

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L’enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université de Tébessa

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

Département de la Biologie Appliquée

**MEMOIRE**

Présente en vue de l’obtention du diplôme de MASTER

**En :** Sciences Biologiques

**Spécialité :** Biologie Moléculaire et Cellulaire

**Effet d'huile essentielle de *Lippia citriodora* à l’égard d’une espèce de moustique *Culex pipiens* :**

**Aspect Toxicologique**

**Présenté** **Par** :

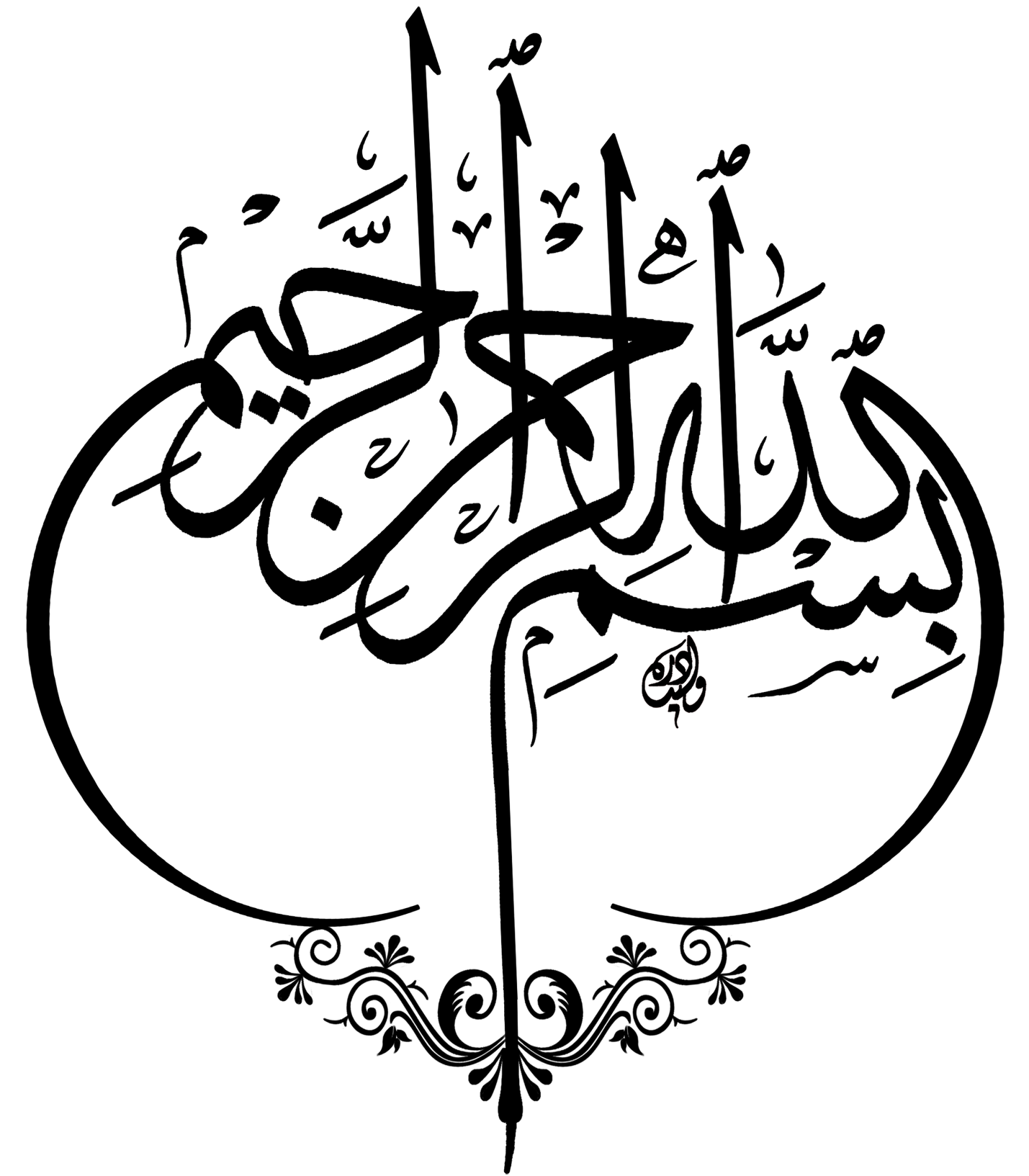
BOUGHAMBOUZ Rahma HAFALLAH Basma

**Devant le jury :**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Mme : BELGUENDOUZ Karima | MAA | Université de Tébessa | Présidente |
| Mme : DRIS Djemâa | MAA | Université de Tébessa | Rapporteuse |
| Mr : BELAKHEL Amar | MAA | Université de Tébessa | Examinateur |

Date de soutenance : **26/05/2018**

**Note :** 16 **Mention :** Très Bien





وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة تبسة

**كلية علوم الطبيعة والحياة**

تصريح شرفي

أنا الممضية أسفله الأستاذة: **بلقندوز كريمة** رئيسة في لجنة مناقشة مذكرة التخرج **للطالبتين**: حفا الله بسمة وبوغمبوز رحمة

المعنونة ب: **Effet d'huile essentielle de *Lippia citriodora* à l’égard d’une espèce de moustique *Culex pipiens*: Aspect Toxicologique**

تحت اشراف الأستاذة: **دريس جمعة.**

أصر ح بأنني اطلعت على المذكرة وقد تم تصحيح ما كان فيها من أخطاء.

تبسة في: 04/06/2018

إمضاء رئيسة اللجنة: إمضاء المؤطرة:

**Remerciements**

Au terme de ce travail, nous tenons à remercier DIEU le miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d’achever ce travail.

Nous tenons à remercier vivement notre promoteur Mme « **DRIS** **Djemaa** », qui nous a proposé le thème de ce projet, pour sa disponibilité, ses précieux conseils ses orientations et encouragements, tout au long de notre formation. Nous tenons à la saluer pour sa générosité et son ouverture d’’esprit qui ont su me laisser une large marge de liberté pour mener à bien ce travail.

*Nous remercions vivement* Mme **BELGUENDOUZ** **Karima** pour *d’avoir accepté de présider ce jury.*

Nos vifs remerciements aux Mr **BELAKHEL Amar** qui nous ont honorés en acceptant d’’examiner ce modeste travail.

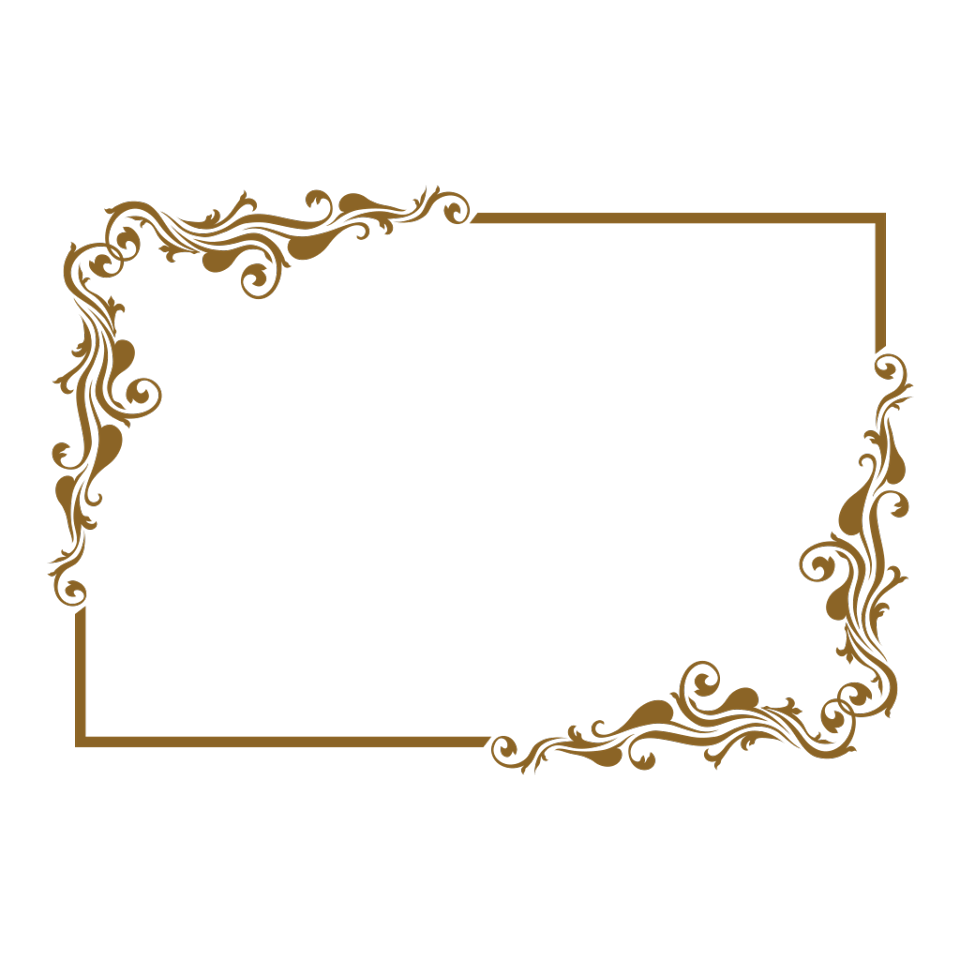
Profondément merci

Mme **SEGHIR** **Hanan** et **BOUABIDA** **Hayette** pour ces encouragement, et de sa disponibilité ainsi que pour s’aide et ses conseils.

Nous tenons à exprimer nos remerciements à tous les enseignants qui ont participé à notre formation, de près ou de loin.

*Aux équipes des laboratoires de faculté des Sciences de la nature et de la vie, de l’Université de Tébessa**pour leurs sympathiques et consistances durant notre préparation de mémoire.*

 Nous exprimons toute notre gratitude à tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation pratique de ce manuscrit. Nous disons, ici, combien nous avons apprécié leur aide et leur amabilité.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

Mon père (Smail) et mes mères (Louiza et Leila) qui me donnent l’espoir pour continuer ma voie du réussite, et qui sacrifient par tout pour céder à mes demandes *que Dieu vous garde pour moi.*

Mes chers frères : Mouhamed, Nacer et Taki.

Mes chères Soeurs : Sabrina, Zina, Soumia, Leila, Rachida, Selma, Saida, Zahra, Souad, Amel, et Mebarka.

Toute la famille Boughambouz sans exception.

Ma fidèle binôme Basma et mes amies « Nadjette, Sabrina,

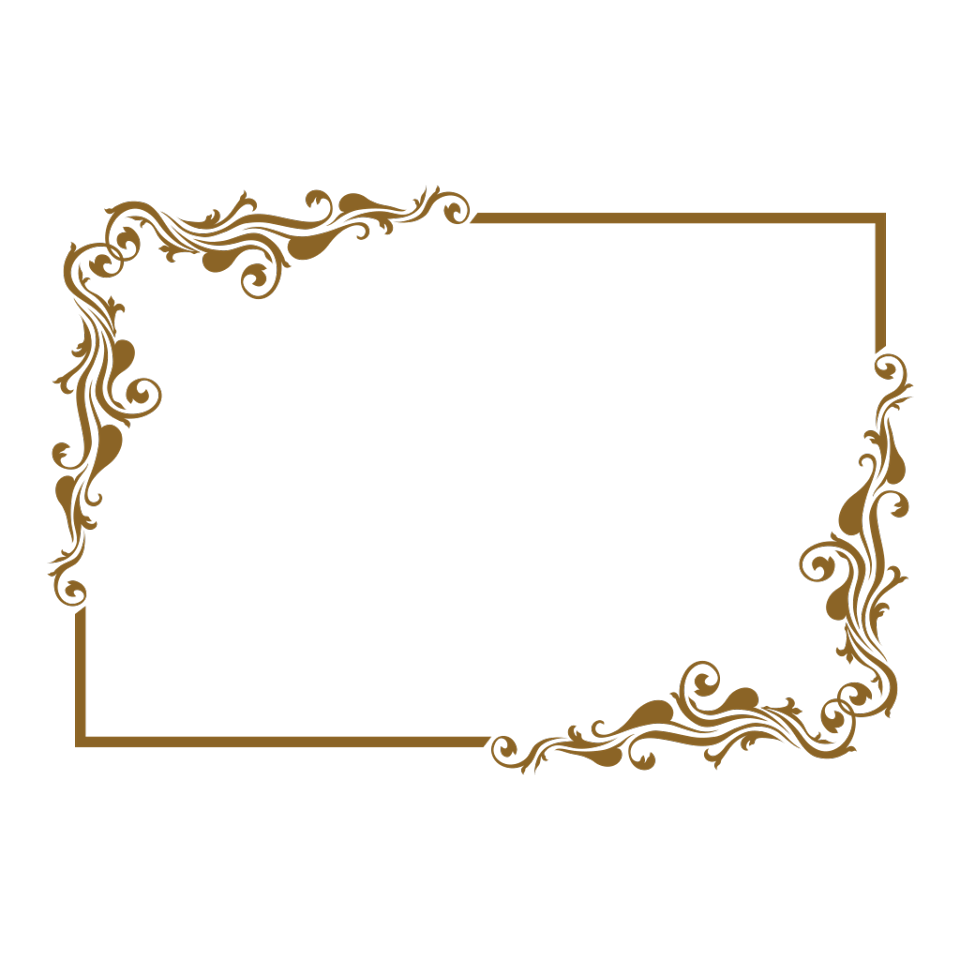
Takwa, Fatiha, Moufida, Sana, Amira, Bouthaina et Fadila

Pour tous les sentiments et les moments qu’on a partagés.

