



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 : Biologie appliquée

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie (SNV)

Filière : Sciences Biologiques

Option: Biologie Moléculaire et Cellulaire

Thème :

**Effet de l'huiles essentielle d'une plante larvicide *Lippia citrodora*
sur une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*: Aspect
morphométrique et biochimique.**

Présenté par

ZERGUI Meriem

MALAOUI Asma

Devant le jury :

Dr. MESSAADIA Amira

MCB

Université de Tébessa

Président

Mme. SEGHIER Hanane

MAA

Université de Tébessa

Promoteur

Dr. AMAMRA Rima

MCB

Université de Tébessa

Examineur

Date de soutenance : **17/06/2019**

قصص محمد صلى الله عليه وسلم



Remerciements

Tout d'abord, on tient à remercier Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage et la patience pour mener à terme notre formation Master.

A nos parents et tous nos frères et sœurs de leur soutien et leur grande affection et les grands efforts pour nous aider à réaliser ce travail

En particulier Nous adressons toute notre gratitude à :

Notre encadreur Mme. SEGHIER Hannane, son savoir, son ouverture d'esprit, ses conseils qu'elle nous a prodigué et pour son aide durant toute la période pour l'élaboration de ce recueil ont marqué à jamais notre pensée, sa disponibilité, on la remercie pour la qualité de leur encadrement et leur patience.

Un grand remerciement aux honorables membres du jury :

Dr. MESSAADIA Amira d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'il trouve ici toutes nos expressions respectueuses.

Dr. AMAMRA Rima d'avoir accepté de faire partie des membres du jury

Nos remerciements s'adressent également à ceux qui ont Contribué De loin ou de près à la réalisation de ce travail

Résumé

Les moustiques sont des agents nuisant et des vecteurs de nombreuses maladies humaines et animales. La lutte contre ces insectes hématophages dépend de l'utilisation d'insecticides chimiques ciblant les adultes ou les larves. Cependant, des phénomènes de pollution et de résistance à différentes classes d'insecticides chimiques, menacent aujourd'hui l'environnement en général et l'homme en particulier. C'est pourquoi la lutte par les bioinsecticides est très recommandée.

Dans ce contexte, ce travail a pour but d'évaluer les réponses des populations d'une espèce de moustique, *Culiseta longiareolata*, (L3, L4, pupes et adultes) à l'impact d'une huile essentielle (CL25, CL50), plusieurs aspects ont été déterminés.

Aspect morphométrique est représentés, par le poids et le volume corporel des nymphes nouvellement exuvies et des adultes de *Culiseta longiareolata*. L'analyse des données montre que l'H.E de *Lippia citriodora* affecte le poids et le volume corporel des nymphes.

Aspect biochimique : l'expérimentation a pour but de déterminer l'effet de *Lippia citriodora* sur le contenu en protéines, glucides et lipides. Les résultats obtenus indiquent que l'HE de *Lippia citriodora* engendre une diminution des protéines, des lipides et des glucides.

Mots clés : *Culiseta longiareolata*, *Lippia citriodora*, huiles essentielles, aspect morphométrique, aspect biochimique

Abstract

Mosquitoes are harmful agents and vectors of many human and animal diseases. Control of these hematophagous insects depends on the use of chemical insecticides targeting adults or larvae. However, phenomena of pollution and resistance to different classes of chemical insecticides, threaten the environment in general and the man in particular. For this reason bioinsecticide's control is highly recommended.

In this context, this work aims to evaluate the responses of populations of a mosquito species, *Culiseta longiareolata*, (L3, L4, pupa and adult) to the impact of essential oils (CL25, LC50), several aspects have been determined.

Morphometric aspect : is represented by the weight and body volume of newly exuviated nymphs and adults of *Culiseta longiareolata*. Data analysis shows that EO of *Lippiacitriodora* affects the weight and body volume of nymphs.

Biochemical aspect: the experiment aims to determine the effect of *Lippia citriodora* on the content of proteins, carbohydrates and lipids. The results obtained indicate that the *Lippiacitriodora* EO decrease the level of proteins, lipids and carbohydrates contains.

Key words: *Culiseta longiareolata*, *Lippia citriodora*, essential oils, morphometric aspect, biochemical aspect.

ملخص

يعد البعوض من العوامل الضارة وناقلات الأمراض البشرية والحيوانية. تعتمد السيطرة على هذه الحشرات التي تتغذى على الدم على استخدام المبيدات الحشرية الكيميائية التي تستهدف البالغين أو اليرقات. ومع ذلك ، فإن ظاهرة التلوث ومقاومة أنواع مختلفة من المبيدات الحشرية الكيميائية تهدد اليوم البيئة بشكل عام والانسان بشكل خاص. لهذا ينصح بمكافحة البعوض بالمبيدات الحيوية .

في هذا السياق ، يهدف هذا العمل إلى تقييم استجابات مجموعات نوع من البعوض *Culiseta longiareolata*

اليرقات L3, L4 والشرانق ومرحلة البالغين لتأثير الزيوت الأساسية (CL25 ، CL50) عدة جوانب تم تحديدها

المظهر القياسي يتمثل في الوزن وحجم الجسم الشرانق الخارجة حديثاً والبالغين في *Culiseta longiareolata*

يُظهر تحليل البيانات أن الزيت الاساسي لنبتة اللوزة يؤثر على وزن وحجم جسم الشرانق.

المظهر البيوكيميائي : تهدف التجربة إلى تحديد تأثير نبتة اللوزة على محتوى البروتينات والكربوهيدرات والدهون.

تشير النتائج التي حصلنا عليها أن الزيت الأساسي لنبتة اللوزة يسبب انخفاضاً في البروتينات والكربوهيدرات والدهون

الكلمات الرئيسية :

Culiseta longiareolata ، *Litia citriodora*، الزيوت الأساسية ، المظهر القياسي، المظهر الكيميائي الحيوي

Sommaire

1.Introduction	01
2. Matériel et Méthodes	03
2.1. Présentation de <i>Culisetalongiareolata</i>	03
2.1.1. Caractéristiques	04
2.1.2. Position systématique	05
2.1.3 . Cycle de développement	05
2.1.4. Technique d'élevage	07
2.2. Présentation de <i>Lippiacitriodora</i>	08
2.2.1. Origine	08
2.2.2 . Classification de <i>Lippiacitriodora</i>	09
2.2.3. Habitat et culture	09
2.2.4. Composition chimique de la plante <i>Lippiacitriodora</i>	09
2.2.5. Utilisation de <i>Lippiacitriodora</i>	10
2.3. Huiles essentielles	10
2.3.1. Définition des huiles essentielles	10
2.3.2. Caractéristiques et propriétés des huiles essentielles	11
2.3.3. Localisation des huiles essentielles dans les plantes	11
2.3.4. Rôle des huiles essentielles chez les plantes	12
2.3.5. Activités biologiques des Huiles essentielles	12
2.3.5.1. Activité insecticides	12
2.3.5.2. Activité antioxydante	13
2.3.5.3. Activité antibactérienne	13
2.3.5.4. Activité antifongique	14
2.4. Extraction et rendement d'HE de <i>L. Citriodora</i> par hydrodistillation	14
2.5. Traitement	15
2.6. Etude morphométrique	16
2.7. Extraction et dosage des métabolites	16
2.7.1. Dosage des protéines totales	19
2.7.2. Dosage des glucides totaux	19
2.7.3. Dosage des lipides totaux	20

2.8. Analyse statistique	21
3. Résultats	22
3.1. Rendement	22
3.2. Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> sur la croissance pondérale de <i>Culisetalongiareolata</i>	22
3.3. Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> sur le volume corporel de <i>Culisetalongiareolata</i>	24
3.4. Impact de <i>Lippiacitriodora</i> sur la composition biochimique de <i>Culisetalongiareolat</i>	26
3.4.1. Effet sur le contenu en protéines totales	27
3.4.2. Effet sur le contenu en glucides totaux	27
3.4.3.Effet sur le contenu en lipides totaux	31
4.Discussion	34
4.1. Rendement en huile essentielle	34
4.2.Effet des huiles essentielles de <i>Lippiacitriodora</i> sur la croissance	34
4.3.Effet des huiles essentielles extraites de <i>Lippiacitriodora</i> sur la composition biochimique	36
Conclusion	
Références Bibliographiques	

Liste des tableau

Tableau	Titre	Page
Tableau01	La position systématique de <i>Culisetalongiareolata</i> comme suit ((Paul, 2009)	05
Tableau02	Classification botanique d' <i>Aloysiacitriodora</i> (Ghédira et Goetz, 2017)	09
Tableau03	Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	19
Tableau04	Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	20
Tableau05	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	20
Tableau06	Caractéristiques Organoleptiques des huiles essentielles de <i>L. citriodora</i>	22
Tableau07	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des nymphe de <i>Culisetalongiareolata</i>	22
Tableau08	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des adultes mâles et femelles de <i>Culisetalongiareolata</i>	23
Tableau09	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm ³) des nymphes de <i>Culisetalongiareolata</i> à différentes périodes	25
Tableau10	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm ³) des adultes mâles et femelles de <i>Culisetalongiareolata</i>	26
Tableau11	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en protéines totaux (µg/individu) chez les larves du troisième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> .	27
Tableau12	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en protéines (µg/individu) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> .	29

Tableau13	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du troisième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> .	30
Tableau14	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> .	31
Tableau15	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du troisième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> .	32
Tableau16	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> .	33

Liste des Figure

Figure	Titre	Pages
Figure01	<i>Culisetalongiareolata</i> (femelle)	03
Figure02	<i>Culisetalongiareolata</i> (Male)	03
Figure03	Dents du peigne siphonal (flèche)De <i>Culisetalongiareolata</i>	04
Figure04	Taches d'écailles sombres sur l'ail (flèche) de <i>Culisetalongiareolata</i> .	04
Figure05	Trois bandes blanches longitudinales(flèche) de <i>Culisetalongiareola</i>	05
Figure06	Cycle de développement de <i>Culisetalongiareolata</i>	07
Figure07	Les sites d'élevages des moustiques	08
Figure08	La verveine	08
Figure09	Montage de l'hydro distillateur de type Clevenger (Photo personnelle)	15
Figure10	Larves traitées (photo personnelle)	16
Figure11	Extraction des glucides, protéines et lipides totaux	18
Figure12	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des nymphes chez <i>Culisetalongiareolata</i> à différentes périodes	23
Figure13	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des adultes mâles et femelles chez <i>Culisetalongiareolata</i>	24
Figure14	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm ³) des nymphes chez <i>Culisetalongiareolata</i> à différentes périodes	25
Figure15	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm ³) des adultes mâles et femelles chez <i>Culisetalongiareolata</i>	26
Figure16	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en protéines totaux (µg/individu) chez les larves du troisième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> à différentes périodes	28
Figure17	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50)	29

	sur le contenu en protéines ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> à différentes périodes.	
Figure18	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> à différentes périodes.	30
Figure19	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> à différentes	31
Figure20	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du troisième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> à différentes périodes	32
Figure21	Effet des H.E extraites de <i>Lippiacitriodora</i> (CL25 et CL50) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> à différentes périodes.	33

Introduction

Introduction

Introduction

Les insectes qui constituent plus de 50% de la diversité de la planète (Wilson, 1988) et près de 60% de celle du règne animal (Pavan, 1986) prennent de plus en plus d'importance dans la recherche. Ils appartenant à l'embranchement des Arthropodes. Sont caractérisés par une paire d'ailes, ces diptères comptent plus de 3500 espèces réparties majoritairement au sein des trois genres principaux *Aedes*, *Anopheles* et *Culex* (Resh et Carde, 2003). Grâce à leurs fortes capacités d'adaptation et de vol, ils sont aujourd'hui présents partout dans le monde, là où se trouve de l'eau non gelée, essentielle pour leur développement.

