerff ; 1996 ; Mabberley ; 1997 ; Steven ;2001 – Angiosperm phylogeny website.

Weckberker G. & Cory J. G.,1988. Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer Letters*. 40. 257–264.

Wiens A. Wet; Gilbert T.1967. Regulation of carbohydrate mobilization and utilization in *Leucophacomaderae*. *J. Insect. Physiol.* 13: 779-794.

Wyatt G.R.,1967. The biochemistry of insect haemolymph. *A. Rev. Ent.* 6: 75-102.

Y

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.

Yahyaoui .L.N. ;2005 ; extraction analyse et evaluation de l'effet insecticide des huiles essentielles de *Menthe Spicata* L. sur *Rhyzoperlhudominicu* (f) (coleoptera :bostrychidae) et *tribuimconfusme* (DUV) (coleoptera :tenebrionidae) thèse de magistère en science agronomiques option ecologie INA ;EL .HARRACH

Yekhlef. G. ;2010 – Etude de l'activité biologique des extraits de feuilles de *thymus vulgaris* L et *laurusnobilis*– thèse magistère université el hadj lakhdar –batna p 78.

Z

Zantar S., Chahid K., Laglaoui A. & Ennabili A., 2015. Antioxidant-enzyme reaction to the oxidative stress due to alpha-cypermethrin, chlorpyrifos, and pirimicarb in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Environmental Science and Pollution Research*. 22: 18115–18126.

Zayyad N., Farah A. et Bahhou J.,2014. Analyse chimique et activité antibactérienne des huiles essentielles des trois espèces de *Thymus*: *Thymus zygis*, *T. algeriensis* et *T. bleicherianus*. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*. 83: 118 – 132.

Zhu K.Y., Dowdy A.K. & Barker J.E., 1999. Detection of single-base substitution in an esterase gene and its linkage to malathion resistance parasitoid *Anisopteromalus calandrae* (Hymenoptera: Pteromalidae). *Pest. Sci.* 55:398-404.

Zoubiri S. &Baaliouamer A. 2011.Potentiality of plants as source of insecticide principles.J.Saudi Chemical Society xxx: xxx–xxx.