Et bien sûr à tous mes camarades de la 2 e année

Master LMD, Biologie Moléculaire 2018.

Rahma



Dédicace

*Du profond de mon cœur, Je dédie ce modeste travail Aux êtres les plus chers :*

*Mes très chers Parents « Mabrouka et Boubaker » pour l’amour inconditionnel qui m’accompagnent depuis toujours, pour le soutien dans mes choix, les tendres encouragements et les grands sacrifices que vous m’avez apporté durant ces années de formation….Merci pour votre présence, que Dieu vous garde pour moi.*

*À mes sœurs pour leur Soutien, patience et leurs sentiments d’amour aux moments les plus difficiles. Je vous souhaite plein de succès de joie et de bonheur, qui dieu vous garde et illumine votre chemins.*

*À mes frères qui le dieu te garde, je souhaite tous le bonheur qui vous méritent.*

*A tout Ma famille pour l’amour et le respect qu’ils m’ont toujours accordé.*

*A tous mes amies et surtouts : Nassima, Bata, Samira,Nour, Rahma, Sana, Khadija, Widade, Fadila, Amira, Sabrina, Souad, Houria, Nadjette et Bouthaina. Pour une sincérité si merveilleuse… jamais oubliable, en leur souhaite tout le succès… tout le bonheur.*

*A tous mes camarades de promotion pour ces années passées ensemble,*

*Dans les meilleurs moments comme dans les pires. Ils vont trouver ici le témoignage*

*D’une fidélité et d’une amitié infinie.*

*À tous ceux qui m'aiment….*

*À tous ceux ou celles qui ont croisé mon chemin.*

Basma

Résumés

**Résumé**

La lutte par les insecticides végétaux est très recommandée, parmi les moyens mis en œuvre par les plantes pour se défendre contre leurs déprédateurs.

Dans ce contexte, ce travail a pour but d’évaluer l’activité larvicide des huiles essentielles de *Lippia citriodora* chez une espèce de moustique, *Culex pipiens* la plus répandue dans la région de Tébessa.

L’extraction d’huile essentielle réalisée par hydro distillation a donné un rendement de 0,76±0,12% de la matière sèche de la plante.

Un test toxicologiquea été déterminé, qui a permis d’établir, grâce à une analyse de probit, Les concentrations létalesCL25, CL50 et CL90 sur L3 et L4 de *Culex pipiens* qui sont *respectivement* (10,19 ; 18,33 et 59,45ppm) et (28,71 ; 36,2 et 57,53 ppm).

L’huile essentielle extraite de *Lippia citrodora* manifeste une toxicité à l’égard des larves de Troisième et quatrième stade de *Culex pipiens,* avec une relation concentration-réponse.

**Mots clés :** Bioinsecticides, *Culex pipiens*, huiles essentielles, *Lippia citriodora*, toxicité.

**Abstract**

The fight by botanical insecticides is very recommended, among the means implemented by the plants to defend oneself against their depredators.¶

In this context, the purpose of this work is to evaluate the larvicidal activity of *Lippia citriodora* of essential oil against the species of mosquito, *Culex pipiens* most widespread in the area of Tébessa.¶

The extraction of essential oil realized by hydro distillation gave an output of (0,76±0,12%) of the dry matter of the plant.¶

A toxicological test was determined which, by means of a probits analysis, established the lethal concentrations CL25, CL50 and CL90 on L3 and L4 of *Culex pipiens* whiche are respectively (10,19;¶18,33 and 59,45ppm) and (28,71;¶36,2 and 57,53 ppm).

¶The essential oil of *Lippia citrodora* exhibits a toxicity to with regard to ¶Third and fourth instar larve of *Culex pipiens,* with a concentration-reponce relationship.¶

**Key words:** B¶Bioinsecticides, *Culex pipiens*, essential oils, *Lippia citriodora*, toxicity.

**ملــخـــص**

المكافحة بالمبيدات الحشرية النباتية موصى بها كثيرا، فهي من بين الوسائل المتبعة من طرف النباتات للدفاع عن نفسها ضد أعدائها.

في هذا السياق يهدف هذا العمل إلى تجريب مفعول الزيوت الأساسية المستخلصة من نبات اللويزة ضد نوع من البعوض (*Culex pipiens*) الأكثر انتشارا في ولاية تبسة.

استخراج الزيوت الأساسية بواسطة تقنية التقطير بالبخار أعطت مردودا مهما يقدر ب %12,0± 76,0 بالنسبة للمادة النباتية الجافة.

(Cl90 و Cl 50،CL25) بتحديد الجرعات المميتة probit تم تقييم الجانب السمي وقد سمح تحليل

( ppm19,10؛ 33,18؛ 45,59) و( ppm71,28؛2,36؛ 53,57) لليرقات (3L) (4L) على التوالي.

الزيوت الأساسية المستخلصة من نبات اللويزة توثر بتناسب طردي للجرعة.

**الكلمات المفتاحية**: مبيد حشري حيوي*، Culex pipiens*، نبات اللويزة، الزيوت الأساسية، السمية.

**Liste des tableaux**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Tableau N° | Titre | Page |
| 01 | Caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles de *L. citriodora* | **18** |
| 02 | Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 3 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m±SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). | **18** |
| 03 | Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 3 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m±SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%). | **19** |
| 04 | Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 3 nouvellement escuviées de *Cx pipiens* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiances (95%). | **19** |
| 05 | Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m±SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). | **20** |
| 06 | Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m±SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%). | **20** |
| 07 | Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement escuviées de *Cx pipiens* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiances (95%). | **21** |

**Listes des figures**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Figure N° | Titre | Page |
| 01 | Mentum de *Culex pipiens* (Gr : X 300) | **04** |
| 02 | Ecailles du 8ème segment abdominal de *Culex pipiens* (Gr : X 200) | **04** |
| 03 | Siphon de *Culex pipiens* (Gr : X10) | **04** |
| 04 | Tergites abdominaux de *Culex pipiens* (Gr : X 15) | **04** |
| 05 | Cycle de développement de *Culex pipiens* | **05** |
| 06 | Œufs de *Culex pipiens* | **06** |
| 07 | larves de *Culex pipiens* | **07** |
| 08 | La nymphe de *Culex pipiens* | **07** |
| 09 | Culex adulte ou imago (femelle en haut à droite, mâle en bas à droite) | **08** |
| 10 | Site d’élevage de moustique | **09** |
| 11 | Feuilles de *Lippia citriodora* (photo personnelle) | **10** |
| 12 | Montage de l’hydro distillateur de type Clevenger | **16** |
| 13 | Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 3 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m±SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de tukey. | **19** |
| 14 | Effets de l’HE de *Lippia citriodora*, Appliquée sur les larves 3 de *Culex pipiens* : courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction de logarithme des doses. R2 =%. | **19** |
| 15 | Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m±SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de tukey. | **21** |
| 16 | Effets de l’HE de *Lippia citriodora*, Appliquée sur les larves 4 de *Culex pipiens* : courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction de logarithme des doses. R2 =95%. | **21** |

|  |  |
| --- | --- |
| Table de matière |  |
| Résumé |  |
| Abstract |  |
| ملخص |  |
| Remerciement |  |
| Dédicaces |  |
| Liste des tableaux |  |
| Liste des figures |  |
| 1. Introduction | **01** |
| 2. Matériels et Méthodes…………………………………………………........................... | **03** |
| 2.1. présentation de l’insecte *(Culex pipiens*) …………………………………………………. | **03** |
| 2.1.1. Position systématique…………………………………………………………........ | **04** |
| 2.1.2. Cycle de développement ……………………………………………..………........ | **05** |
| 2.1.3. Facteur de développement……………………………………………..…………... | **08** |
| 2. 2. Technique d’élevage…………………………………………………….…………… | **08** |
| 2. 3. Présentation de la plante *(Lippia citriodora)*…………………..……………………. | **09** |
| 2.3.1. Position systématique…………………………………………………….…………. | **10** |
| 2.4. Huiles essentielles………………………………………………………….………… | **11** |
| 2.4.1. Définition des huiles essentielles…………………………………………........ | **11** |
| 2.4.2. Caractéristiques et propriétés physiques………………………………………. | **11** |
| 2.4.3. Localisation des huiles essentielles dans les plantes ………………………….. | **11** |
| 2.4.4. Rôle des huiles essentielles chez les plantes…………………………............... | **12** |
| 2.4.5. Activités biologiques des Huiles essentielles………………………………….. | **12** |
| 2.4.6. Composition chimique d’huile essentielle du *Lippia citriodora……*……....…....... | **14** |
| 2.4.7. Extraction et rendement d’HE de *L. citriodora* par hydro distillation…..……..... | **15** |
| 2.5. Test de toxicité……………………………………………………….….…………… | **16** |
| 2.6. Analyse statistique………………………………………………………………… | **17** |
| 3. Résultats………………………………………………………………………………. | **18** |
| 3.1. Rendement en huile essentielle de *Lippia citriodora…*………………….……....... | **18** |
| 3.2. Essai insecticide d’huile essentielle de *Lippia citriodora*……………….………… | **18** |
| 4. Discussion………………………………………………………………….………….. | **22** |
| 4.1. Rendement en huile essentielle…………………………………………..……....... | **22** |
| 4.2. Essai insecticide d'huile essentielle de *Lippia citriodora* ………….……...……… | **22** |
| Conclusion et perspective………….……...………………….……...……………………. | **24** |
| Références bibliographiques………….……...………………….……...……………………. | **25** |

**Tables des matières**



Introduction

**INTRODUCTION**

Les invertébrés, représentent plus de 95% des espèces du règne animal, sont présents presque dans tous les types d'écosystèmes et constituent une part très importante de la biodiversité des milieux terrestres et aquatiques (Wilson et *al*., 1999). L'embranchement des Arthropodes est celui, qui a le plus de succès sur notre planète. Cet embranchement est de très loin celui qui possède le plus d’espèce et le plus d'individus de tout le règne animal (80%) des espèces connues, soit plus d’un million d’espèces dont les trois quarts sont des insectes (Morin, 2002). C’est grâce à leur capacité et leur compétence vectorielle, que les arthropodes assurent la transmission de nombreuses maladies d’origine parasitaire (protozooses, helminthiases), bactériennes (rickettsioses) et virales (arboviroses) (Chabasse, 2001; Parola, 2005).

Les moustiques appartiennent à la classe des Insectes, à l’ordre des Diptères, et de la famille des Culicidés, ils sont trouvés partout autour du globe, excepte dans les zones gelées en permanence (Marquardt et *al*., 2005). A ce jour, 3530 espèces de moustiques sont décrites au niveau mondial répartis en deux sous familles : les Anophelinae (477 espèces), les Culicinae (3053 espèces) et 44 genres (Bercker et *al.,* 2003). Ces moustiques présentent une grande importance dans le domaine médical et en particulier en épidémiologie, du fait qu’ils peuvent être des vecteurs de plusieurs agents pathogènes causant des maladies infectieuses graves et parfois mortelles (El Joubari et *al.,* 2014)*,* notamment la Malaria avec 300-500 millions de cas infectés et 1,5 à 2,7 million de morts par année, la Filariose lymphatique avec 120 cas, la dengue avec 50 millions de cas et la Fièvre jaune (plus de 30 000 décès/an dont 95% en Afrique) (Nuttall, 1997; Govindarajan, 2010), la maladie de chaggas avec 16-18 millions de cas infectés et 45000 cas de morts par an, l’onchocercose avec 18 millions de cas d’infections et 270000 cas d’aveuglement et enfin, la leishmaniose avec 12 millions de cas infectés (Nuttall, 1997). Ainsi que d’autres, ont été un problème important pour presque tous les pays tropicaux et subtropicaux, et actuellement il n’y a aucun vaccin efficace contre la plupart de telles maladies.