En Algérie, les plus anciens travaux réalisés sur les *Culicidae* d'Algérie remontent au dernier siècle, les recherches effectuées ensuite par (Clastrieri, 1941) constituent avec les travaux de (Senevet, 1954 ; Anarelli, 1956) une étape importante dans la connaissance de la faune Culicidienne Algérienne.

La place importante qu'occupent les moustiques dans la faune terrestre comme aquatique d'une part, et la lutte contre les maladies transmises par leurs piqûres d'autre part, font de ces Arthropodes un matériel d'étude important pour les biologistes

Il existe plus de 3000 espèces de moustiques dans le monde, seules 66 espèces sont reconnues en Afrique du Nord dont 50 espèces ont été signalées en Algérie (Hassaine, 2002).

En Algérie *Culiseta longiareolata* est considéré parmi les espèces les plus abondantes et a une grande importance médicale et vétérinaire (Gomes et al., 2009)

L'accumulation significative de matières actives dans les écosystèmes traités, aquatiques et terrestres est un problème de pollution. Par ailleurs, les substances actives des produits utilisés présentent un large spectre d'action et n'épargnent pas les organismes non cibles. À tous ces inconvénients s'ajoute aussi un grand problème de développement de résistance aux insecticides chimiques, chez les insectes traités (Georghiou et al., 1975 ; Sinegreet al., 1977).

Une deuxième méthode est devenue incontournable ces derniers temps, c'est l'utilisation de plantes dans la lutte anti vectorielle, en effet ces extraits de plantes aqueux ou sous forme d'huiles essentielles contiennent des substances toxiques pouvant agir efficacement sur les moustiques. C'est des sources de molécules naturelles présentant un grand potentiel d'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal (Guarrera, 1999).

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

Introduction

chimique et biologique à l'égard des moustiques (Bendali et *al.*,2001; Boudjelida et *al.*, 2005; Tine-Djebbar et Soltani, 2008; Tine- Djebbar,2009; Messai et *al.*, 2010; Tine-Djebbar et *al.*, 2011).

Dans ce contexte, notre travail s'intéresse à évaluer les réponses des populations d'une espèce de moustique, *Culisetalongiarelata* à l'impact d'un nouvel insecticide à base d'huiles essentielles de *Lippiacitriodora*.

Notre travail sera présenté comme suit :

La première partie sera consacrée pour les données bibliographiques sur *Culisetalongiarelata*, *Lippiacitriodora* et les huiles essentielles.

La deuxième partie concerne la partie expérimentale, qui comporte les réponses d'une espèce de moustique *Culisetalongiarelata* à l'impact des huiles essentielles de *Lippiacitriodora*. deux aspects ont été étudiés :

➤ Aspect morphométrique des nymphes nouvellement exuviées et des adultes males et femelles témoins et traitées avec une concentration sous létale (CL25) et une concentration létale (CL50) à différentes périodes (24, 48 et 72 heures).

➤ Aspect biochimique des larves 3^{ème} et 4^{ème} stade témoins et traitées (CL25 et CL50) de *Culisetalongiarelata* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures).

Enfin, une conclusion générale qui résume l'ensemble des résultats obtenus.

Matériel et Méthodes

2. Matériel et méthodes

2.1. Présentation de *Culisetalongiareolata*

Est un insecte nuisible à métamorphose complète, plus abondant dans les régions chaudes. Il fait partie des Diptères, famille des Culicidés. Ce moustique a une taille qui varie de 3 à 5mm. Il possède un corps mince et des pattes longues et fines avec des ailes membraneuses, longues et étroites (Villeneuve et Desire ,1965).

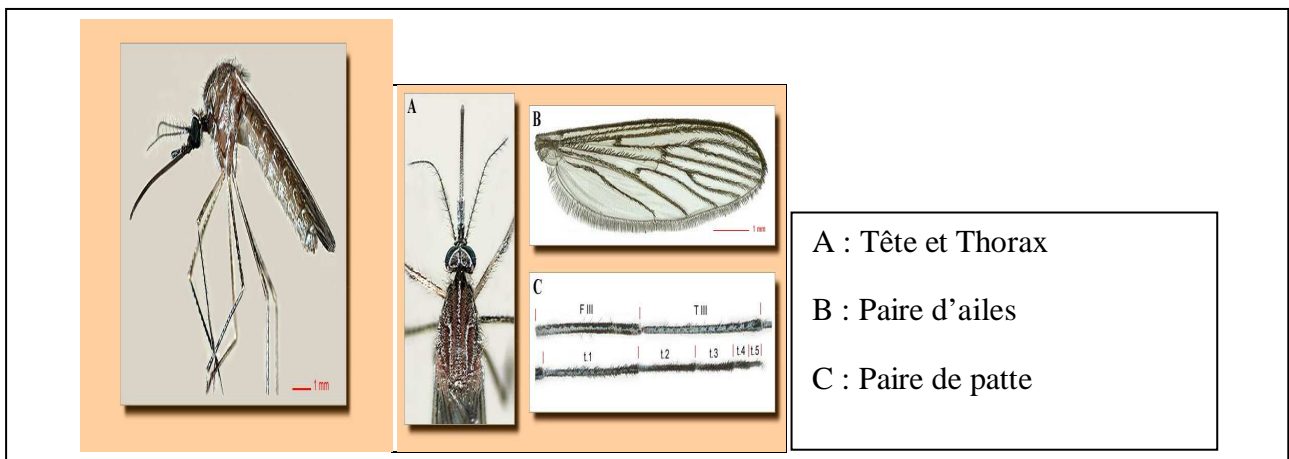


Figure 01 : *Culisetalongiareolata*(femelle).web1



Figure 02 : *Culisetalongiareolata* (Male.).web2

2.1.1. Caractéristiques

Culiseta longiareolata est multivoltine, présente tout l'année avec un maximum de densité au printemps et un autre en automne (Bruhnes et al., 1999). Les œufs de *Culiseta* 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'écaillage sombre sur l'aile, le thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues et fortes au niveau du lobe basal du gonocoxite (Bruhnes et al., 1999).

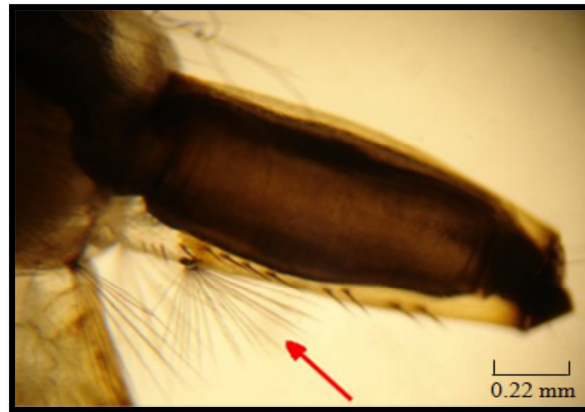


Figure 03 : Dents du peigne siphonal (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Bouabida, 2014).

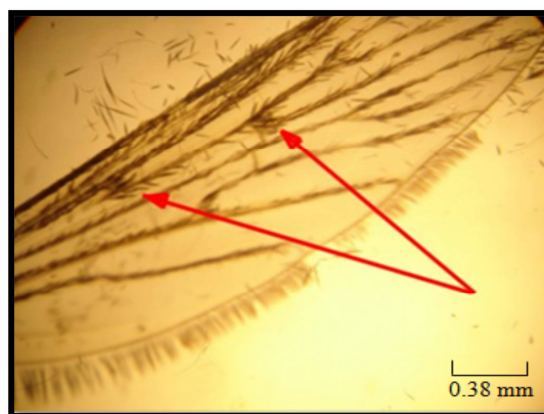


Figure 04 : Taches d'écailles sombres sur l'aile (flèche) de *Culiseta longiareolata*. (Bouabida, 2014).



Figure 05 : Trois bandes blanches longitudinales (flèche) de *Culisetalongiareolata* (Bouabida, 2014).

2.1.2. Position systématique

Tableau01 : La position systématique de *Culisetalongiareolata* est comme suit ((Paul, 2009)

Règne : Animalia
Sous-règne : Metazoa
Embranchement : Arthropoda
Classe : Insecta
Sous-classe : Pterygota
Ordre : Diptera
Sous-ordre : Nematocera
Famille : <i>Culicidae</i>
Sous-famille : <i>Culicinae</i>
Genre : <i>Culiseta</i>
Espèce : <i>Culisetalongiareolata</i> (Aitken, 1954)

2.1.3. 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 (Poupardin, 2011).

A. Œufs

Les femelles pondent les œufs sur la surface des gîtes différents (bassins, puits abandonnés, trous des rocher, mers, étangs, canaux, citernes, eau de pluie...), dont l'état de l'eau est toujours stagnant 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)

B. Larves

Le développement des larves à ce stade est exclusivement aquatique, leur déplacement est assuré par des mouvements frétillants caractéristiques, et leur évolution comporte quatre stades, de taille variant de 2mm à 12mm (Boulkenafet, 2006). Les larves vivent environ 10 jours. La rapidité du développement des larves dépend de la quantité de nourriture contenue dans l'eau du gîte (Peterson, 1980).

C. Nymphes

La nymphe ou pupa est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (Boulkenafet, 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 duquel l'insecte subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte (Peterson, 1980).