La lutte contre les moustiques a toujours été une préoccupation majeure pour se protéger contre l’agression de ces insectes hématophages. C’est un outil essentiel de la prévention contre les maladies à vecteurs et de contrôle des insectes nuisibles. C’est même dans certains cas le seul disponible (Guillet et *al.,* 1997). Pour lutter activement contre les Culicidés; plusieurs méthodes ont été prises dans le monde, comprenant la lutte chimique et la lutte biologique (Berliner, 1915). La lutte anti-moustique par des insecticides est très efficace sur les moustiques culicidés, mais présente plusieurs inconvénients. En effet, ils peuvent être, en plus d’un effet néfaste sur la vie aquatique, à l'origine de divers problèmes environnementaux (Aouinty et *al*., 2006), notamment le phénomène de la résistance des insectes aux insecticides (Cui et *al*., 2007; Daaboub et *al*., 2008; Kioulos et *al.*, 2013; El ouali lalami et *al*., 2014).

Subséquemment, dans ces dernières décennies, la protection de l’environnement s’impose de plus en plus comme une préoccupation mondiale majeure; la lutte biologique peut donc faire intervenir en utilisant des divers agents (Guilli et *al*., 2009); par l’utilisation rationnelle de leurs ennemis naturels (Lacey et Orr, 1994) des bactéries : *Bacillus thuringiensis var.* *israelensis* et *Bacillus sphaericus,* du poisson larvivore *Gambusia affinis* (Coykondall, 1980; Bendali et *al.,* 2001), mais celle qui retient l’attention des chercheurs à l’heure actuelle est la lutte biologique par l’utilisation de substances naturelles d’origines végétales qui sont les métabolites secondaires (huile essentielles, flavonoïdes, tanins…) .

Ainsi plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées.

Les espèces de la famille de *Meliaceae, Rutaceae, Asteraceae, Lamiaceae* et *Canellaceae* sont les principales familles les plus prometteuses comme source de bioinsecticide (Benayad, 2008).

Depuis 2006, de nombreuses études ont été réalisées sur l’effet répulsif des huiles essentielles ou sur leur effet larvicide. La plupart de ces études ont mis en évidence un effet larvicide et/ou répulsif sur les moustiques, et notamment les Culicidés (Bastien, 2008).

*Culex pipiens* est le moustique le plus fréquemment rencontré dans notre pays, membre de la famille des Culicidés, il se développe sur tous les continents, excepte l’antarctique, et cause de nombreuses nuisances (Resseguir, 2011).

Pour cela, notre étude a pour but de tester l’effet insecticide de l’huile essentielle de *Lippia citriodora* à l’égard d’une espèce de moustique, *Culex pipiens*, par la détermination des concentrations létales CL25, CL50 et CL90 (Concentrations létale de 25%, 50% et 90% de la population) sur les larves du troisième, quatrième stade nouvellement exuviées de *Culex pipiens.*

Matériels et Méthodes

**2. Matériels et Méthodes**

**2.1. Présentation de l’insecte (*Culex pipiens*)**

La famille des Culicidae se divise en trois sous-familles, les Toxorhynchitinae, les Anophelinae et les Culicinae; la sous-famille des Toxorhynchitinae qui est formée d’un seul genre n’est pas représenté en Europe occidentale (Matille, 1993; Duchauffour, 1976) ni en Afrique méditerranéenne (Brunhes et *al*, 1999). Environ 3000 espèces des Culicidae sont connues dans le monde (Knight et Stone, 1977). En Algérie seules les deux sous-familles Culicinae et Anophelinae sont représentées avec six genres : *Anopheles, Culex, Culiseta, Aedes, Orthopodemya, Ochlerothatus* et *Uranotaenia* (Kettle, 1990 in Berchi, 2000).

*Culex pipiens* est un moustique qui appartient à une variété dite commune de moustiques (*Culex*) européens. Il est également nommé maringouin, cousin ou moustique domestique (Bouderhem, 2015).

*Culex pipiens* est lemoustique la plus abondante dans la région de Tébessa (Tine-Djebbar et *al.,* 2016).Il estcapable de se développer dans toutes les régions du globe, excepte celles où il règne de trop froid (Resseguier, 2011). Il est actif pendant toute l’année et atteint son maximum de développement pendant les saisons chaudes. Il se développe aussi bien dans les milieux dulçaquicoles, naturels (fosses, mares, flaques d’eau) ou artificiels (bassins, réservoirs, récipients, vieux pneus remplis d’eau de pluie, situes en général à proximité des habitations) (Moulinier, 2003; Faraj et *al.*, 2006).

Le moustique *Cx pipiens* (Linnée, 1758) existe sous deux forme : la forme *molestus*, anthropophiles, autogènes, sténogame (peut s’accoupler dans des espaces confines), urbaine et reste en activité durant la période hivernale (homodynamique). La forme *pipiens*, ornithophile, anautogéne, eurygame (s’accouple en plein air) et entre en diapause pendant l’hiver (hétérodynamique ) (Byrne et Nichols, 1999; Schaffner et *al*., 2001; Hnany et *al*., 2008).

*Culex* appartient à la sous-famille des Culicinae, dont il possède les principales caractéristiques : les palpes sont allongés chez le mâle (plus longs que la trompe) et légèrement recourbes vers le haut, les palpes sont plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille), au repos, l’abdomen des adultes est quasiment parallèle au support. Chez les larves, le mentum contient 8 dents ou plus de part et d'autre de la dent médiane (Fig. 01); les écailles du 8ème segment sont toutes sans épine médiane (Fig. 02); la dent distale du peigne siphonal est formée de 3 à 5 denticules basaux et l'indice (longueur/largeur) du siphon est de 4,6 à 5,9 *in* Tine –Djebber (2009). Le siphon respiratoire est à bord droit ou convexe (Fig. 03). Chez Les adultes le tergite III avec une bande antérieure claire (Fig. 04).

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| **Figure 01.** Mentum de *Culex pipiens (*Gr : X 300) (Tine –Djabbar, 2009) | **Figure 02.** Ecailles du 8ème segment abdominal de *Culex pipiens* (Gr : X 200) (Tine –Djabbar, 2009) |
|  |  |
| **Figure 03.** Siphon de *Culex pipiens (Gr : X10)* (Tine –Djabbar, 2009) | **Figure 04.** Tergites abdominaux de *Culex pipiens* (Gr : X 15) (Tine –Djabbar, 2009) |
| **2.1.1. Position systématique**  La position systématique de moustique *Cx. pipiens* est la suivante : (Amraoui, 2012).  **Embranchement** Arthropoda  **Sous Embranchement**  Antennata  **Classe** Insecta  **Sous Classe** Pterygota  **Ordre** Diptera  **Sous Ordre** Nematocera  **Famille** Culicidae  **Sous Famille** Culicinae  **Genre** *Culex*  **Espèce** *Culex pipiens* (Linné, 1785).  **2.1.2. Cycle de développement**  Les moustiques sont des insectes holométaboles (à métamorphose complète), c'est-à dire que les larves sont très différentes des adultes. La durée du stade larvaire varie selon les espèces de Culicidae, la température du milieu, la densité larvaire ainsi que la disponibilité en nourriture (Clements, 1999).  Le cycle de développement des moustiques dure environ douze à vingt jours (Adisso et Alia, 2005) et comprend quatre stades : l'oeuf, la larve, la nymphe (pupe) et l'adulte (imago). Cette métamorphose se déroule en deux phases :  - une **écophase aquatique** regroupant : l'oeuf, les quatre stades larvaires et la nymphe.  - une **écophase aérienne** qui concerne l'adulte ailé (Fig. 05).    **Figure** **05**. Cycle de développement de *Culex pipiens* (Harbach, 2007). | |
| **A-Œuf**  Suite à l’accouplement qu’a eu lieu de temps après l’émergence des adultes, chaque femelle étant fécondée une seule fois pour toute sa vie (Schaffiner et *al*., 2001). Les femelles fécondées déposent leurs œufs 0,47 ± 0,07 mm de long et 0,14 ± 0,05 mm de large (Bendali, 1989), perpendiculairement à la surface de l’eau (Urquhart et *al*., 1996 ; Wall et Shearer, 1997), sous forme cylindrique et de couleur blanchâtre au moment de la ponte, après quelque heures la coloration devient grisâtre ou noirâtre ceci due à l’oxydation de certains composants chimiques de la thèque au contact de l’eau ou l’air. Le nombre des œufs déposés varie entre 200 et 400 qui peuvent éclore en moins de 2 journées après leur ponte lorsque les conditions favorables (Guistevitch et *al*., 1974; Rhodain et Perez, 1985; Himmi, 1995). L’œuf est pourvu d’un opercule qui s’ouvre vers le bas au moment de l’éclosion et la larve dégage ce dernier grâce à une épine chitineuse qui se situe au niveau de la tête (Fig. 06) (Rhodain et Perez, 1985).    **Figure 06.** Œufs de *Culex pipiens* (Resseguier, 2011). | |
|  | |
| **B-Larves**  La vie du moustique au stade larvaire est inférieure à 10 jours : l’évolution de la larve s’accomplit en 4 stades de développement L1, L2, L3 et L4, séparés par une mue, lui permettant de passer d’environ 2 à 12 mm. Les larves sont mobiles et respirent à la surface de l’eau par l’intermédiaire d’un siphon respiratoire situé à l’extrémité de l’abdomen. Elles se déplacent par saccades et se nourrissent de diverse micro-organismes (particules végétales, bactérie et levures) (Urquhart et *al*., 1996; Andreo, 2003). Les larves sont apodes, se déplacent rapidement et leur pièces, buccales sont de types broyeur. Le corps de la larve des Culicidae est divisé en trois parties principales : la capsule céphalique complètement sclérifiée, le thorax aplati composé de trois segments fusionnés (bien plus large que les deux autres parties) et l’abdomen qui se compose de dix segments (D’après Forattini (1996) in Becker et *al,* 2003). Après chaque mue, la larve se fixe à proximité de l’exuvie abandonnée et au terme de cette période se métamorphose en nymphe (Fig. 07). (Rhodain et Perez, 1985).    **Figure 07.** Larves de *Culex pipiens* (Balenghien, 2006).  **C-Nymphe**  La nymphe ou pupe est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (Boulkenafat, 2006). La nymphe, également aquatique, éphémère (de 1 à 5 jours), ne se nourrit pas. Il s’agit d’un stade de transition, au métabolisme extrêmement actif, au cours du quel l’insecte subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte (Fig. 08) (Peterson, 1980).    **Figure 08.**  La nymphe de *Culex pipiens* (Zerroug, 2012).  **D-Adulte**  Les *Culex* au stade adulte comme tous les diptères, possèdent une seule paire d’ailes membraneuses longues et étroites pourvues d’écailles le long de ses nervures, repliées horizontalement au repos. La deuxième paire est réduite à une paire de balanciers (Harbach, 2007). Il possède un corps mince se divise en deux parties : tête, thorax, et abdomen, de taille moyenne environ 9 mm, globalement brun clair, et des pattes longues et fines (Blenghien, 2007). Ils se reconnaissent facilement par la présence d’écailles sur la majeure partie de leur corps, au niveau de la tête, l’imago se différencie des autres familles de diptère par des antennes longues, fine et articulées. Les femelles se distinguent facilement des mâles par la présence des antennes plumeuses (Fig. 09); elles possèdent de longues pièces buccales caractéristiques de type piqueur-suceur.    **Figure 09.** *Culex* adulte ou imago (femelle en haut à droite, mâle en bas à droite (Moulinier, 2003)**.** | |
| **2.1.3. Facteur de développement**  Différents facteurs vont influer sur le degré d’humidité, et ainsi jouer un rôle dans le développement des *Culex*. On trouve :   * **Les facteurs naturels** : la fréquence des précipitations ainsi que leur quantité des orages dont les dégâts peuvent causer des crues, la résurgence des nappes phréatique. Ce type de facteurs dépend essentiellement de la région et il est difficile pour l’homme de les contrôler (Ripert, 2007 ; Subra et Hebrard, 1975). * **Les facteurs artificiels** : les systèmes d’irrigation par gravité tels que les rizières, les zones d’élevage piscicoles et d’aquaculture, les stations d’épuration, les barrages, les lacs artificiels. Ces facteurs sont plus facilement contrôlables car créés par l’homme (Ripert, 2007 ; Subra et Hebrard, 1975).   Pour ce qui est du rôle de la température, de fortes chaleurs, notamment au début d’été favorisent le développement de *Culex pipiens* (Resseguier, 2011).  **2.2. Technique d’élevage**  Les larves et Les oeufs de moustiques sont récoltés à partir de plusieurs régions de la wilaya de Tébessa : Aouinet, Bir el Ater, Elhamammet (Fig. 10). Elles sont maintenues en élevage au laboratoire de la faculté dans des récipients en plastique contenant l’eau de gîtes larvaires. Les espèces ont été triées et isolées les unes des autres. Les larves et les œufs aussi sont nourris par un mélange préparé de 75% biscuit et de 25% levure (Rehimi et Soltani, 1999). L’eau est renouvelée chaque deux jour par l’eau déchlorurée (Wigglesworth, 1972).  C:\Users\TOSHIBA\Downloads\SHAREit\SM-G360H\photo\IMG_20180501_112812.jpg  **Figure 10**. Site de prélèvement de moustique. (Photo personnelle). | |