D. Adultes (ou l'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 (Boulkenafet, 2006).

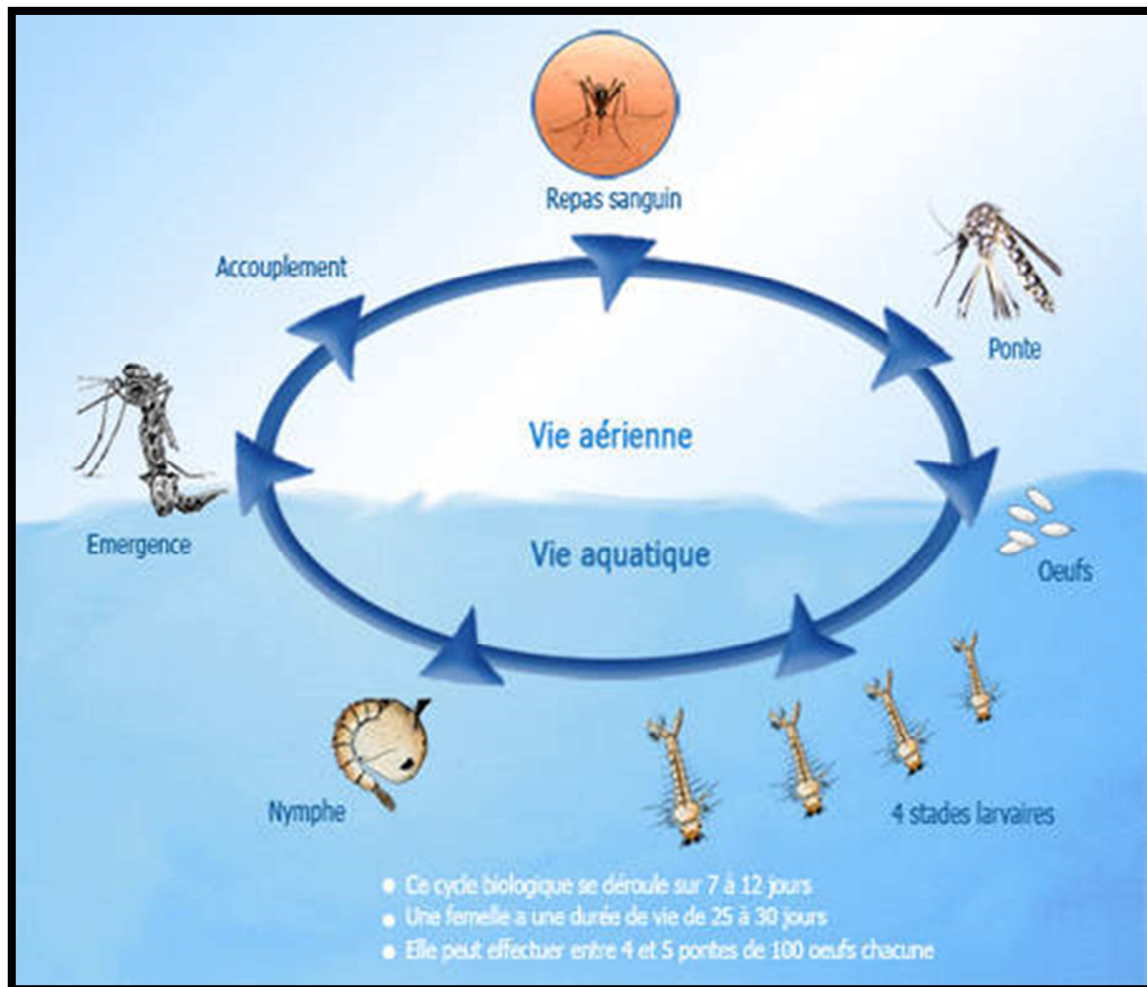


Figure06 :Cycle de développement de *Culiseta longiareolata*.web3

2.1.4. Technique d'élevage

Un élevage de masse est réalisé en laboratoire à partir des oeufs de *Culiseta longiareolata* récoltés dans la région de Tébessa, où elle est très répandue (Salmi-Bouabida, 2014). Après éclosion, les larves sont élevées dans des récipients contenant 150 ml d'eau déchlorurée et maintenue à une température de 25°C. La nourriture, composée d'un mélange de biscuit (75%) et de levure sèche (25%), est fournie quotidiennement (Rehimi et Soltani, 1999). L'eau est renouvelée chaque deux jours.



Figure 07 : Les sites d'élevages des moustiques

2.2. Présentation de *Lippiacitriodora*

La verveine est un arbrisseau cultivé dans les jardins, communément appelé ‘‘*Louizaou Tizana*’. C'est dire combien la popularité de la verveine odorante est grande en Algérie. Cette plante ramifiée est caractérisée par un parfum très agréable rappelant l'odeur du citron, que ces feuilles et ses fleurs exhalent. La verveine peut atteindre 2 m de haut, ses rameaux sont blanchâtres et ses feuilles lancéolées et rugueuses sont disposées en rosette par trois le long des tiges, au sommet desquelles apparaissent des gerbes de minuscules fleurs blanches disposées également par groupe de trois. Les feuilles récoltées avant la floraison et froissées dégagent une odeur citronnée agréable. Elles contiennent une huile essentielle composée de citral, de terpènes, de géraniol (Slimani et Dahmane, 2013).



Figure 08: La verveine (Duflos, 2015)

2.4.1. Origine

Originnaire d'Amérique du sud, la verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés comme plante aromatique et ornementale. Le genre *Lippia* montre une grande diversité génétique, ce qui lui permet de synthétiser une variété de constituants de l'huile essentielle dans des plantes cultivées dans les différentes parties du monde (Slimani et Dahmane, 2013).

2.2.2. Classification de *Lippiacitriodora*

Tableau02 : Classification botanique d'*Aloysiacitriodora*(Ghédira et Goetz,2017)

Règne	Plantea
Super-division	Embryophyta
division	Tracheophyta
Classe	Magnoliopsida
Supé ordre	Asteranae
Ordre	Lamiales
Famille	Verbenaceae
genre	AloysiaJuss
Espèce	<i>Aloysiacitriodora</i>

2.2.3. Habitat et culture

La verveine odorante est cultivée sous les climats tempérés comme plante aromatique etornementale, 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*, 2007). La verveine odorante 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 entraîne 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 4 °C(Botrel, 2001).

2.2.4. Composition chimique de la plante *Lippiacitriodora*

Les parties utilisées de la plante sont les feuilles, fraîches ou séchées. L'infusé de feuilles de verveine odorante soit largement consommé. Les feuilles contiennent des composés phénoliques à une concentration de 675 mg/l: dérivés hydroxycinnamique avec verba oside (5,3%), flavonoïdes tel que lutéoléine 7- glucoside et luteolin 7-diglucuronide (0,8%) et du potassium 440 mg/ml. D'un point de vue quantitatif, la concentration en polyphénols de l'infusion de verveine odorante a été évaluée à 675 mg/l dont 24% de flavonoïdes et 76% d'acides phénoliques (Lenoir, 2011). Les feuilles de la verveine contiennent aussi des huiles essentielles (0, 2- 1%): les principaux composés (10-40%) sont : citral, géraniol et limonène (Carnat et *al*, 1999).

2.2.5. Utilisation de *Lippiacitriodora*

Aloysiacitriodora a connu une longue histoire dans la médecine traditionnelle tel que le traitement de l'asthme, du rhume, de la fièvre et de la grippe, elle est utilisée pour lutter contre les flatulences, les coliques, la diarrhée, l'indigestion, l'insomnie et l'anxiété (Abuhamdah et al, 2013). Laverveine odorante est également utilisée contre les états nerveux, les palpitations, les migraines, les bourdonnements d'oreille et les vertiges (Pascual et al, 2001), elle est également utilisée pour baisser le taux de glycémie. Les huiles essentielles de cette plante sont utilisées dans le traitement des cancers (Yousef zadeh et Meshkatalasadat, 2013). Des analyses menées *in vitro* à l'aide de différents tests ont permis de montrer les propriétés antioxydantes, antispasmodiques et anti-inflammatoires de l'infusé. Des chercheurs ont montré que l'huile essentielle d'*Aloysiacitriodora* possède une activité antibactérienne vis-à-vis d'*Escherichia coli*, de *Mycobacterium tuberculosis*, de *Staphylococcus aureus* et d'*Helicobacter pylori* (Cheurfa, 2016). Aussi, Les feuilles de verveine, fraîches et finement hachées, servent en petites quantités pour agrémenter des salades de fruits ou de légumes, les desserts, les sauces pour flans, les gâteaux, les crèmes aux œufs, les tartes aux fruits et les boissons rafraichissantes. Les feuilles séchées, ajoutées à une dose de sucre, lui confèrent un arôme agréable (Eberhard, 2001).

2.3. Huiles essentielles

2.3.1. Définition des huiles essentielles

Les huiles essentielles (HE) ou essences végétales sont des substances odorantes volatiles contenues dans les végétaux supérieurs. Ce sont des produits huileux donc de nature hydrophobe, extraits du matériel végétal, soit par distillation à la vapeur d'eau, soit par expression, enflourage ou incision (Valnet, 1984). Elles se différencient des huiles grasses, par leurs propriétés physiques et leur composition, du fait qu'elles se volatilisent à la chaleur et que leurs taches sur le papier sont passagères (Salle, 1991). (Campion et Parra, 2006).

Les huiles essentielles sont largement répandues dans le monde végétal. Elles se trouvent en quantité appréciable chez environ 2000 espèces réparties en 60 familles botaniques comme par exemple chez les Composées (armoise,...), les Myrtacées (eucalyptus,...), les Rutacées (citron, orange,...),... et les Apiacées (carvi, coriandre, persil,...) (Richter, 1993).

2.3.2. Caractéristiques et propriétés des huiles essentielles

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. Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau sauf les huiles essentielles de sassafras, de girofle et de cannelle (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 tend à se collecter en gouttelettes de grosse taille (Rhayour, 2002 ; Benini, 2007 ; Benayad, 2008). Elles se caractérisent par leurs propriétés organoleptiques (odeur, couleur et goût). Elles sont incolores ou faiblement colorées en jaune pâle. Mais, il en existe des colorées : cannelle (orange) absinthe (vert) et camomille (bleu). Elles sont solubles dans tous les solvants organiques (éther, alcools, hexane, pentane,...). Elles dissolvent les graisses, l'iode, le soufre, le phosphore et réduisent certains sels. Leur indice de réfraction est élevé et elles possèdent un pouvoir rotatoire. On leur attribue différents indices chimiques (indice d'acide, d'ester, de carbonyle,...). (Luque de Castro et *al.*, 1999)

En outre, elles s'oxydent et se polymérisent facilement. Pour éviter cela, il faut les conserver à l'abri de la lumière et de l'air.

2.3.3. 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 certaines 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).

2.3.4. 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).

2.3.5. 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, antioxydantes et antiparasitaires. Plus récemment on leur reconnaît 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).

2.3.5.1. 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

Matériels et méthodes

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 Facon 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.

2.3.5.2. Activité antioxydante

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).

2.3.5.3. 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).

Matériels et méthodes

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 géraniol) et des monoterpènes (α -pinène, β -pinène, p-cymène et γ -terpinène...etc) (Daferera *et al.*, 2000; Baranauskienė *et al.*, 2003 ; Burt, 2004; Zhiri, 2006).

2.3.5.4. 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 décroît selon le type de la fonction chimique : Phénols > Alcools > Aldéhydes > Cétones > Esters > Hydrocarbures (Benayad, 2013).

2.4. Extraction et rendement d'HE de *L. citriodor* par hydrodistillation

L'hydrodistillation reste la technique d'extraction la plus utilisée et la plus rapide pour l'obtention des meilleurs rendements, sans altération des huiles essentielles fragiles. Leur principe correspond à une distillation hétérogène qui met en jeu l'application de deux lois physiques (El haib, 2011 ; El kalamouni, 2010). L'extraction se fait au niveau de laboratoire de Tébessa par l'utilisation de système de type Clevenger.

Après séchage de matériel végétal à l'air libre (on a utilisé les feuilles de *lippiacitrodora*), 50g de matière sèche est introduit dans le ballon à fond rond et à 3 cols ou fiole d'un litre surmonté d'une colonne de 60 cm de longueur avec 500 ml d'eau distillée. Le ballon et son contenu sera mis sur une chauffe ballon à une température voisine de 100 C° et raccordé avec le reste de l'appareil d'extraction (Figure 09). Adopter ensuite le ballon à l'appareil de condensation. Laisser le mélange en ébullition pendant 3 heures. Pendant ce temps, le vapeur se dirige vers le col du cygne puis dans le réfrigèrent ou elle se condense rapidement et tombe, dans l'ampoule de décantation, sous forme d'huile.

Les huiles essentielles recueillent 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'huiles essentielles de *lippiacitrodora* sera par suite récupérer et stockée à 4°C à l'obscurité dans un flacon en verre approprié, hermétique 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 (Bouguerra, 2012 ; Mawussi ; 2008 ; Tchoumbounganget *al.*, 2009). Le

Matériels et méthodes

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 :

$$R = \frac{PB}{PA} \times 100$$

R : Rendement en huile en %

PB : Poids de l'huile en g

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

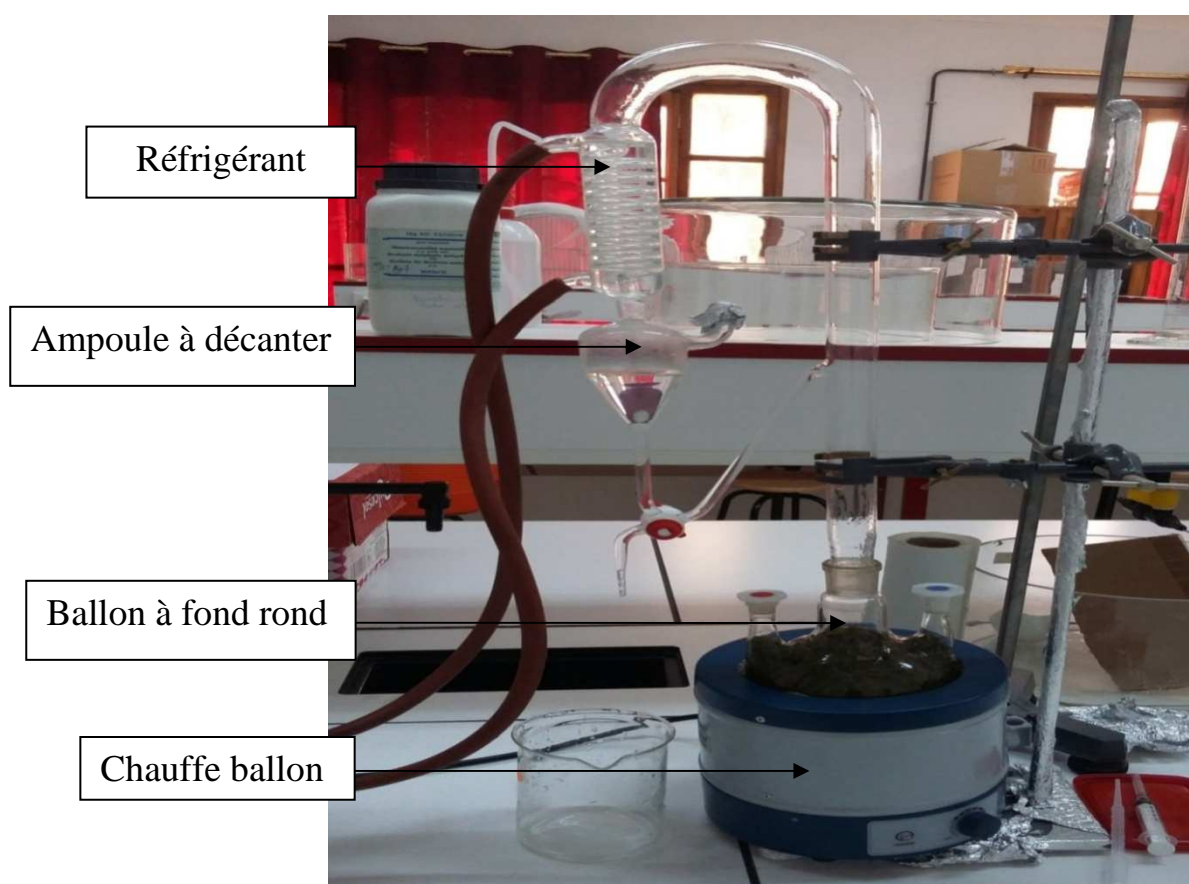


Figure 9 : Montage de l'hydro distillateur de type Clevenger (Photo)

2.5. Traitement

Nous avons préparé une solution d'huile essentielle de *Lippiacitriodora* dans le méthanol, deux doses correspondant à :

- 6,176 ppm à CL25 et 10,36 ppm à CL50 pour les L3.
- 8,798 ppm à CL25 et 13,27 ppm à CL50 pour les L4.
- 6,599 ppm à CL25 et 19,01 ppm à CL50 pour les nymphes.

Après l'agitation, 1ml de chaque solution préparée ont été appliquées dans des récipients contenant 150 ml d'eau déchlorurée et 25 larves du troisième, quatrième stade et

Matériels et méthodes

nymphes nouvellement exuviées de *Cs longiareolata*. Après 24 h de traitement, les larves sont rincées et placées dans de nouveaux récipients contenant de l'eau propre et de la nourriture.



Figure10 : Larves traitées (photo personnelle)

2.6. Etude morphométrique

Plusieurs paramètres morphométriques ont été pris en considération pour les nymphes nouvellement exuviées et les adultes témoins et traitées, pendant 24, 48 h et 72 h.

Tels que :

- Poids des individus.
- Largeur du cephalothorax.
- Longueurs des ailes
- Volume corporel des larves évalué à partir de la valeur cubique de la largeur du thorax (Timmermann et Briegel, 1998).

Les mensurations ont été réalisées à l'aide d'un micromètre gradué et une loupe binoculaire préalablement étalonnée.

2.7. Extraction et dosage des métabolites

L'extraction des différents métabolites a été réalisée selon le procédé de (Shibkoet al., 1966) et les principales étapes sont résumées dans la (Figure11). Les échantillons des larves L3 et L4 nouvellement exuviées témoins et traités à des concentrations CL25 et CL50 sont placés dans des tubes eppendorf contenant 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 % et broyés à l'aide d'un homogénéiseur à ultrason. Après une première centrifugation (5000 trs / min à 4°C, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de (Duchateau et Florkin, 1959). Au culot I, on ajoute 1 ml de mélange

Matériels et méthodes

éter/chloroforme (1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II, le surnageant II sera utilisé pour le dosage des lipides (Goldworthy *et al.*, 1972) et le culot II, dissout dans la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon (Bradford., 1976).

Matériels et méthodes

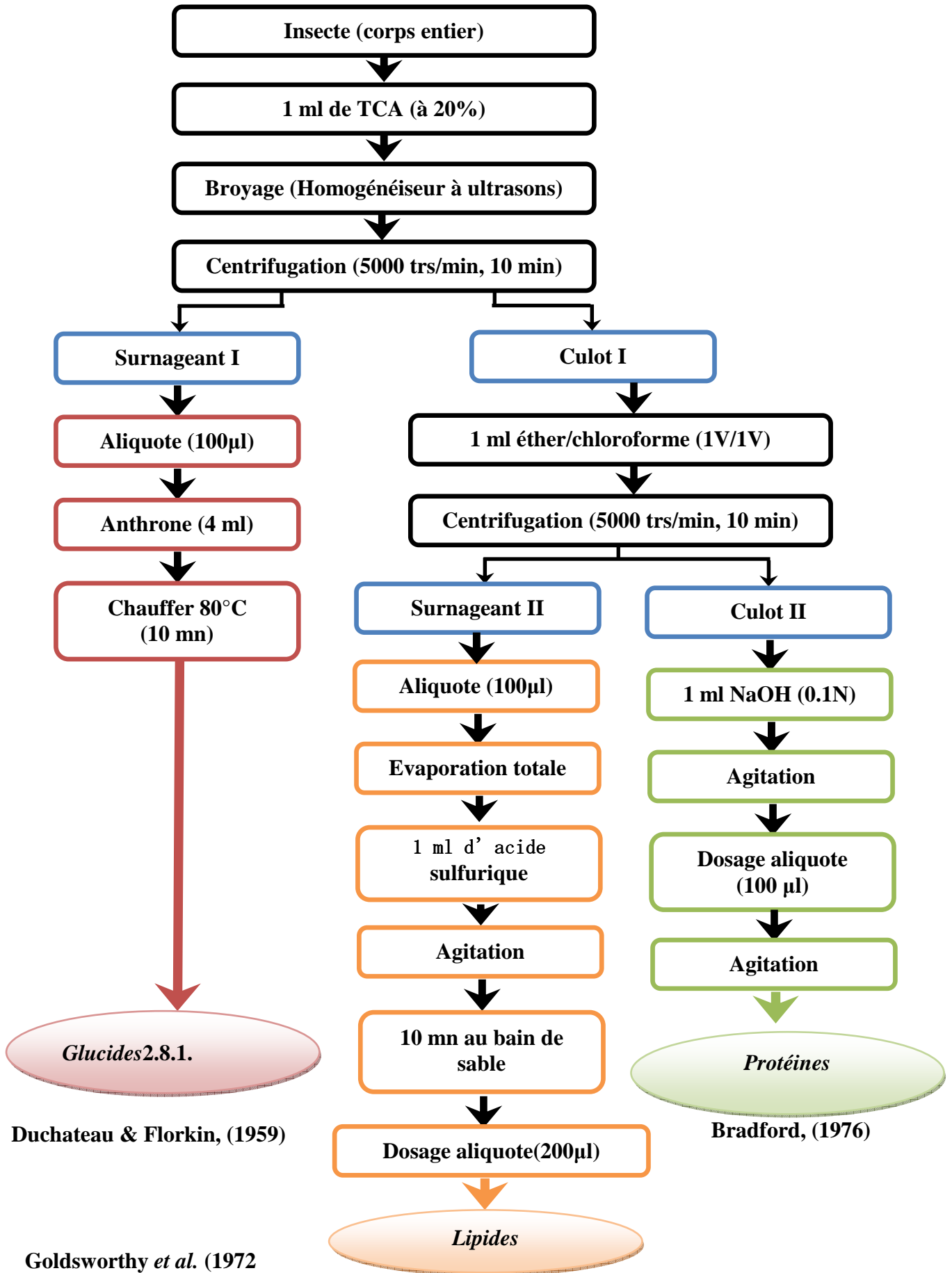


Figure 11 : Extraction des glucides, protéines et lipides totaux (Shibko *et al.*, 1967).

Matériels et méthodes

2.7.1. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976) dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de commassie (BBC) G 250 (Merck). La solution de BBC, se prépare comme suit: On homogénéise 100 mg de BBC, dans 50 ml d'éthanol 95°, on y ajoute ensuite 100 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on complète à 1000 ml avec l'eau distillée. La durée de la conservation du réactif est de 2 à 3 semaines à 4 °C. Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (Sigma) titrant 1 mg/ml (Tableau 03).

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

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

2.7.2. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon Duchateauet Florkin (1959). Elle consiste à additionner 100 µl du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 mn, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon, la lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620 nm. La préparation du réactif d'anthrone se fait comme suit : peser 150 mg d'anthrone, ajouter 75 ml d'acide sulfurique concentré et 25 ml d'eau distillée. On obtient une solution limpide de couleur verte qui est stockée à l'obscurité.

La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/ml).

Matériels et méthodes

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

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

2.7.3. Dosage des lipides totaux

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

Dissoudre 0,38 g de vanilline dans 55 ml d'eau distillée et ajouter 195 ml d'acide orthophosphorique à 85%. Ce réactif se conserve pendant 3 semaines à 4 °C et à l'obscurité. La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V).

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

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

2.9. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été exprimés par la moyenne \pm l'écart-type (SD). L'analyse statistique a été réalisée grâce au logiciel Prisme 7.00 (ANOVA II, test de Dunnett, test de Tukey).

RESULTATS

3. RESULTATS

3.1. Rendement

Les huiles essentielles de *Lippiacitriodora* obtenus par hydro distillation sont de couleur jaune foncée ayant une odeur citronnée, Le rendement d'H.E de *Lippiacitriodora* est 0,41 ±0,09% de la matière sèche de la plante.

Tableau06. Caractéristiques Organoleptiques des huiles essentielles de *L. citriodora*.