**2.3. Présentation de la plante (*Lippia citriodora*)**

*Lippia* est un genrede la famille *Verbenaceae* qui comprend environ 200 espèces d'herbes, arbustes et arbrisseaux (Saidi, 2014 ; Oskouei Shirvan et *al*., 2015 ). *Lippia citriodora* ou *Aloysia triphylla*, est l'une des espèces les plus importantes (Oskouei Shirvan et *al.,* 2015*).*

Le terme *Lippia* vient du nom de *Lippi,* un botaniste du XVII ème siècle, qui laissa son nom gravé pour marquer la plante; le terme *citriodora* signifie «à odeur de citron». Cette plante possède aussi les noms suivants : *Lippia citriodora, Aloysia citriodora, Aloysia triphylla, Lippia triphylla* ou encore *Verbena triphylla* (Saidi, 2014 ; Etemad et *al*., 2015).

La verveine odorante, *Aloysia citriodora* ou *Lippia citriodora* est un sous-arbrisseau vivace de la famille des Verbenaceae (Lenoir, 2011), mesurant 1,50 à 3,00 m de hauteur (De Figueiredo et *al*., 2002), originaire d'Amérique du Sud, introduit et cultivé sur le pourtour méditerranéen (midi de la France et Afrique du Nord) (Bruneton, 2009). Les tiges sont anguleuses, cannelées à branches droites et ramifiées (Cheurfa et Allem, 2016), portant des feuilles vertes pâles, allongées, celle-ci ont une longueur de 3 à 7 centimètres et une largeur de 1 à 2 centimètres, verticillées par trois ou quatre sur les tiges, à pétioles très courts, rudes au toucher (Fig. 11).

Elles dégagent une odeur caractéristique de citron lorsqu’elles sont froissées (Chapman, 1996). Les fleurs disposées en épis possèdent 4 pétales - soudés à la base en un tube et étalés en 4 lobes bicolorés : blancs sur la face externe et bleu violacé sur la face interne (Saidi, 2014 ;Ghédira et Goetz, 2017).

**2.3.1. Position systématique**

La position systématique de *Lippia citriodora* est la suivante (Taleb-Toudert et *al.,* 2002; Saidi, 2014; Fellah et Mouaici, 2015 )

|  |  |
| --- | --- |
| **Règne** | Planta |
| **Division** | Magnoliophyta |
| **Sous règne** | Trachéobionta |
| **Sous classe** | Asteridae |
| **Ordre** | Lamiales |
| **Famille** | Verbénacées |
| **Genre** | *Lippia* |
| **Espèce** | *Lippia citriodora* |

****

**Figure11.** Feuilles de *Lippia citriodora* (photo personnelle)

La verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés comme plante aromatique et ornementale, ainsi que pour ses feuilles, utilisées en phytothérapie. Celles-ci sont récoltées à la fin de l'été. Elle s'accommode sur tous les types des sols et exige une quantité d'eau importante (Pascual et *al.,* 2001). Elle s'acclimate d'un sol perméable, bien drainé et des endroits ensoleillés ou semi- ombragés, abrités des vents froids. Elle exige un sol frais en été, sans excès d'humidité qui entraine la pourriture de ses racines. Elle doit être paillée en hiver pour la protéger du gel, car elle ne supporte pas les températures inférieures à 4ºC (Botrel, 2001)***.*** Elle est agréable à boire et s'emploie surtout dans les digestions difficiles, les indigestions, les ballonnements, les brûlures d'estomac (Pascual et *al.,* 2001; Saidi, 2014). Elle est également utilisée contre les états nerveux, les palpitations, les migraines, les bourdonnements d'oreille et les vertiges (Saidi, 2014).

**2.4. Huiles essentielles**

**2.4*.*1. Définition des huiles essentielles**

Le terme huile essentielle est le parfum des plantes aromatiques. Elle s’appelle aussi « essence » ou « huiles volatiles » qui sont un produit de composition généralement assez complexe renferment les principes volatils contenus dans les végétaux et plus ou moins modifiée au cours de la préparation (Bruneton, 1999). Elles différent des huiles fixes (huile d’olive,…) et des graisses végétales par leur caractère volatil ainsi que leur composition chimique (Balz, 1986).

Plus récemment, la norme (AFNOR NF T75-006 5FEVRIER 1998) a donné la définition suivante d’une huile essentielle : « produit obtenue à partir d’une matière première végétale soit par entrainement à la vapeur soit par procédés mécaniques à partir de l’épicarpe des citrus soit par distillation sèche. L’huile essentielles est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procèdes physiques pour les deux premiers modes d’obtention. Elle peut subir des traitements physiques n’entrainant pas de changement significatif de sa composition (Bruneton, 2008).

**2.4.2. Caractéristiques et propriétés physiques**

Les huiles essentielles sont constituées de molécules aromatiques de très faible masse moléculaire (Degryse et *al .,* 2008). Elles sont très inflammables et très odorantes, liquides à température ambiante. Exposées à l'air, les huiles essentielles se volatilisent. Elles ne sont que très rarement colorées. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les huiles essentielles de sassafras, de girofle et de cannelle. Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée (optiquement active) (Bruneton, 1999 ; Rhayour, 2002 ; Desmares et *al.,* 2008). Elles ont parfois un toucher gras ou huileux mais ce ne sont pas des corps gras. Par évaporation, peuvent retourner à l'état de vapeur sans laisser de traces, ce qui n'est pas le cas des huiles fixes (olive, tournesol …) qui ne sont pas volatiles et laissent sur le papier une trace grasse persistante (Bernadet, 2000). Les huiles essentielles ne sont que très peu solubles ou pas du tout dans l’eau. Entraînables à la vapeur d'eau, elles se retrouvent dans le protoplasme sous forme d’émulsion plus ou moins stable qui tende à se collecter en gouttelettes de grosse taille (Rhayour, 2002 ; Benini, 2007 ; Benayad, 2008). Par contre, elles sont solubles dans les solvants organiques usuels (Bruneton, 1999).

**2.4.3. Localisation des huiles essentielles dans les plantes**

Ces essences sont localisées dans différents organes de la plante. Elles sont présentes soit dans les organes végétatifs ; soit dans les organes reproducteurs. Nous les trouvons dans les feuilles et les fleurs, mais également dans les graines (semences), les racines, les fruits, les écorces, les tiges et le bois, etc. Et sont également concentrées dans certains cellules ou groupes spéciaux de cellules (glandes). Elles sont des produits naturels des plantes qui s'accumulent en structures spécialisées telles que des cellules d'huile, des trichomes glandulaires, et des conduits d'huile ou de résine (Sylvie, 2001 ; Mc Graw, 2007).

**2.4.4. Rôle des huiles essentielles chez les plantes**

Le rôle biologique des HEs dans l’écologie est évident. Par leur odeur, elles interviennent dans la pollinisation. Ainsi, elles jouent un rôle attractif ou répulsif vis-à-vis des prédateurs (herbivores, insectes…) (Guignard, 2000). Elles peuvent paralyser les muscles masticateurs des agresseurs par les propriétés toxiques et inappétentes des substances qu’elles contiennent (Capo et *al*., 1990).

Elles protègent les cultures en inhibant la multiplication des bactéries et des champignons. Elles empêchent la dessiccation de la plante (perte d’eau) par évaporation excessive et protègent la plante contre la lumière soit par diminution ou concentration.

Par ailleurs leurs composés interviennent dans les réactions d’oxydoréduction, comme donneurs d’hydrogène. Par exemple l’isoprène réagit rapidement avec l’ozone et les radicaux hydroxyles**.** (Sharkay et Sunsun, 2001).

**2.4.5. Activités biologiques des Huiles essentielles**

Les huiles essentielles sont connues pour être douées de propriétés antiseptiques et antimicrobiennes. Beaucoup d’entre elles ont des propriétés antitoxiques, antivenimeuses, antivirales, anti –oxydantes et anti parasitaires. Plus récemment on leur reconnait également des propriétés anticancéreuses **(**Valnet, 2005). L’activité biologique d’une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique et les possibles effets synergiques entre ses composants (Lahlou, 2004).

**2.4.5.1. Activité insecticides**

Une dizaine d’huiles essentielles sont répertoriées comme ayant des activités insecticide ou insectifuge sur les moustiques et autres insectes (Raymond, 2005). On peut citer le citronnellal de l’*Eucalyptus citronné*, *Eucalyptus citriodora*, et de la citronnelle de Ceylan, *Cymbopogon nardus*, le camphre du bois de Camphrier, *Cinnamomum camphora*, et les citrals de la Bergamote, *Citrus bergami* (Shirner, 2004). Les mécanismes toxiques des huiles essentielles sont d’ordre physiologique ou physique.

* **Effets physiologiques** : Les huiles essentielles ont des effets antiappétants, affectant ainsi la croissance, la mue, la fécondité et le développement des insectes et acariens (Bastein, 2008). Chaisson et Beloin (2007) ont observé l’effet du linalool, du thymol et du carvacrol sur la fécondité et le nombre d’œufs pondus du bruche du haricot. Il y a eu également inhibition complète de la pénétration des larves dans les grains traités de linalool et de thymol. De plus, ce dernier produit s’est avéré inhibiteur de l’émergence des adultes. Karr et Coats (1990) ont démontré que l’application des d-limonène, linalool, β-myrcène et α-terpinéol ont un effet sur la croissance et le développement de la blatte germanique. Roeder (1999) a réalisé une revue de littérature exhaustive sur l’octopamine, un neurotransmetteur spécifique au système nerveux des invertébrés. L’octopamine a un effet régulateur sur les battements de cœur, la motricité, la ventilation, le vol et le métabolisme des invertébrés. Enan (2000) a fait le lien entre

l’application de l’eugénol, de l’α-terpinéol et de l’alcool cinnamique, et le blocage des sites accepteurs de l’octopamine. Il conclut que l’effet peut varier d’un terpène à l’autre et que les huiles essentielles peuvent agir en tant qu’agonistes ou antagonistes du neurotransmetteur.

* **Effets physiques** : Les huiles essentielles agissent directement sur la cuticule des insectes et acariens à corps mou (Bastein, 2008). Isman (1999) émet cette hypothèse car plusieurs huiles essentielles semblent plus efficaces sur les arthropodes à corps mou. C’est le cas du Facin qui exerce une répression satisfaisante sur les thrips, les pucerons, les aleurodes et certains acariens et qui s’est avéré moins efficace avec des insectes à carapace dure tels que des coléoptères et hyménoptères adultes et certains acariens prédateurs.

**2.4.5.2. Activité antioxydant**

Le pouvoir antioxydant de ces huiles est développé comme substitut dans la conservation alimentaire. Ce sont surtout les phénols et les poly phénols qui sont responsables de ce pouvoir (Richard, 1992). Lorsque l’on parle d’activité antioxydant, on distingue deux sortes selon le niveau de leur action : une activité primaire et une activité préventive (indirecte). Les composés qui ont une activité primaire sont interrompus dans la chaîne auto catalytique de l’oxydation (Multon, 2002). En revanche, les composés qui ont une activité préventive sont capables de retarder l’oxydation par des mécanismes indirects tels que la complexation des ions métalliques ou la réduction d’oxygène… etc. (Madhavi et *al.*, 1996). Des études de l’équipe constituant le Laboratoire de Recherche en Sciences Appliquées à l’Alimentation (RESALA) de l’INRS-IAF, ont montré que l’incorporation des huiles essentielles directement dans les aliments (viandes hachées, légumes hachés, purées de fruit, yaourts…) où l’application par vaporisation en surface de l’aliment (pièce de viande, charcuterie, poulet, fruits et légumes entiers…) contribuent à préserver l’aliment des phénomènes d’oxydation (Caillet et Lacroix, 2007).

**2.4.5.3. Activité antibactérienne**

Les huiles essentielles agissent contre un large éventail de bactéries, y compris celles qui développent des résistances aux antibiotiques. Cette activité est par ailleurs variable d’une huile essentielle à l’autre et d’une souche bactérienne à l’autre (Kalemba et Kunicka, 2003). La nature antibactérienne des huiles essentielles est principalement due à leur fort contenu en composés phénoliques, à savoir, le thymol, l’eugénol et le carvacrol. Ce dernier est le plus actif de tous (Pauli, 2001; Zhiri, 2006; Kaloustian et *al.,* 2008), suivi des monoterpénols (géraniol, menthol,

linalool, thujanol, myrcénol, pipéritol et terpinéol), des aldéhydes (néral et géranial) et des monoterpènes (α-pinène, β-pinène, p-cymène et γ-terpinène…etc) (Daferera et *al.,* 2000; Baranauskiene et *al.,* 2003 ; Burt, 2004; Zhiri, 2006).

**2.2.5.4. Activité antifongique**

Les HEs ou leurs composés actifs peuvent être employés comme agents de protection contre les champignons phytopathogènes et les microorganismes envahissant les denrées alimentaires. L’activité antifongique est estimée à la grande complexité de la composition des HEs, les phénols sont plus antifongiques que les aldéhydes et elle décroit selon le type de la fonction chimique :

Phénols ˃ Alcools ˃ Aldéhydes ˃ Cétones ˃ Esters ˃ Hydrocarbures (Benayad, 2013).

**2.4.6. Composition chimique l’huile essentielle du *Lippia citriodora***

L'huile essentielle est constituée de plusieurs molécules chimiques de synthèse naturelle.

Ces molécules sont différentes selon la nature de la plante, le sol, le temps de récolte, la partie de la plante, la préparation de l’échantillon, ainsi que la méthode d’extraction. Les composés sont formés à partir de divers atomes puisés par la plante via le sol et via sa synthèse organique. L'ensemble constitue des réactions chimiques donnant naissance aux molécules aromatiques, constituant l'huile essentielle. Les terpènes sont très répandus dans la nature et surtout dans les plantes comme constituants des huiles essentielles**.** Ils sont issus d’une voie métabolique secondaire de l'acide mévalonique (Fellah et mouaici, 2014).

Les analyses d’huile essentielle de *Lippia citriodora* ont montré que le citral (11,3%), le limonène (10,6%), 4-phényl undécane- 4-ol (7,7%), α-curcumène (6 ,5%) et α-cédrol (4,5%)

Étaient les composants principaux de l’huile. En outre, d’autres composants à teneur légèrement faibles sont rapportés tels que le carvéol (3,7%), linalool (3,5%), β-caryophyllène (2,8%) et l’acétate de geranyle (1,8%) ( Slimani et Dahmane, 2013). Dans une autre étude faite par Taleb-Toudert. K et *al.,* (2002) sur *Lippia citriodora* les composants majoritaires sont α-cadinène (29,2081%) et Limonène (15,1932%).

**2.4.7. Extraction et rendement d’HE de *Lippia citriodora* par hydrodistillation**

L’extraction des huiles essentielles à partir de la partie aérienne (feuilles) de la plante a été réalisée par hydro distillation dans un appareil de type Clevenger (Fig. 12). Elle a duré 3 heures pour un mélange de 50g de matériel végétal sèche avec 500 ml d’eau distillée, l’ensemble est ensuite porté à ébullition dans un ballon à 3 cols ou fiole d’un litre surmonté d’une colonne de 60 cm de longueur reliée à un réfrigérant. Les vapeurs chargées d’huile et qui traversent le réfrigérant, se condensent et chutent dans une ampoule à décanter. L’eau et l’huile se séparent par différence de densité (Mohammedi, 2006; Bencheqroun et *al .,* 2012).

L’huile essentielle recueillie par décantation à la fin de la distillation a été filtrée en présence de sulfate de sodium (Na2SO4) pour éliminer les traces d’eau résiduelles et l’huile essentielle de chaque plante sera par la suite récupérée et stockée à 4 °C à l’obscurité dans un flacon en verre approprié, hermétiquement fermé et couvert d’une feuille d’aluminium pour la préserver de l’air et de la lumière. La quantité d’essence obtenue est pesée pour le calcul du rendement (Mawussi, 2008; Tchoumbougnang et *al*., 2009; Bouguerra, 2012). 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 (AFNOR, 1987), évalué à partir de 3 échantillons (nombre d’extraction). Il est exprimé en pourcentage est calculé par la formule suivante :

**R=PB/PA x 100**

**R** : Rendement en huile en %

**PB** : Poids de l’huile en g

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

****

**Figure 12.** Montage de l’hydro distillateur de type Clevenger (Photo personnelle)

Chauffe ballon

Ballon à fond rond

Ampoule à décanter

Réfrigérant

**2.5. Test de toxicité**

Après des essais préliminaires, nous avons déterminé des gammes des concentrations d’huile essentielle de *Lippia citriodora.* Les différentes gammes (5, 10, 15, 20, 25, 30,35, 40, 45 et 50) ont été appliquées dans des gobelets contenant chacune 150 ml d’eau et 20 larves du troisième et quatrième stade nouvellement exuviées de *Cx pipiens* selon les recommandations de l’organisation mondiale de la santé (Anonyme, 1983). Trois répétitions ont été réalisées pour chaque dilution. Trois gobelets témoins négatif et positif ont été également constitués dans les conditions identiques aux gobelets tests. Le témoin négatif ne contenait que de l’eau tandis que le témoin positif renfermait un millilitre de méthanol sans aucune trace d’huile essentielle. Après 24 heures de traitement, les larves sont rincées puis placées dans de nouveaux récipients contenant de l’eau propre et de la nourriture. Le suivi des individus témoins et traités a été effectué après chaque 24h jusqu’à la mue.

Afin de caractériser l’effet toxicologique des huiles essentielles, il est nécessaire d’estimer les concentrations létales (CL25, CL50 et CL90). Les pourcentages de mortalités observées sont corrigés par la formule d’Abbott, (1925) lorsque le taux de mortalité des témoins est compris entre 5 et 20% :

****

Lorsque ce même taux dépasse 20 %, le test doit être renouvelé. La formule permet d’éliminer la mortalité naturelle et de connaître la toxicité réelle du pesticide par l’analyse des probits (Finney, 1971).

**2.6. Analyse statistique**

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne ± l’écart-type (SD). L’analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel MINITAB (version 16, Penn State College, PA, USA) (Weisberg, 1985), tels que l’analyse de la variance à un critère de classification, ainsi on a utilisé le logiciel GRAPH PAD PRISM (version 7) pour déterminer les concentrations létales.



Résultats

**3. Résultats**

**3.1. Rendement en huile essentielle de *Lippia citriodora***

Les huiles essentielles de *Lippia citriodora* obtenus par hydro distillation sont de couleur jaune foncée ayant une odeur citronnée, Le rendement d’H.E de *Lippia citriodora* est 0,76±0,12% de la matière sèche de la plante.

**Tableau 1.** Caractéristiques Organoleptiques des huiles essentielles de *L. citriodora.*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Huile essentielle  de *Lippia citriodora* | Caractères Organoleptiques | | |
| Aspect | Couleur | Odeur |
| Fluide | Jaune foncée | Citronnée |

**3.2. Essai insecticide d’huile essentielle de *Lippia citriodora***

Les études toxicologiques permettent de déterminer l’efficacité d’huile essentielle de *Lippia citriodora* sur les différentes stades L3 et L4 de *Culex pipiens* qui est évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles avec un effet cumulé.

Les tests de toxicité sont appliqués sur les larves du troisième stade (L3) nouvellement exuviées de *Culex pipiens* avec des différentes concentrations d’huile essentielle de *Lippia citriodora* : 5, 10, 20, 30, 35 et 40 ppm. La mortalité observée est corrigée à partir d’une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le tableau 2 avec des taux variant de 13,33% (5ppm) à 98, 33% (40 ppm) avec une relation concentrations – réponse. Les données ont fait l’objet d’une analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 3) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif (p< 0,001).

**Tableau 2.** Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 3 nouvellement exuviées de *Culex pipiens*: Mortalité corrigée (%) (m± SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus).

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Concentration (ppm) | | 5 | 10 | 20 | 30 | 35 | 40 |
| R1 | 15 | | 25 | 45 | 65 | 80 | 100 |
| R2 | 10 | | 40 | 50 | 60 | 75 | 100 |
| R3 | 15 | | 20 | 45 | 60 | 75 | 95 |
| m± SD | 13,33±2,35 | | 28,33±8,49 | 46,66±2,35 | 61,67±2,89 | 76,67±2,89 | 98,33±2,35 |

**Tableau 3**. Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 3 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m± SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Source de variation | SCE | ddl | CM | Fobs | P |
| Traitement | 13250,0 | 5 | 2650,0 | 106,00 | 0,000\*\*\* |
| Erreur résiduelle | 300,0 | 12 | 25,0 |  |  |
| Total | 13550,0 | 17 |  |  |  |

\*\*\* différence très hautement significative (p<0,001) SCE : Somme des carrés des écarts ; ddl : dégrée de liberté, CM : carré moyen ; F obs : F observé ; p : niveau de Significative.

Les concentrations létales CL 25, CL 50 et Cl 90, Déterminées sont respectivement de 10,19 ppm (intervalle de confiance 3,66-19,62), 18,33 ppm (intervalle de confiance 10,75- 26,81) et 59,89 ppm (33,18-234,2), avec un Slope de 1,86 (Tableau 4).

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| **Figure13**. Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 3 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m± SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de tukey. | **Figure14**. Effets de l’HE de *Lippia citriodora*, Appliquée sur les larves 3 de *Culex pipiens* : courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction de logarithme des doses.  R2 =88% |

**Tableau 04.** Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 3 nouvellement escuviées de *Cx pipiens* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiances.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Stade | Hill Slope | CL 25 (95% IC) | CL50 | CL90 | R2 |
| L3 | 1,86 | 10,19  (3,66-19,62) | 18,333  (10,75-26,81) | 59,45  (33,18-234,2) | 90% |

Les tests de toxicité sont appliqués sur les larves du quatrième stade (L4) nouvellement exuviées de *Culex pipiens* avec des différentes concentrations d’huile essentielle de *Lippia citriodora* : 10, 20, 30, 40, 45 et 50 ppm. La mortalité observée est corrigée à partir d’une mortalité naturelle. Elle est mentionnée dans le Tableau 4 avec des taux variant de 5 % (10ppm) à 93,33% (50 ppm) avec une relation concentrations – réponse. Les données ont fait l’objet d’une analyse de la variance à un critère de classification (Tableau 5) qui révèle un effet- concentrations très hautement significatif (p< 0,001).

**Tableau 5 :** Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m± SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus).

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Concentration (ppm) | 10 | 20 | 30 | 40 | 45 | 50 |
| R1 | 00 | 25 | 35 | 50 | 75 | 90 |
| R2 | 10 | 10 | 25 | 65 | 75 | 90 |
| R3 | 5 | 10 | 25 | 50 | 65 | 100 |
| m± SD | 5±4,08 | 15 ±7,07 | 28,33±4,71 | 55±7,07 | 71,66±4,71 | 93,33±4,71 |

**Tableau 6.** Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m± SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). Analyse de la variance à un critère de classification après transformation analyse des mortalités enregistrées (%).