Huile essentielle de	Caractères Organoleptiques		
	Aspect	Couleur	Odeur
<i>Lippiacitriodora</i>	Fluide	Jaune foncée	Citronnée

3.2. Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora* sur la croissance pondérale de *Culisetalongiareolata*

* Stade nymphale

Les résultats de l'évolution du poids corporel des nymphes de *Culisetalongiareolata* sont mentionnés dans le tableau7 et la figure 12. Ces résultats présentent une différence très hautement significative entre les séries témoin et traites ($p < 0,0001$)

La comparaison des moyennes entre les séries témoins et traitées par le test dunett, révèle une diminution très hautement significative du poids corporel des nymphes traitées à la CL25 et à la CL50.

Tableau07 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora* (CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des nymphes de *Culisetalongiareolata* à différentes périodes ($m \pm sd$, $n = 3$ répétitions comportant chacune 25 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 (heurs)	Témoin	CL25	CL50
24h	4,84 ± 0,14 a A	2,44 ± 0,21 b A	2,25 ± 0,24 b A
48h	5,44 ± 0,24 a A	2,12 ± 0,43 b A	1,72 ± 0,42b A
72h	5,50 ± 0,50 a A	1,68 ± 0,23b A	1,56 ± 0,26 b A

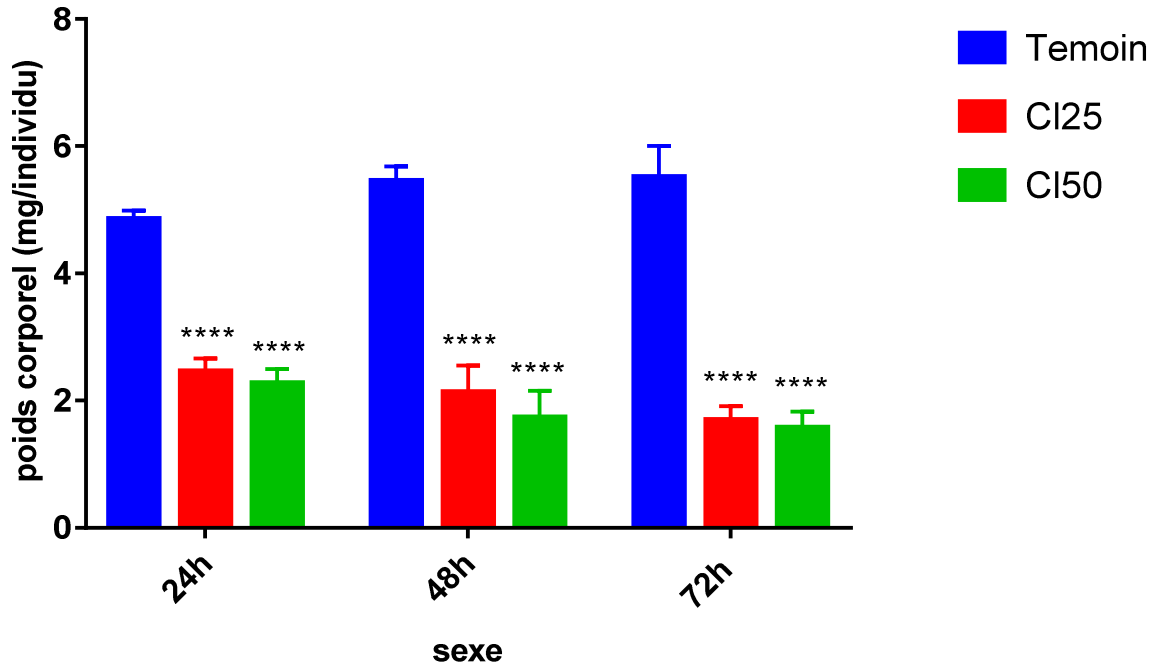


Figure12 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des nymphes chez *Culisetalongiareolata* à différentes périodes ($m \pm sd$, $n=3$). (NS: Différence non significative ($p>0,05$) ; ***: Différence très hautement significative ($p<0,001$)).

*** Adulte**

L'analyse de la variance du poids corporel des adultes mâles et femelles montre des différences non significatives entre les trois séries et des différences très hautement significatives entre les deux sexes ($p=0,0907$ et $p<0,0001$ respectivement).

La comparaison multiple des moyennes révèle une différence très hautement significative du poids corporel pour les adultes mâles et femelles.

Tableau 08 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des adultes mâles et femelles de *Culisetalongiareolata* ($m \pm sd$, $n= 3$ répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules)).

Sexe	Témoin	CL25	CL50
Adulte male	1,99 ± 0,21 a A	2,63 ± 0,39 a A	1,92 ± 0,63 a A
Adulte femelle	5,17 ± 0,31 a B	4,53 ± 0,63 a B	4,03 ± 0,62 a B

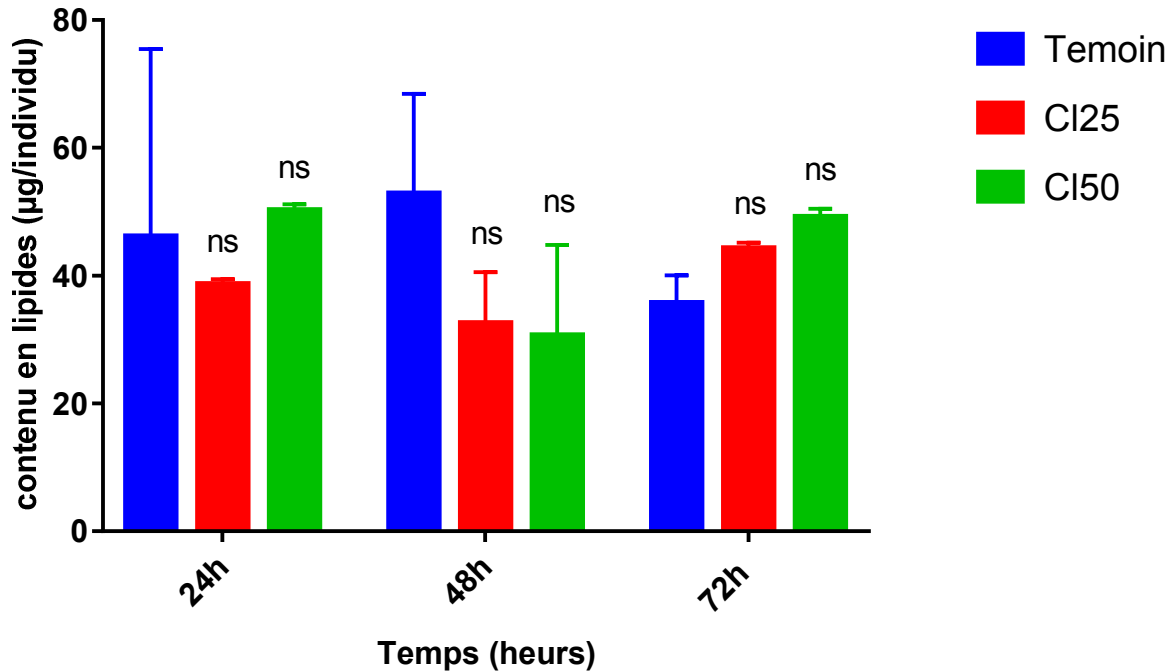


Figure 13 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le poids corporel (mg/individu) des adultes mâles et femelles chez *Culisetalongiারেolata* ($m \pm sd$, $n=3$). (NS: Différence non significative ($p > 0,05$)).

3.3. Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora* sur le volume corporel de *Culisetalongiারেolata*

* Stade nymphale

Pour le stade nymphale, les résultats obtenus montrent que le volume corporel augmente d'une façon très hautement significative ($p < 0,0001$) lorsqu'on compare entre les trois séries et aucun effet temps a été signalé (24, 48 et 72h après traitement) (Tableau 9 et Fig14).

La comparaison des moyennes par le test de dunett montre une diminution tres hautement significative chez les séries traitées à la CL25 et à la CL50.

Résultat

Tableau 09 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm^3) des nymphes de *Culisetalongiareolata* à différentes périodes ($m \pm \text{sd}$, $n= 3$ répétitions comportant chacune 25 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 (heurs)	Témoin	CL25	CL50
24h	17,01 \pm 1,72 a A	1,98 \pm 0,50 b A	2,23 \pm 0,54 b A
48h	17,45 \pm 1,15 a A	1,71 \pm 0,24 b A	1,77 \pm 0,45 b A
72h	18,58 \pm 2,01 a A	0,83 \pm 0,40 b A	0,82 \pm 0,13 b A

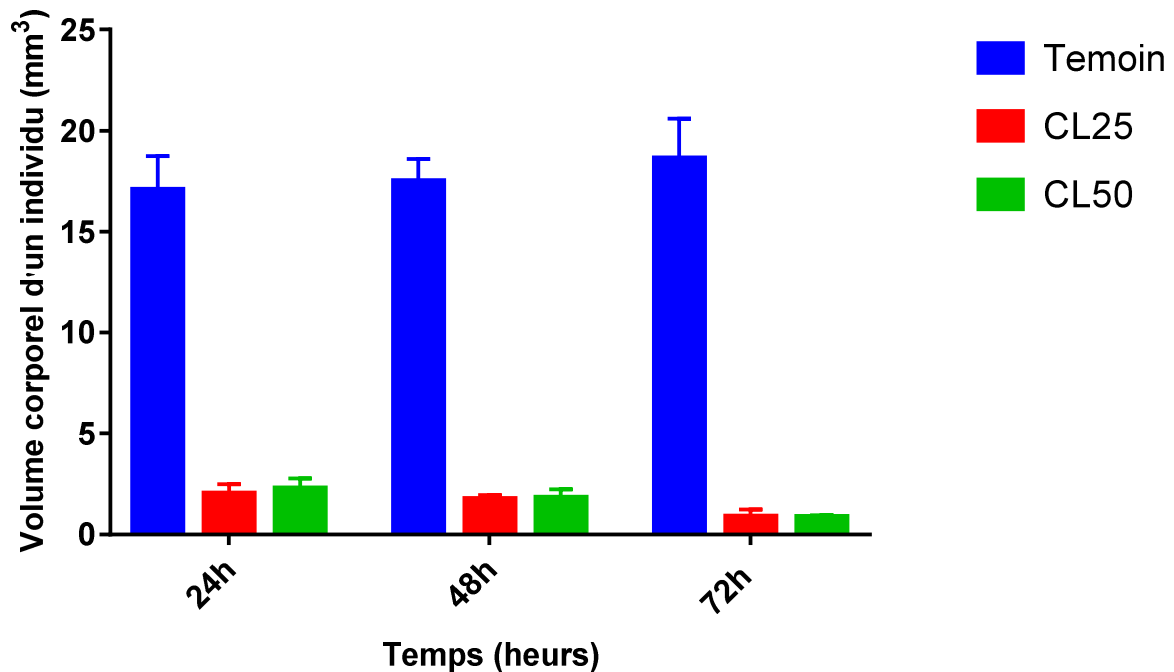


Figure 14 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm^3) des nymphes chez *Culisetalongiareolata* à différentes périodes ($m \pm \text{sd}$, $n=3$). (NS: Différence non significative ($p > 0,05$))

Résultat

* Adulte

L'analyse de la variance de volume corporel des adultes montre des différences non significative entre lesentresles séries témoins et les séries traitées à la CL25 et à la CL50 ($p=0,7065$). et une différence très hautement significative entre les deux sexes ($p<0,0001$).

Tableau 10 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm^3) des adultes mâles et femelles de *Culisetalongiareolata* ($m \pm sd$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 individus). (Comparaison des moyennes à différents temps pour une même série (lettres majuscules) et pour un même temps entre les différentes séries (lettres minuscules).