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Source de variation | SCE | Ddl | CM | Fobs | P |
| Traitement | 17773,6 | 5 | 3554,7 | 77,56 | 0,000\*\*\* |
| Erreur résiduelle | 550,0 | 12 | 45,8 |  |  |
| Total | 18323,6 | 17 |  |  |  |

\*\*\* différence très hautement significative (p<0,0001) SCE : Somme des carrés des écarts ; ddl : dégrée de liberté, CM : carré moyen ; F obs : F observée ; p : niveau de Significative

Les concentrations létales CL 25, CL 50 et Cl 90, Déterminées sont respectivement de 28,71 ppm (intervalle de confiance : 20,27-35,86), 36,2 ppm (intervalle de confiance : 30,53-40,89) et 57,53 ppm (intervalle de confiance : 46,6-90,28), avec un Slope de 1,056 (Tableau7).

|  |  |
| --- | --- |
|  |  |
| **Figure 15**. Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement escuviées de *Culex pipiens* : Mortalité corrigée (%) (m± SD, n=3 répétitions comportant chacune 20 individus). Les lettres représentent le classement des doses selon le test HSD de tukey. | **Figure 16**. Effets de l’HE de *Lippia citriodora*, Appliquée sur les larves 4 de *Culex pipiens* : courbe dose-réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction de logarithme des doses.  R2 =95%. |

**Tableau 07.** Toxicité de l’HE de *Lippia citriodora* (ppm) appliquée sur les larves 4 nouvellement escuviées de *Cx pipiens* : Détermination des doses létales et leurs intervalles de confiances.

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Stade | Hill Slope | CL 25 (95% IC) | CL50 | CL90 | R2 |
| L4 | 1,056 | 28,71  (20,27-35,86) | 36,2  (30,53-40,89) | 57,53  (46,6-90,28) | 95% |



Discussion

**4. Discussion**

**4.1. Rendement en huile essentielle**

Nous rappelons que le rendement d’extraction en huile essentielle de *L. citriodora* a été de (0,76±0,12%) de la matière sèche de la plante. Notre rendementest relativement augmenté à celui obtenus l’année passée (0,4±0,08%) (Derrar et Derrar, 2017) et également supérieure comparativement à celui obtenus par Saidi (2014) (0,1950 ± 0,0311%) et par Taleb-Toudert et *al.,* (2002) (0,29%). Il est également supérieur à ceux trouvés par El Hmamouchi (2006) sur les feuilles sèche, fraîche et la plante entière fraîche (0,4 ; 0,07% ; 0,15% respectivement). Par contre, notre rendement est inférieur à celui obtenu par Taleb-Toudert (2015) qui a signalé un taux de 0,85%. Il est aussi nettement plus faible que celui enregistré par Evelyn Ivana et *al* (2010) en étudiant *Lippia grandis* d'Amazon brésilienne et qui est de l'ordre de (2,1%). De plus, cette différence de teneur en HE d’un organe à un autre ou d’une espèce à une autre peut être liée à plusieurs facteurs tels que la zone géographique de collecte, le climat, le moment de la collecte, la méthode d'extraction (Bendjilali, 2004).

Ce rendement est relativement élevé par rapport à certaines plantes qui sont exploitées industriellement comme source des huiles essentielles, il est plus élevé que celui de la rose (0,1-0,35 %), *Tagete minuta* (0,11), *Eucalyptus rostrata* (0,72) et moins élevé que celui de *l’anise* (1-3 %) et le thym (2-2,75 %), la *menthe poivrée* (0,5-1 %), lenéroli (0,5-1 %) (Bencheqroun et *al.,* 2012), de (1,18% ± 0,05) chez *Lavandula dentata* et de **(**1,56% ± 0,15) chez le basilic (Dris et *al.*, 2017). Cette variabilité en huile essentielle, tant au niveau de leur composition, qu’au plan du rendement entre ces plantes, peut s’expliquer par différents facteurs d’origine intrinsèque, spécifiques du bagage génétique de la plante ou extrinsèque (Bouguerra, 2012).

**4.2. Essais insecticides**

La toxicité est évaluée à partir de mortalité enregistrée après traitement. Notre étude a pour but de tester l’effet insecticide d’huile essentielle de *Lippia citriodora* à l'égard des larves du troisième et quatrième stade nouvellement exuviées de *Culex pipiens.* Les concentrations létalesCL25, CL50 et CL90 obtenus sont *(*10,19 ; 18,33 et 59,45ppm) et (28,71 ; 36,2 et 57,53 ppm) respectivement sur L3 et L4. Nos résultats sont plus supérieurs à ceux obtenus par Abid et Laifaoui (2017) qui trouvent des CL50 et CL90 de (7,92 et 17,14ppm) et (10,92 et 20,43 ppm) respectivement sur les larves du troisième et du quatrième stade de *Culiseta longiareolata* traitées par l’HEde *L. citriodora*. Cela indique que *Culex pipiens* est plus résistant que *Culiseta longiareolata*.

L'étude de Khani et *al*., (2012), donne une idée sur l'activité insecticide de l'huile essentielle de *Lippia citriodora* contre *Tribolium confusum* et *Callosobruchus maculatus***,** avec CL50 (497,83 μl/l et 10,17 μl/l) respectivement. Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle de *Lippia citriodora* pourrait être utilisée comme un agent de contrôle potentiel contre les insectes.

Plusieurs recherches montrent l’activité larvicide des HEs d’autres plantes sur *Cx pipiens.* Kouider et Attia (2016)trouvent des CL50 et CL90 qui de (75,79 et 109,14 ppm) à 24 heures, (71,92 et 109,90 ppm) à 48 heures et (67,07 et 105,20 ppm) à 72 heures après le traitement avec l’huile essentielle de *Laurus nobilis* à l'égard des larves du quatrième stade nouvellement exuviées. L’huile essentielle de *Kelussia odoratissima Mozaffarian* ont montré un effet important avec une valeur de CL50 à 2,69 ppm et une CL90 de 7,90 ppm (Vatandoost et *al*., 2012). Dans une autre étude, l’huile essentielle de *Thymus vulgaris* a montré une intéressante activité larvicide, avec des CL50 et CL90 de 103 ppm et 178 ppm (El-Akhal et *al.,* 2015)*.* Des études similaires réalisées par (Traboulsi et *al., 2005)*, ont démontré l’activité insecticide de quatre plantes médicinales récoltées au Liban (*Myrtus communis L., Lavandula stoechas L*., *Origanum syriacum L.* et *Mentha) s*ur les larves de *Culex pipiens* spp*,* les CL50 obtenues étaient comprises entre 16 à 89 ppm. Les tests de sensibilité réalisés dans les conditions du laboratoire de ces huiles vis-à-vis du *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae)*,* ont montré que l’huile essentielle de *Citrus aurantium* possède une activité larvicide intéressante que celle de l’huile essentielle de *Citrus sinensis*. Les CL50 et les CL90 de *Citrus aurantium* et de *Citrus sinensis* calculées ont été respectivement de l’ordre de 139,48 et 280 ppm et de 212,04 et 516 ppm (El-Akhal et *al.,* 2014)*.*

Dans des travaux encore plus récents, les propriétés insecticides de certaines plantes ont été testées sur les larves dʼinsectes. Nous citons à cet effet, les travaux de Jang et *al.*, (2002) sur *Aedes aegypti et Cx pipiens,* en testant l’activité larvicide de certaines légumineuses et les travaux d’Alaoui-Slimani (2002) dans lesquels la toxicité de *Mentha pulegium* (Labiée) a été confirmée sur des larves de culicidés.

Plusieurs plantes ont prouvé ce même pouvoir larvicide contre cette espèce de moustique (*Cx pipiens*) telles que : *Allium sativa* et *Citrus limon* (Thomas et *al.,* 1999), *Alnus glutinosa* (Rey et *al.,* 1999), *Anthemis nobilis* (Soliman et *al.,* 1995) et *Cassia obtusifolia* (Jang et *al.,* 2002). Une variété des HEs a montré des CL50 variables en fonction de la plante utilisée : 24,8 ppm pour *l'Origanum inutiflorum* (Cetin et Yanikoglu, 2006), 49 ppm pour *Thymus capitatus* (Mansour et *al.,* 2000) et 53,80 et 32,52 ppm à 24 et 48 heures respectivement pour *Citrus aurantium* (Kassi, 1989) et de 73,45 ppm chez *Culex pipiens* traité par l'*Ocimum basilicum* (Dris et *al*., 2017).

Conclusion

**Conclusion et perspectives**

Actuellement plusieurs questions se sont soulevées concernant la sécurité des santés Humaines contre les moustiques ravagés. L’utilisation des insecticides chimiques est devenue de plus en plus restrictive à cause de leur effet négatif sur l’environnement. L’orientation vers les produits d’origine naturelle constitue un refuge pour les chercheurs vu leurs avantages incessants.

Les plantes aromatiques possèdent de plus en plus un atout considérable grâce à la valorisation de leurs huiles essentielles dans différentes applications notamment en tant que anti-inflammatoires, antiseptiques, antifongiques, bactéricides, antitoxiques, insecticides et insectifuges, etc… Ce travail rapporte la valorisation, en tant que bio insecticide, de l’huile essentielle de *Lippia citriodora* extraite par un hydro distillateur de type Clevenger qui est de couleur jaune foncée avec une odeur agréable et avec un rendement d’extraction de (0,76±0,12%) de la matière sèche de la plante.

Les Essais insecticides réalisés de cet extrait vis-à-vis des larves de Troisième et quatrième stade nouvellement exuvies d’une espèce de moustique *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteurs de maladies parasitaires la plus répondue dans la région de Tébessa, ont montré que l’huile essentielle de *Lippia citriodora* possède une activité larvicide intéressante, avec une relation concentration-réponse. Les concentrations létalesCL25, CL50 et CL90 obtenus sont (10,19 ; 18,33 et 59,45ppm) et (28,71 ; 36,2 et 57,53 ppm) respectivement sur L3 et L4.

Enfin on l’essor de cette étude, il serait intéressant de compléter cette recherche en évaluant l’effet de l’HE de cette plante sur aspect morphométrique et biochimique et sur les bio marqueurs soit de neurotoxicité soit de détoxification.

Références bibliographiques

**-A-**

**Abid, A. & Laifaoui, H. (2017).** Etude de la toxicité d’une plante *Lippia citriodora* à l’égard d’une espèce de moustique *Cs Longiareolata.* Mémoire de Master. Université de Tébessa, p 57.

**Adisso, D.N. & Alia, A.R. (2005)**. Impact des fréquences de lavage sur l'efficacité et la durabilité des moustiquaires à longue durée d'action de types Olyset Net et Permanet dans les conditions de terrain. Mémoire de fin de formation en. ABM-DITEPAC-UAC. Cotonou, p79.

**AFNOR. (1987).** Huiles essentielles, recueil dans des normes françaises. 5ème éditions.1. Échantillonnage et méthodes d’analyses, 2. Spécifications. Afnor. Paris.

**Alaoui Slimani, N., Jouid, N., Benhoussa, A. & Hajji, K. (1999).** Typologie des habitats d’*Anopheles* darns une zone urbaine (Diptera Culicidae). Entomologiste**55 (5)** : 181–190.

**Amraoui, F. (2012).** Le moustique *Culex pipiens,* vecteur potentiel des virus west Nile etfièvre de la vallée du Rift dans la région du Maghreb. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences Rabat. Université Mohammed. V- Agdal, p119.

**Andreo, S. (2003).** L’effet anti-gorgement sur chien d’un shampoing à 0,07% d’ltamethrine sur un moustique du complexe *Culex pipiens*. Th : Med. Vet : Toulouse, p 128.

**Aouati, A. (2015).** Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). Thèse de Doctorat. Université des Frères Mentouri, p150.

**Aouinty, B., Oufara, S., Mellouki, F. & Mahari, S**. **(2006).** Évaluation préliminaire de l’activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis L*) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement/Biotechnology, Agronomy, Society and Environment 10 **(2) :** 67-71.

**- B-**

**Balenghien, T. (2007).** Les moustiques vecteurs de la Fièvre du Nil Occidental en Camargue. Insectes 146 **(3)** : 13-17.

**Balz, R. (1986)**. Les Huiles Essentielles et Comment Les Utiliser. Edition lavoisier. Paris, p152.

**Baranauskiene, R., Venskutonis, P.R., Viskelis, P. & Dambrauskiene, E. (2003**). Influence of nitrogen fertilizers on the yield and composition of thyme (*Thymus vulgaris).* Journal of agricultural and food chemistry **51 (26)** : 7751-7758.

**Bastien, F. (2008**). Effet Larvicide Des Huiles Essentielles Sur *Stomoxys* *Calcitrans* a La Reunion. Thèse de Doctorat. Université Paul-Sabatier .Toulouse*,* P 78.

**Benayad, N. (2008).** Les huiles essentielles extraites des plantes médicinales marocaines :

Moyen efficace de lutte contre les ravageurs des denrées alimentaires stockées. Université

Mohammed V – Agdal. Rabat, p 63.

**Benayad, N. (2013)**. Évaluation de l’activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Thèse de doctorat. Université Mohammed V – Agdal, p186.

**Bencheqroun, H. K., Ghanmi, M., Satrani, B., Aafi, A. & Chaouch, A. (2012).** Activité antimicrobienne des huiles essentielles d’*Artemisia mesatlantica,* plante endémique du Maroc. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège **81 :** 4 – 21.

**Bendali, F. (1989).** Etude de *Culex pipiens pipiens* anautogène, Systématique et lutte bactériologique (*Bacillus thuringiensis israellensis* serotype H14. *B. sphaericus* 1953) et deux espèces d'hydracariens. Thèse de magister. Université d'Annaba. Algérie.

**Bendali, F., Djebbar, F. & Soltani, N. (2001).** Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l’égard de divers stades de *Culex pipiens L* dans des conditions de laboratoire. Parasitic**57 (4) :** 255 - 265.

**Bendjilali, A. (2004).** Extraction des plantes aromatiques et médicinales : cas particulier de L'entrainement à la vapeur d'eau et ses équipements. Le pharmacien du maghreb.

**Benini, C. (2007)**. Contribution à l’étude de la diversification de la production d’huiles essentielles aux Comores. Mémoire d’ingéniorat. Université Gembloux, p 109.

**Berchi, S. (2000)**. Bioécologie de *Culex pipiens L.* (Diptera : Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de luttes. Thèse de doctorat. Université Constantine. Algérie, p133.

**Bercker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J. & Kaiser, A. (2003).**

Mosquitoes and their control. Edition Kluwer Academic. New York, p 498.

**Berliner, E. (1915).** User die schalffsuchider Mehlmottenraupo and then Erreger *Bacillus thuringiensis* n.sp. Zeitschfit fur Angewandte Entomologie2 : 29-56.

**Bernadet, M. (2000)**. Phyto-aromathérapie pratique, plantes médicinales et huiles essentielles. Ed Dangles. InBenzeggouta, N. (2005). Etude de l’activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister. Université de Constantine, p 110.

**Bouderhem, A. (2015).** Effet des huiles essentielles de la plante *Laurus nobilis* sur L’aspect toxicologique et morpho métrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiarealata***).** Mémoire de MASTER. Université Echahid Hamma lakhdar. El-Oued, p 90.

**Bouguerra, A. (2012).** Etude de l'activité biologique de l’huile essentielle extraite des grains de *Foeniculum vulgare* Mill. Mémoire de Magister. Université Mentouri .constantine, p 120.

**Boulkenafet, F. (2006)**. Contribution à l’étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Mémoire de Magister. Tpellier (France), p 191.

**Botrel, A. (2001**). Encyclopédie des plantes médicinales. Édition Larousse. France, p 228.

**Bruneton, J. (1999).** Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition. Tecnique et Documentation. Lavoisier. Paris, P 419.

**Bruneton, J. (2008)**. Pharmacognoise –Phytochimie, plantes médicinales, 2ème édition paris. Tec & doc –Editions médicinales internationales, p 1188.

**Bruneton, J. (2009).** Pharmacognosie, Phytochimie, Plantes médicinales. Édition Lavoisier. Paris, p 1269.

**Brunhes, J., Rhaim, A., Geoffroy, B., Angel G. & Hervy, J.P. (1999)**. Les moustiques de

L’Afrique méditerranéen. Logiciel d'identification et d'enseignement. IRD Edition.

**Burt, S. (2004)**. Essential oils: Antibacterial properties and potential applications in food: A review. International Journal of Food Microbiology **94 (3)**: 223-253.

**Byrne, K. & Nichols, R.A. (1999).** *Culex pipiens* in London Underground tunnels: differentiation between surface and subterranean populations. Heredity **82** : 7-15.

**-C-**

**Chabasse, D. (2001).** Ectoparasites et vecteurs d’intérêt médical.

**Caillet, S & Lacroix, M. (2007**). Les huiles essentielles leurs propriétés antimicrobiennes et leur applications potentielles en alimentaire INRS. Institut Armand Frappier. (Ressala), p 1-8.

**Cetin, N., Yanikoglu, A. & Cilek, J.E. (2006).** Evaluation of the naturally derived insecticide Spinosad against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) larvae in spetia tank water in Antalya Turkey Journal Ecologique **30:** 151-154.

**Chapman, R.E. (2009).** Terpene chemistry of Lemon verbena (*Aloysia citriodora*): natural

Variation and response to ecological and agricultural variables: Ph. D. Thesis. University of

Georgia. Athens, G.A, p 137.

**Cheurfa, M. & Allem, R. (2016).** Évaluation de l’activité anti-oxydante de différents extraits des feuilles *d’Aloysia triphylla*. Phytothérapie **14 (3)** : 181-187.

**Chiasson, H & Beloin, N. (2007).** Les huiles essentielles, des biopesticides : nouveau genre **14** **(1)** : 4-5.

**Capo, M., Couilleau, V. & Valnette, C. (1990).** Chimie des couleurs et des odeurs ; cultures et techniques, p 204.

**Clements, A.N. (1999).** The biology of mosquitoes. Vol. 2. Sensory reception and behavior. Cabi. Publishing. New York, p 56-84.

**Coykendall, R. L. (1980)**. Fishes in California mosquito control. C. M. V. C. A. Press, Sacramento, CA, p 63.

**Cui, F. & Tan, Y. (2007).** Qiao CL Filariasis vector in China: Insecticide resistance and population structure of mosquito *Culex pipiens* complex. Pest. Management. Science **63:** 453-458.

**-D-**

**Daaboub, J., Ben Cheikh, R., Lamari, A., Ben Jha, I., Feriani M., Boubaker, C. & Ben Cheikh, H** . **(2008).** Resistance to pyrethroid insecticides in *Culex pipiens pipiens* (Diptera: Culicidae) from Tunisia*.* Acta. Tropica **107 (1):** 30–36.

**Daferera, D.J., Ziogas, B.N. & Polissiou, M.G. (2000),** GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungi toxicity on *Penicillium digitatum*. journale of. Agriculture and food chemistry **48 (6):** p 2576-2581.

**De Figueiredo, R.O., Stefanini, M.B., Ming, L.C., Marques, M.O.M. & Facanali, R. (2002).** Essential Oil Composition of *Aloysia triphylla* (L'Herit) Britton Leaves Cultivated in Botucatu. São Paulo. Brazil, p 131-134.

**Degryse, A.C., Delpla, I. & Voinier, M.A. (2008)**. Risques et bénéfices possibles des huiles

Essentielles. Atelier santé environnement -IGS- EHESP, p 87.

**Derrar, I. & Derrar,** **A. (2017).** Etude de l’activité insecticide des huiles essentielles de *Lippia citriodora* à l’égard des larves d’une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* sur l’aspect de développement. Mémoire de master, p 60.

**Desmares, C., Laurent, A. & Delerme, C. (2008)**. Recommandations relatives aux critères de qualité des huiles essentielles. Afssaps. Anatole. France, p 18.

**Dris, D., Tine-Djebbar, F., Bouabida, H. & Soltani, N. (2017).** Chemical composition and activity of an *Ocimum basilicum* essential oil on *Culex pipiens* larvae: Toxicological, biometrical and biochemical aspects. South African Journal of Botany **113**: 362–369.

**Duchauffour, P. (1976).** Atlas écologique des sols do monde. Edition Masson. Paris, p 178.

**-E-**

**EL-Akhal, F., Guemmouh, R., Greche, H. & El Ouali Lalami, A.(2014)**. Valorisation en tant que bioinsecticide de deux huiles essentielles de *Citrus sinensis* et *Citrus aurantium* cultivées au centre du Maroc (Valorization as a bio-insecticide of essential oils of *Citrus sinensis* and *Citrus aurantium* cultivated in center of Morocco). Journal of Materials and Environmental Science**5**: 6.

**El-Akhal, F., Guemmouh, R., Greche, H. & El Ouali Lalami, A.(2015).** Composition chimique et activité larvicide sur *Culex pipiens* d’huile essentielle de *Thymus vulgaris* cultivées au Maroc Chemical composition and larvicidal activity of *Culex pipiens* essential oil of *Thymus vulgaris* grown in Morocco. Journal of Materials and Environmental Science **5** : 6.

**EL Hmamouchi, M. (2006).** Partenariats Agricoles pour la productivité et la prospérité. ÀP 3. Numéro spécial : L'Institut National des Plantes Médicinales et Aromatiques (INPMA) de Taounate, p 4.

**El Joubari, M., Louah, A. & Himmi, O. (2014)**. Mosquitoes (Diptera, Culicidae) of Smir marshes (northwest of Morocco): inventory and biotypology. Medical Entomology **107 :** 48-59.

**El Ouali Lalami, A., El-Akhal, F., El Amri, N., Maniar, S. & Faraj, C. (2014)**. Etat de la résistance du moustique *Culex pipiens* vis-à-vis du téméphos au centre du Maroc. [Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique](http://europepmc.org/search?query=JOURNAL:%22Bull+Soc+Pathol+Exot%22&page=1)**107** : 194–198.

**Enan, E. (2001).** Insecticidal activity of essential oïl : octopaminergic sites of action. [Comparative Biochemistry and Physiology - Part C](https://www.journals.elsevier.com/comparative-biochemistry-and-physiology-part-c-toxicology-and-pharmacology) **130 :** 325-337.

**Etemad, L., Reza, Z., Naser, V.M., Seyed, A.M., Oskouei Shirvan, Z. & Hosseinzadeh, H (2016)**. Acute, Subacute, and Cell Toxicity of the Aqueous Extract of *Lippia citriodora.* Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products. **11 (3)** : 32546.

**Evelyn Ivana, T., Joyce Kelly, R., Eloisa Helena, A., Pergentino José, C. & José Guilherme, S. (2010).** Antioxidant capacity and larvicidal activity of essential oil and extracts from*- Lippia grandis.* Revista Brasileira de Farmacognosia. *Brazilian Journal of**Pharmacognosy* **21(1)** : 78-85.

**-F-**

**Faraj, C., Elkohli, M. & Lyagoubi, M. (2006).** Cycle gonotrophique de *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae), vecteur potentiel du virus West Nile, au Maroc : estimation de la durée en laboratoire. Bulletin de la Société de Pathologie Exotique 99 **(2)** : 119-121.

**Fellah, A. & Mouaici, N. (2015).** Etude de l'extraction et de l'activité antioxydante et Antibactérienne des extraits de la verveine "*Lippia citriodora".* Mémoire de Master. Université Djilali Bounaama - Khemis Miliana, p 99.

**-G-**

**Georghiou, G.P., Ariaratnam, V., Pasternak, M.E. & Lin, C.S. (1975)** .Organophosphorus multiresistance in *Culex quinquefasciatus* in California. Journale of Economic Entomology **68:** 461-467.

**Ghédira, K & Goetz, P. (2017).** Verveine odorante *Aloysia citriodora Paláu* (*Lippia citriodora*). Phytothérapie **15 (1**) : 33-37.

**Goislard, C. (2012)**. Pharmaceutique, Le répulsif anti –moustiques à l’officine. Thèse de doctorat. Université angrers, p16.

**Govindarajan, M. (2010)**. Chemical composition and larvicidal activity of leaf essential oil from clausena anisata (willd). Hook. F. ex Benth (Rutaceae) against three mosquito species. Asian Pacifik Journal of Tropical Medicine, p 874-877

**Guignard, J.L**. **(2000).** Biochimie végétale. Édition Masson. Paris, p 166.

**Guillet, P., Chandre, F. & Mouchet, J. (1997)**. L’utilisation des insecticides en santé publique : état et perspectives. Médecine et Maladies Infectieuse **27 (5)** : 552–7.

**Guitsevitch, A.V., Monchadski, A. & Sktakel’Berg, A.A. (1974).** Fauna of Diptera. U.S. Departement of Commerce Natiolal Technical Inforamation. VA, p 22-51.

**-H-**

**Harbach, R.f. (2007).** The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny. Zootaxa**1668 (1)** : 591-638.

**Himmi, O., Dakki, M., Trari, B. & El Agbani, M.A. (1995).** Les Culicidae du Maroc : clés d’identification, avec données biologiques et écologiques. Travaux de l'Institut scientifique chérifien. Série Zoologie. Rabat **44** : 51.

**Hnany, A., Guilhermino, L., Assis, H.C.S. & Hansen, P.D. (2008).** Acetyl cholinesterase Activity in aquatic organisms as pollution biomarker. Zeitschrift Angewandt Zoology **3:** 1 – 15.