Sexe	Témoin	CL25	CL50
Adulte male	9,96 ± 1,22 a A	9,23 ± 1,32 a A	8,92 ± 1,74 a A
Adulte femelle	15,12 ± 1,17 a B	14,59 ± 1,43 a B	15,22 ± 1,02 a B

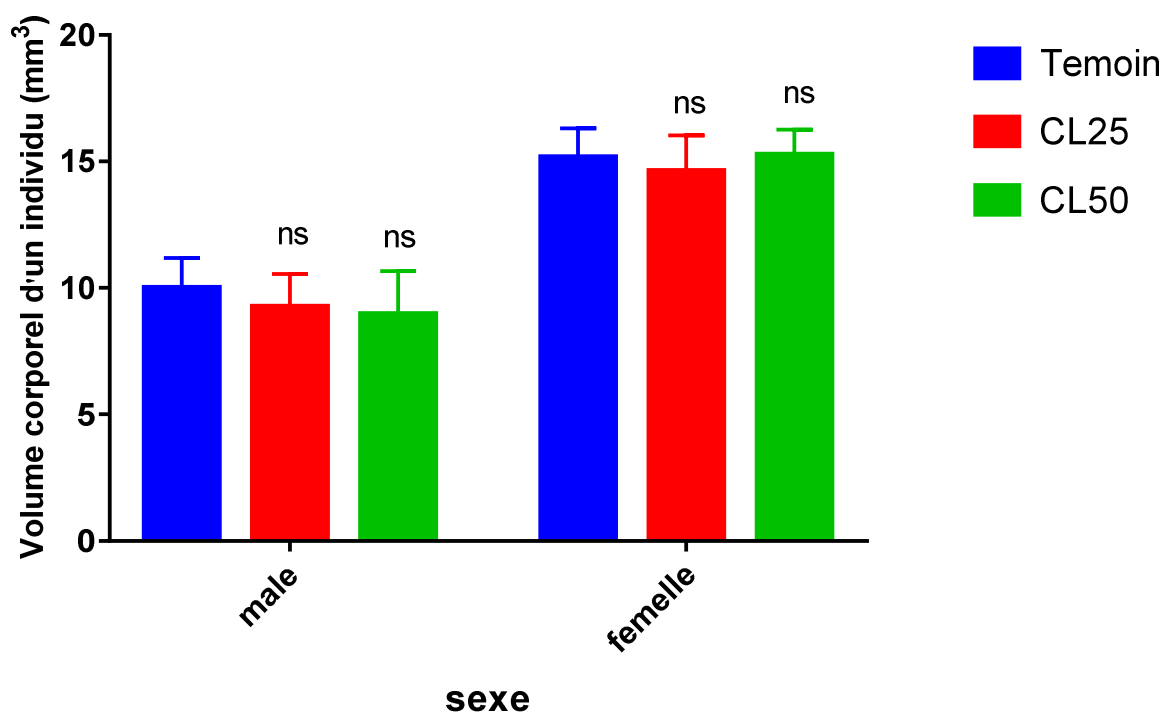


Figure 15 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le volume corporel (mm^3) des adultes mâles et femelles chez *Culisetalongiareolata* ($m \pm sd$, $n=3$). (NS: Différence non significative ($p>0,05$))

3.4. Impact de *Lippiacitriodora* sur la composition biochimique de *Culisetalongiareolata*

La CL25 et la CL50 des H.E extraites de *Lippiacitriodora* ont été appliquées sur les larves du troisième et du quatrième stade nouvellement exuviés de *Culisetalongiareolata*. L'effet de ces huiles a été évalué sur le contenu en glucides, lipides et protéines au cours de différentes périodes après traitement (24, 48 et 72h).

3.4.1. Effet sur le contenu en protéines totales

* Stade larvaire (L₃)

Les résultats du dosage sont mentionnés dans le tableau 11 et la figure 16. Les valeurs affichent une diminution significative ($p= 0,0129$ et $p= 0,0052$ respectivement) du contenu en protéines aussi bien chez les séries témoins que chez les séries traitées de 24h et 48h.

Le test dunnett révèle une variation significative ($p<0,05$) du contenu en protéines chez les séries traitées à la CL50 comparativement aux témoins et traitées à la CL25 à 24h.

Tableau 11 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora* (CL25 et CL50) sur le contenu en protéines totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du troisième stade de *Culisetalongiareolata* ($m \pm \text{sd}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 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 (heurs)	Témoin	CL25	CL50
24h	51,86 ± 23,55 a A	36,89 ± 21.71a A	13,71 ± 5,25b A
48h	31,94±13,04 a AB	9,08 ± 3,43 a B	16,19 ± 4,79 a A
72h	15,22 ± 2,85 a B	9,35 ± 0,09 a B	15,72± 5,92 a A

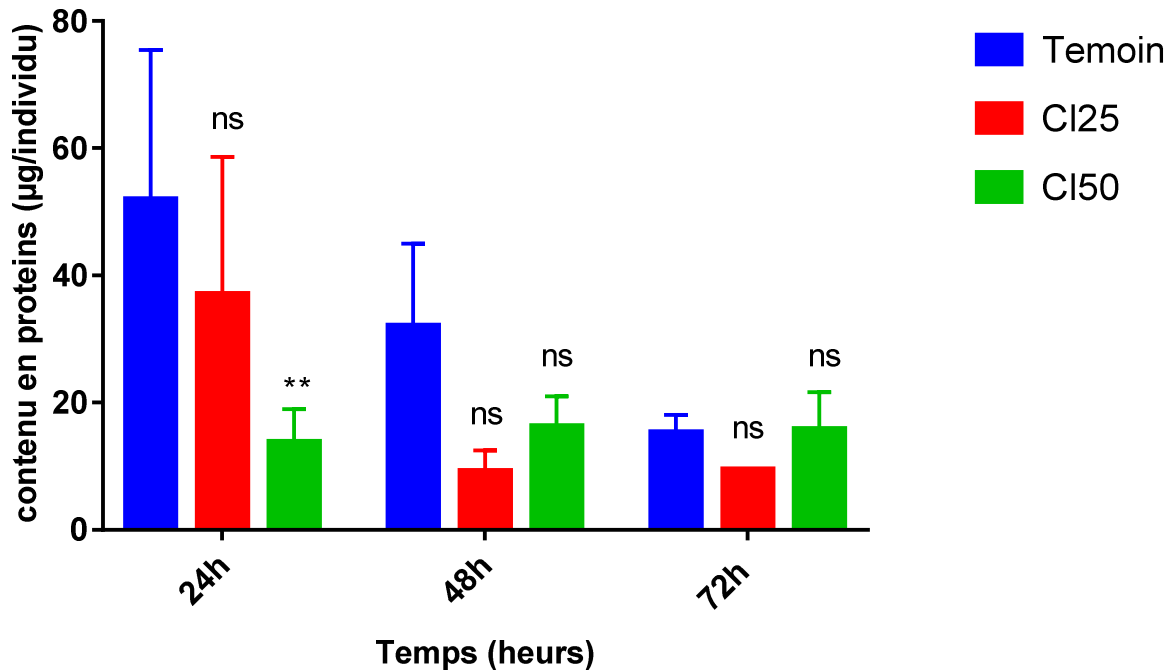


Figure 16 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en protéines totaux (µg/individu) chez les larves du troisième stade de *Culiseta longiareolata* à différentes périodes ($m \pm sd$, $n=3$). (NS: Différence non significative ($p>0,05$) ; **: Différence hautement significative ($p<0,01$))

*** Stade larvaire (L₄)**

Les résultats du dosage sont mentionnés dans le tableau 12 et la figure 17. Ces valeurs présentent une diminution significative ($p< 0,001$) du contenu en protéines entre les séries témoins et les séries traitées et une variation significative ($p= 0,0276$) lorsqu'on compare entre les trois temps (24h, 48h et 72h).

Les tests de comparaison multiple révèlent une diminution significative du contenu en protéines sous l'effet du traitement à 24h.

Résultat

Tableau 12: Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en protéines ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de *Culisetalongiareolata*($m \pm sd$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 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 (heurs)	Témoin	CL25	CL50
24h	38,12 \pm 1,02 a A	9,63 \pm 1,06 a A	9,59 \pm 0,71 b A
48h	15,32 \pm 7,27 a B	16,05 \pm 0,66 a A	11,13 \pm 0,12 a A
72h	14,70 \pm 5,31 a B	17,05 \pm 9,14 a A	8,96 \pm 1,38 a A

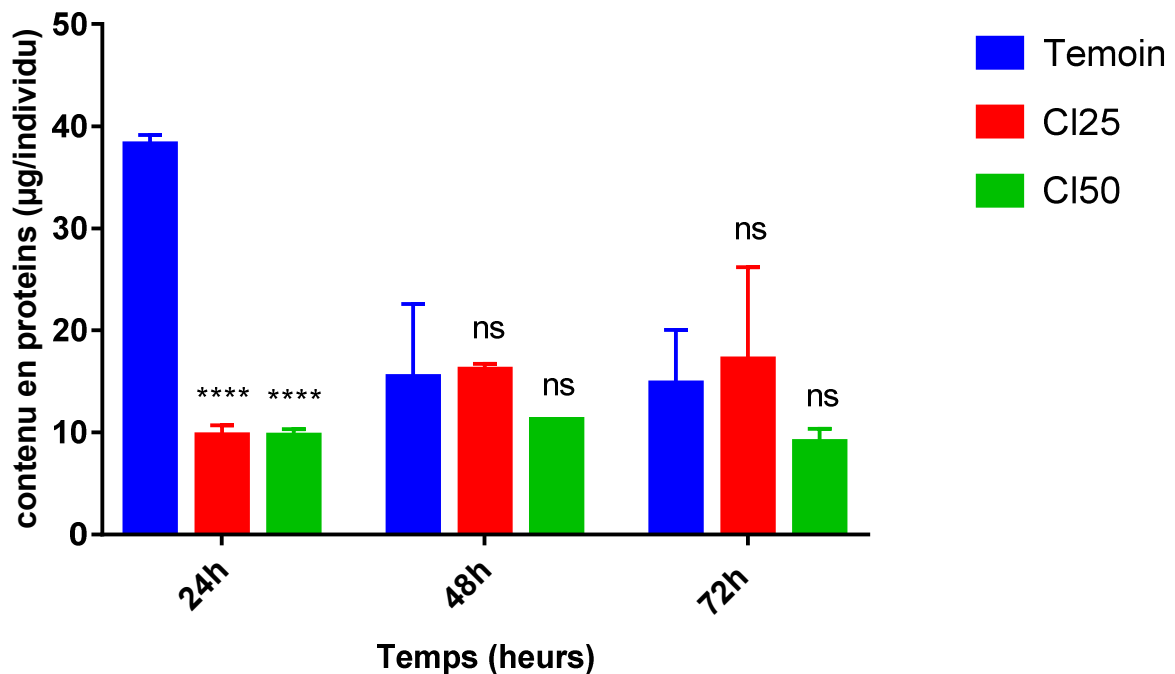


Figure 17 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en protéines ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de *Culisetalongiareolata* à différentes périodes ($m \pm sd$, $n=3$). (NS: Différence non significative ($p>0,05$) ; ****: Différence très hautement significative ($p<0,001$))

3.4.2. Effet sur le contenu en glucides totaux

* Stade larvaire (L₃)

Le contenu en glucides ($\mu\text{g}/\text{individu}$) marque une variation significative ($p = 0,0196$) au cours de la période testée et cela aussi bien chez les témoins que chez les traités (CL25 et CL50) ($p = 0,0005$). (Tableau 13 et figure 18).

La comparaison multiple révèle une variation significative ($p < 0,05$) du contenu en glucides chez les séries traitées à la CL25 et à la CL50 comparativement aux témoins à 72h.

Tableau 13: Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du troisième stade de *Culisetalongiareolata*($m \pm \text{sd}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 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 (heurs)	Témoin	CL25	CL50
24h	20,07 \pm 5,30 a A	13,73 \pm 10,64 a A	16,49 \pm 16,81 a AB
48h	27,03 \pm 13,02 a A	23,10 \pm 1,15 a A	33,29 \pm 1,12 a A
72h	56,94 \pm 2,70 a B	12,10 \pm 1,01 b A	11,66 \pm 3,51 b B

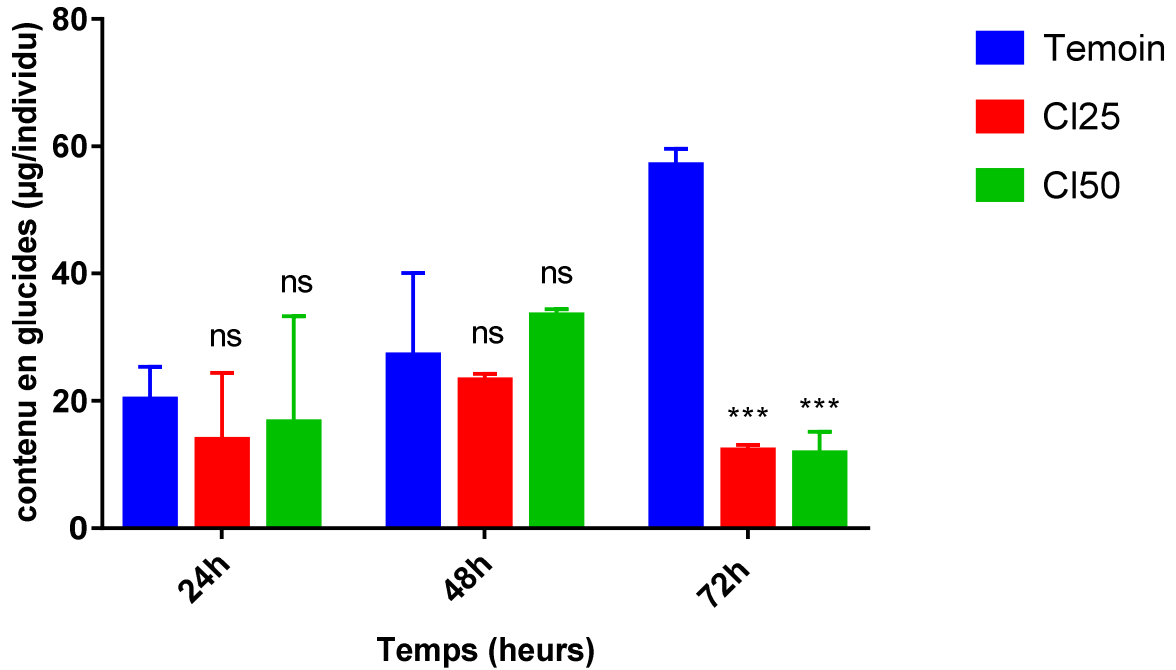


Figure 18 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du troisième stade de *Culiseta longiareolata* à différentes périodes ($m \pm \text{sd}$, $n=3$). (NS: Différence non significative ($p>0,05$) ; ***: Différence très hautement significative ($p<0,001$)).

*** Stade larvaire (L₄)**

L'étude comparative entre les séries témoins et les séries traitées montre que les huiles essentielles de la verveine conduit a une variation très hautement significative ($p<0,0001$). Et une variation significative ($p<0,0001$) au cours des trois temps.

La comparaison multiple marque, une diminution significative pour les séries traites avec la CL25 et la CL25 de 24h à 72h.

Résultat

Tableau14 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de *Culisetalongiareolata*($m \pm \text{sd}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 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 (heurs)	Témoin	CL25	CL50
24h	46,01 \pm 0,44 a A	32,77 \pm 0,00 b A	21,18 \pm 0,52 b A
48h	39,25 \pm 2,45 a B	21,10 \pm 3,25b B	15,45 \pm 1,51 b B
72h	39,58 \pm 0,57 a B	26,45 \pm 0,006 b C	6,73 \pm 0,07 b C

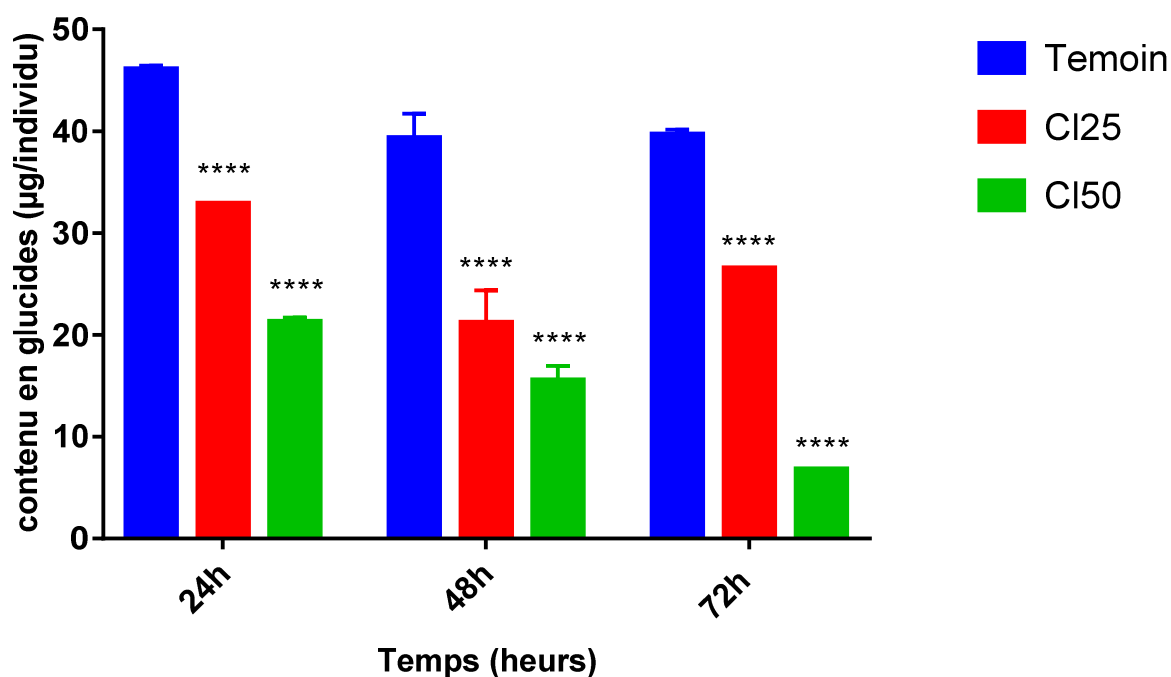


Figure 19: Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en glucides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de *Culisetalongiareolata* à différentes périodes ($m \pm \text{sd}$, $n=3$). (NS: Différence non significative ($p>0,05$) ; ****: Différence très hautement significative ($p<0,001$) ;

3.4.3. Effet sur le contenu en lipides totaux

* Stade larvaire (L₃)

D'après les résultats présentés dans le tableau 15 et la figure 20, on note une variation non significative du contenu en lipides totaux chez les larves témoins et chez les séries traitées à la CL25 et à la CL50 ($p=0,7615$ et $p=0,1863$ respectivement) au cours des temps testés (24, 48 et 72h).

Résultat

Tableau 15 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du troisième stade de *Culisetalongiareolata*($m \pm \text{sd}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 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 (heurs)	Témoin	CL25	CL50
24h	45,99 \pm 29,45 a A	38,57 \pm 0,87 a A	50,11 \pm 1,01 a A
48h	52,70 \pm 15,71 a A	32,46 \pm 8,1 a A	30,55 \pm 14,24 a A
72h	35,59 \pm 4,48 a A	44,12 \pm 1,02 a A	49,04 \pm 1,42 a A

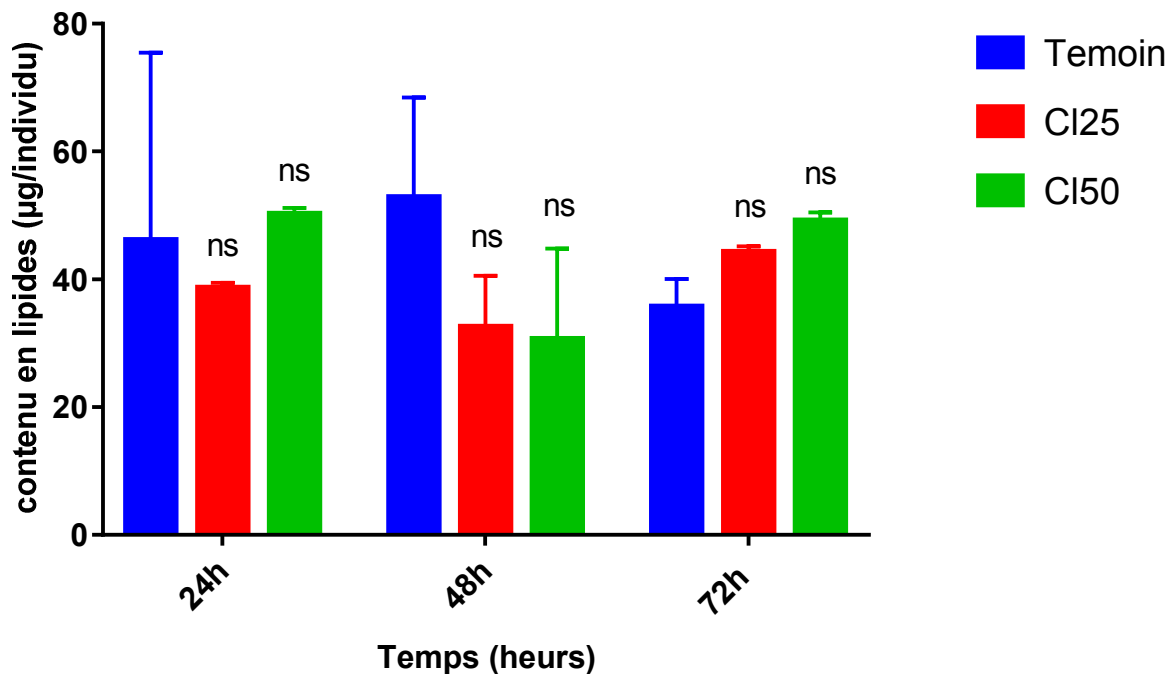


Figure 20 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du troisième stade de *Culisetalongiareolata* à différentes périodes ($m \pm \text{sd}$, $n=3$). (NS: Différence non significative ($p>0,05$))

* Stade larvaire (L₄)

Chez les séries traitées le contenu en lipides varie hautement significativement ($p = 0,0018$) aussi une variation très hautement significative ($p < 0,0001$) entre les trois temps.

Le test de Dunnett révèle une variation très hautement significative du contenu en protéines chez les séries traitées à la CL25 et à la CL50 comparativement aux témoins et à la CL25 à 24h, 48h et 72h.