**-I-**

**Isman, M. (1999).** Pesticides based on plant essential oils. Pesticide Outlook, p 68-72.

**- J-**

**Jang, Y. S., Baek, B. R., Yang, Y. C., Kim, M. K. & Lee, H. S. (2008).** Larvicidal activity of leguminous seeds and grains against *Aedes aegypti* and *Culex pipiens* pallens. Journal of the American Mosquito Control Association **18 (3)** : 210–213.

**-K-**

**Kalemba, D. & Kunicka, A. (2003)**. Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry **10 :** 813-829.

**Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L. & Vergnes, M.F. (2008)**. Etude de six huiles essentielles : composition chimique et activité antibactérienne. Phytothérapie **6 (3):** 160-164.

**Karr, L.L. & Coats, J.R. (1992).** Effects of four monoterpenoids on growth and reproduction of the German cockroach (Blattodea: Blattellidae*).* Journal of Economic Entomology **85:** 424-429.

**Kassi, L.A., Berger, Y.M., Bradford, G.E., Boukhliq, R., Tibary, A., Derqaoui, L. & Boujenane, I. (1989).** Performance of D'man and Sardi sheep on accelerated lambing. I.Fertility, litter size, post- partum anoestrus and puberty. Small Ruminant Research **2:** 225-239.

**Khani, A., Basavand, F. & Rakhshani, E. (2012).** Chemical composition and insecticide activity of lemon verbena essentiel oil; Journale of Crop Protection **1 (4):** 313-320**.**

**Kioulos, I., Kampouraki, A., Morou, E., Skavdis, G. & Vontas J. (2013).** Insecticide resistance status in the major West Nile virus vector *Culex pipiens* from Greece. Pest. Management. Science **70 (4):** 623–627.

**Knight, K.L. & Stone,A. (1977).** A catalog of the mosquitoes of theworld (diptera: culicidae). 2nd édition. Thomas Say Found. Entomological Society of America. College Park. Maryland **6**: 611.

**Kouider, S. & Attia, L. (2016).** Etude de l’effet des huiles essentielles d’une plante larvicide, *Laurus nobilis* sur une espèce de moustique, *Culex pipiens :* Toxicité, morphométrie, biochimie et biomarqueurs. Mémoire Master. Université Tébessa, p 85.

**-L-**

**Lahlou, M. (2004).** Method to study photochemistry and bioactivity of essential oil. Phototherapy research **18** : 435-448.

**Lenoir, L. (2011).** Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle

D’inflammation colique chez le rat. Université d'Auvergne-Clermont-Ferrand I, p 291.

**Linné, C. (1785).** Systema naturae per regna fria naturae. Edition 10. Holmiae **1**: 82.

**Linnée, P. (1758).** Toxicité relative de deux insecticides organophosphorés l’abate et le Fénitrothion. Inst. Pêches. Macit **37 (1) :** 137-144.

**-M-**

**Madhavi, D.L., Deshpande, S.S. & Salunkhe, D.K. (1996).** Food antioxydant technological, toxicological and health perspectives. Marcel Dekker Inc. New York, P 65.

# Mansour, S.A., Messeha, S.S. & EL Gengaihi, S.E. (2000). Botanical biocides. Mosquitocidal activity of certain *Thymus capitatus* constituents. Journal of Natural Medicines 9: 49-62.

**Marquardt, W. C., Black, W. C., Higgs, S., Freier, J. E., Hagedorn, H. H., Kondratieff, B., Hemingway, J. & Moore, C. G. (2005)**. Biology of Disease Vectors. Second Edition, Elsevier Academic Press.

**Matille, L. (1993).** Les diptères d'Europe occidentale. Introduction, technique d'étude et Morphologie. Nématocères, Brachycères, Orthoraphes et Aschizes. Ed. Boubée, T1. Paris, p 439.

**Mawussi, G. (2008).** Bilan environnemental de l’utilisation de pesticides organochlorés dans les cultures de coton, café et cacao au Togo et recherche d’alternatives par l’évaluation du Pouvoir insecticide d’extraits de plantes locales contre le scolytes du café (Hypothenemus Hampei Ferrari**).** Thèse de Doctorat. Université de Toulouse, p 187.

**Mohammedi, Z. (2006).** Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles essentielles et des flavonoïdes de quelques plantes de la région de Tlemcen. Thèse de Magistère. Université Abou Bakr Belkaïd. Tlemcen, p 155.

**Morin, A. (2002).** Note de cour : les Arthropodes. Biologie, U. d'Ottawa

**Moulinier, C. (2003).** Parasitologie et mycologie médicales, éléments de morphologie et de

Biologie. Cachan : Eminter, p 796.

**Multon, J.L. (1982).** Conservation et stockage des grains et produits dérivés : céréales, oléagineux aliments pour animaux. Lavoisier. Technique ET Documentation. Paris **1:** 576.

**-N-**

**Nuttall, I. (1997).** Web pages, Division of control of tropical Diseases world health organization, Geneva, Switzerland.

**-O-**

**Oskouei Shirvan, Z., Etemad, L., Zafari, R., Moallem, S.A., Vahdati-Mashhadian, N. & Hosseinzadeh, H. (2015).** Teratogenic effect of *Lippia citriodora* leaves aqueous extract in mice. Avicenna .Journal of Phytomedicine **6 (2)** : 175-180.

**-P-**

**Parola, P. (2005).** Utilisation des arthropodes comme outils épidémiologiques et diagnostiques des maladies infectieuses émergentes.

**Pascual, M.E., Siowing, K., Carretero, E. & Sanchez Mata, D.V. (2007).** *Lippia* traditional Uses, chemistry and pharmacology*.* Journal of Ethnopharmacology **76**: 201-214.

# Patrice, L. & Philipe, B. (2012). Le guide entomologique - Plus de 5000 espèces européennes .édition Delachaux et Niestle SA. Paris, p 527.

**Pauli, A. (2001)**. Antimicrobial properties of essential oil constituents. International Journalof Aromathérapy**11 (3**) : 126-133.

**-R-**

**Raymond, M. (2005).** L’aromathérapie chez le nourrisson et le petite enfant. Thèse de Doctorat. Université de Nantes, p 101.

**Rehimi, N. & Soltani, N. (1999**). Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis inhibitoragonist *Culex pipiens L*. (Diptera: Culicidae). Effects on development and cuticule secretion. Journal of Applied Entomology **123:** 437- 441.

**Resseguier, P. (2011).** Contribution à l’étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens.* Thèse d’exercice. Ecole nationale de Toulouse-ENTV, p 80.

**Rey, D., Cunay, A., Pautou, M. & Meryan, J. (1999).** Differential sensitivity of mosquito taxa to vegetable tannis, Journal of Chemical Ecology **25:** 161-169.

**Rhayour, K. (2002)**. Etude du mécanisme de l’action bactéricide des huiles essentielles sur

*Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*.

Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc, p 170.

**Rhodain, F. & Perez, C. (1985)**. Précis d’entomologie médicale et vétérinaire. Maloine .SA Editeur 27, Rue de l’école médecine 75006. Paris, p 443.

**Richard, F. (1992).** Manuels des corps gras. Paris édition Lavoisier, Technique & Documentation, p 1228-1242.

**Ripert, C. (2007*)***. Epidémiologie des maladies parasitaires. Tome 4. Affections provoquées ou transmises par les arthropodes. Cachan. EM inter p 581.

### Roeder, T. (1999). Octopamine in invertebrates. [Progress in Neurobiology](https://www.journals.elsevier.com/progress-in-neurobiology) 59: 533-561.

**-S-**

**Saidi, S. (2014).** Etude de l'effet antioxydant des huiles essentielles de *Lippia ciiriodora* de la région de Tlemcen. Thèse de Master. Université Tlemcen, p 37.

**Schaffner, F., Angel, G., Geoffroy, B., Hevry, J.P., Rhaiem, A. & Brunhes, J. (2001).**

Moustiques d'Europe. Institut de recherche pour le développement IRD. Logiciel d'identification.

**Sharkay, T.D. & Sunsun, Y. (2001).** Annual Review of plant physiology and plant molecular biology **52**: 407-436.

**Shirner, M**. **(2004).** Les huiles essentielles : description et utilisation de plus de 200 huiles essentielles et huiles végétales. Guy trédaniel. Paris, p 324.

**Slimani, N. & Dahmane, M.** **(2013).** Effet des huiles essentielles extraites à partir des feuilles de *Mentha Spicata, Mentha pulegium, Eucalyptus camaldulensis, Lippia citriodora, Ocimum* *basilicum* sur quelques bactéries pathogènes. Mémoire de Master. Université de Hassiba Ben Bouali-Chlef.

**Sinegre, G., Jilien, J.L. & Gaven B. (1977).** Acquisition progressive de la résistance au chlorpyrifos chez les larves de *Culex pipiens (L)* dans le Midi de la france, Parasitologia**19 (1/2)** : 79-94.

**Soliman, B.A. & El-Sherif, L.S. (1995).** Larvicidal effect of some plant oils on mosquito *Culex pipiens.L* (Diptera: Culicidae), Journal of the Egyptian-German Society of Zoology. Invertebrate zoology & parasitology **16 :** 161-169.

**Subra, R. & Hébrard, G. (1975).** Ecologie larvaire de *Culex pipiens fatigans* Wiedemann, 1828 (Diptera, Culicidae) dans une Zone de Haute Endémie Filarienne (Mayotte, Archipel des Comores). Tropen medizinund Parasitologie **26 (1**) : 48-59.

**-T-**

**Taleb-Toudert, K., Bellanteur, K.,** **Haddad, N., Ouazzoug, T. & Kellouche, A.** **(2002).** Extraction et caracterisation de l'huile essentielle d’*aloysia triphylla.* Evaluation in vitrode son effet sur la croissance de certains agents pathogènes de l'homme. Département de biologie Faculté des sciences biologiques et des sciences agronomiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou. Algérie, p 14.

## Tchoumbougnang, F., Dongmo, P. M.J., Sameza, M.L., Mbanjo, E.G.N., Fotso, G.B.T., Zello, P.H.A. & Menut, C. (2009). Activité larvicite sur *Anopheles gambiae* Gites et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement 13 (1) : 77-84.

**Thomas, C.J. & Callaghan, A. (1999).** The use of garlic (*Allium sativa*) and lemon peel (*Citruslimon*) extracts as *Culex pipiens* larvicides: persistence and interaction with an organophosphate resistance mechanism, Chemosphere**39:** 2489-2496.

**Tine-Djebbar, F**. **(2009).** Bio écologie 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 de Doctorat. Université Badji Mokhtar. Annaba, p 168.

**Tine-Djebbar, F., Bouabida, H & Soltani, N. (2016)** Répartition spatio temporelle des Culicidés dans la région de tebessa**.** Editions universitaires européennes. Tebessa, P 105.

**Traboulsi, A., El-Haj, S., Tueni, M., Taoubi, K., Nader, N.B. & Mrad, A. (2005**). Repellency and toxicity of aromatic plant extracts against mosquito *Culex pipiens molestus* (Diptera:Culicidae). Pest Management science **61**: 597–604.

**-U-**

**Urquhart, G.M., Armour, J. & Duncan, J.L. (1996).** Veterinary Parasitology, 2nd Edition, Oxford: Blackwell sciences, p 307.

**-V-**

**Valnet, M. (2005).** Antibacterial activity of 11 essential oils against Bacillus cereuses in tyndallized carrot broth international journal of food microbiology **85**: 73-81.

**Vatandoost, H., Sanei Dehkordi, A., Sadeghi, S.M.T., Davari, B., Karimian, F., Abai, M.R. & Sedaghat, M.M. (2012).** Identification of chemical constituents and larvicidal activity of *Keulussia odoratissima Mozaffarian* essential oil against two mosquito vectors Anopheles stephensi and *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). Elsevier **132**: 470-474.

**-W-**

**Wall, R. & Shearer, D. (1997).** Veterinary entomology. London: Chapman & Hall, p 439.

**Wigglesworth, V.B. (1972).** The principles of Insect physiology: Seventh Edition. Chapman and Hall. London. England, p 827.

**Wilson, J.D., Morris, A.J., Arroyo, B.E., Clark S.C. & Bradbury, R.B. (1999)**. A review of the abundance and diversity of invertebrate and plant foods of granivorous birds in northern Europe in relation to agricultural change. Agriculture Ecosystem Environement**75** : 13-30.

**-Z-**

**Zhiri, A. (2006)**. Les huiles essentielles un pouvoir antimicrobien avéré. Nutra News Science, Nutrition, Prévention et santé. Edité par la Fondation pour le libre choix **12**: 8.