Résultat

Tableau 16 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de *Culisetalongiareolata*($m \pm \text{sd}$, $n=3$ répétitions comportant chacune 25 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 (heurs)	Témoin	CL25	CL50
24h	41,23 \pm 1,07 a A	20,00 \pm 1,00 b A	13,84 \pm 11,35 c A
48h	64,14 \pm 1,03 a B	50,12 \pm 13,86 b B	50,00 \pm 1,00 c A
72h	52,41 \pm 4,66 a AB	67,52 \pm 1,34 b C	56,30 \pm 1,25 a B

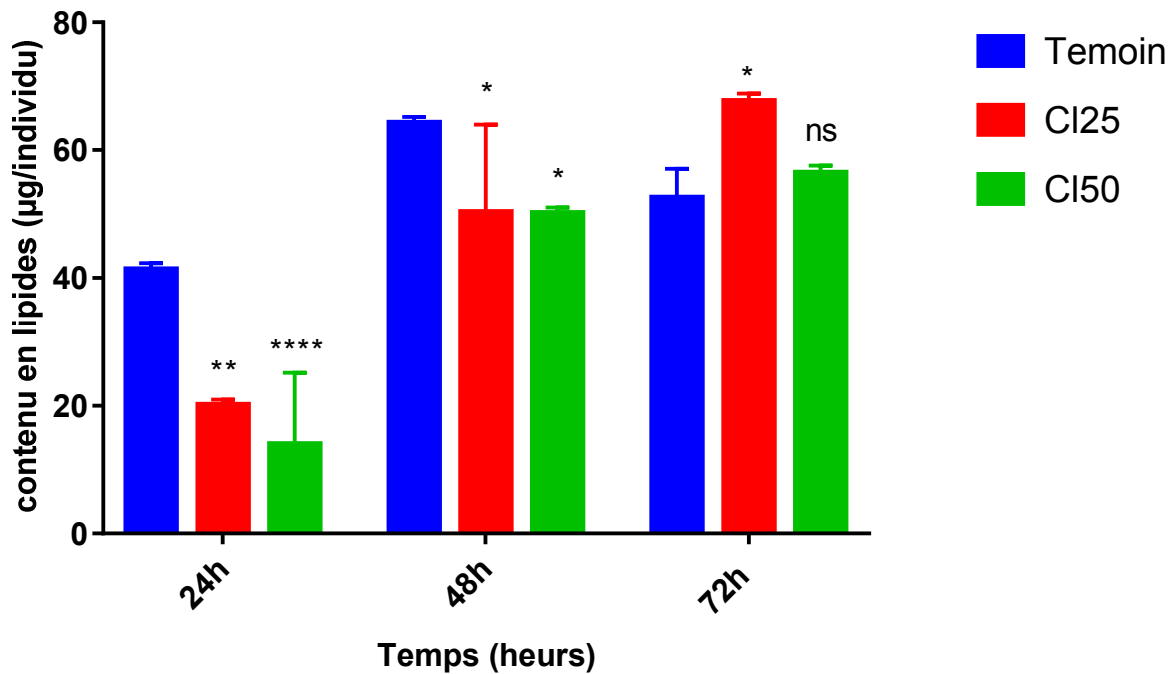


Figure 21 : Effet des H.E extraites de *Lippiacitriodora*(CL25 et CL50) sur le contenu en lipides totaux ($\mu\text{g}/\text{individu}$) chez les larves du quatrième stade de *Culisetalongiareolata* à différentes périodes ($m \pm \text{sd}$, $n=3$). (NS: Différence non significative ($p>0,05$); *: Différence significative ($p<0,05$); ****: Différence très hautement significative ($p<0,001$)).

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 $(0.41 \pm 0,09\%)$ de la matière sèche de la plante. Notre rendement est relativement proche à celui obtenu par Derrar et Derrar (2017) $(0,4 \pm 0,08\%)$ et également supérieure comparativement à celui obtenu par Saidi (2014) $(0,1950 \pm 0,0311\%)$ 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 l'année passée $(0,76 \pm 0,12\%)$ (Boughambouz et Hafallah, 2018) Il est 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 $(2,1\%)$. En effet, 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 $(0,5-1 \%)$, le néroli $(0,5-1 \%)$ (Bencheqroun et al., 2012), de $(1,18\% \pm 0,05)$ chez *Lavandula dentata* et de $(1,56\% \pm 0,15)$ 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, liés aux conditions de la croissance et du développement de la plante (Bouguerra, 2012).

4.2. Effet des huiles essentielles de *Lippia citriodora* 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). Le volume corporel a été évalué à partir de la valeur cubique de la largeur du thorax des larves. Nijhout (1975) est le premier auteur qui a décrit des paramètres morphométriques de *Manduca sexta* et leur seuil critique pour contrôler la libération des hormones indispensables à certaines activités physiologiques.

Le volume corporel peut être influencé par divers paramètres essentiels chez les moustiques tels que le volume du repas sanguin consommé, le degré de son utilisation dans les

Discussion

voies métaboliques et le nombre d'oeufs qui arrive à la maturation (Hosoi, 1954 b; Van Den Heuvel, 1963).

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 obtenus au cours de notre expérimentation montrent que les huiles essentielles de *Lippia citriodora* (CL25 et CL50) appliquées sur le stade nymphale de *Cs. Longiareolata* cause une réduction des divers paramètres biométriques étudiés comme ; le poids et le volume corporel des nymphes.

Pour les adultes, on observe une différence non significative entre les trois séries (CL25 et CL50 et témoin) et des différences très hautement significatives entre les deux sexes ; du poids et le volume corporel des adultes. Ceci concorde avec les résultats de (Tourchane et Bouguetof, 2015) montrent que le traitement par *lavandula dentata* chez les stade larvaire, nymphale et adulte male et femelle de *Cs longiareolata*, cause une réduction des divers paramètres biométriques comme le poids des individus, la largeur du thorax des nymphes, mais ils ne correspondent pas à leurs résultats pour les adulte male et femelle qui ont montré que le traitement par *lavandula dentata* chez les adultes de *Cs. longiareolata* cause une réduction de la longueur des ailes et le poids des adultes.

De plus, Chez la même espèce de moustique, *Cs longiareolata*, le traitement par *Ocimum basilicum* (CL50) a provoqué une diminution du poids et de volume corporel et la longueur des ailes chez les adultes (Bouzidi et Ziani, 2015).

Même résultats obtenus par Chez la même espèce Hamaidia,(2006) chez la même espèce, montre que le traitement par méthoxyfénoside (DL50 etDL90) provoque une diminution des paramètres morphométriques.

D'autre part, Tine-Djebbar (2009) révèle que l'halofénoside appliqué sur les larves du quatrième stade de *Cs longiareolata* et *Cx pipiens*, perturbe les paramètres biométriques des individus.

4.3. Effet des huiles essentielles extraites de *Lippia citriodora* sur la composition biochimique

Chez les insectes, l'hémolymphe subit des modifications métaboliques diverses, au du développement (larve, pupa et adulte). En effet, ces fluctuations sont liées aux différents états physiologiques de l'insecte tels que la mue, la nymphose et la diapause (Nowosielski et Patton, 1965).

Selon Galois (1987), les conditions écologiques du milieu externe peuvent agir sur la composition protéinique de l'hémolymphe des insectes.

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

Le dosage des principaux constituants réalisé sur le corps entier des larves L3, L4, témoins et traités de *Cs longiareolata*, révèle une modification des composants biochimiques comme les protéines les glucides et les lipides après traitement par les huiles essentielles de *Lippia citriodora* à différents temps 24, 48 et 72 heures.

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

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation, montrent que le traitement par *Lippia citriodora* avec la CL25 et la CL50 chez *Cs longiareolata*, cause une diminution du contenu en protéine. ceci concorde avec les résultats de (torchane et bouguetof, 2015) indiquent que le traitement par *lavandula dentata* avec la CL50 et la C90 chez *Cs longiareolata*, cause une diminution du contenu en protéine.

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

Concernant le contenu en glucides, nos résultats montrent que le traitement par *Lippia citriodora* avec la CL25 et la CL50 chez *Cs longiareolata*, cause une diminution du contenu en glucides à tous les temps testés chez les larves de 4^{ème} stades nouvellement exuviées et cause une diminution après 72h chez les larves 3^{ème} stades nouvellement exuviées. Ceci concorde avec les résultats de (Bouzidi et Ziani, 2015) montrent que l'*ocimum basilicum*, appliqué à la CL50 sur les larves 4 de *Cs longiareolata* cause une diminution du contenu en

Discussion

glucides à tous les stades testés (larve, pupa et adulte). et les résultats obtenus chez *D.trunculus* exposé aux polluants environnementaux (sifi, 2009).

De plus, des travaux antérieurs ont montré des résultats différents, avec une réduction de ce contenu chez la même espèce après traitement par l'*Eucalyptusglobulus* (Khaled et Dib, 2015), *Lavandula dentata* (Sahbi et Aouni, 2015) et chez *Cs longiareolata* traitée par l'*Ocimum basilicum* (Bouzidi et Ziani, 2015).

D'autre part, l'application d'un analogue de l'hormone de mue. le *RH-0345*, diminue les concentrations des glucides hémolympatiques chez *B.germanica* et à un effet dose-réponse est également observé (Rouibi, 2002).

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (Beenakers *et al.*, 1985). Ils sont transportés du corps gras, site de leurs synthèses et stockage (Keely, 1985 ; Van Hensden et Law, 1989) vers les organes utilisateurs via l'hémolymphes surtout lors de la vitellogénèse (Downer, 1985 ; Keely, 1986). Par contre Chez *Tribolium confusum*, le maximum d'acides gras est observé au stade larvaire (activité locomotrice) et au stade adulte (activité locomotrice et maturité sexuelle), durant lesquels le métabolisme est le plus intense (Beaudoin et Lemonde, 1970).

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.

Nos résultats montrent que le traitement par *Lippia citriodora* avec la CL25 et la CL50 chez *Cs longiareolata*, cause une variation non significative pour les larves 3. Et cause une variation très hautement significative chez les séries traitées à la CL25 et à la CL50 au cours de la période testée pour les larves 4.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus chez la même espèce traité par l'*Ocimum basilicum* au cours des périodes testés *Laurus nobilis* (ben khedim et djedouani, 2017). De plus, *Blatta orientalis* traitée à l'azadirachtine présente une diminution de contenu en lipides (Bouhouhou et Chorfi, 2016). Par contre, l'application des H.E de *Laurus nobilis* sur *Cx pipiens* provoque une variation non significative de ce composé chez le stade L4 (Kouider et Attia, 2016).

CONCLUSION

Conclusion

Dans le but de réduire et minimiser les problèmes et les impacts nocifs sur la santé et l'environnement par l'utilisation des insecticides chimiques, l'utilisation des insecticides a été orienté vers des alternatives naturelles ont le même rôle de ces insecticides de synthèse, ces alternatives naturelles 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 d'huile essentielle extraite de *Lippia citriodora* sur la morphométrie et la composition biochimique (protéines, glucides et lipides).

L'huile essentielle de *Lippia citriodora* avec les concentrations à la CL25 et la CL50 appliquées sur les larves du troisième, quatrième et nymphale stade nouvellement exuviées et des adultes mâles et femelles de *Cs. longiareolata*, provoquent des effets sur les différents paramètres biométriques et biochimiques étudiés au cours de la période testée (24, 48 et 72 heures).

L'huile essentielle de *Lippia citriodora* entraîne une réduction des paramètres biométriques testés (le poids et le volume corporel) chez les nymphes et aucun effet n'a été signalé chez les adultes pour ces deux paramètres.

De plus, la composition biochimique (protéines, glucides et lipides) des individus traités révèle une diminution du contenu en lipides, protéines et glucides chez les larves de troisième et quatrième stade nouvellement exuviées au cours de la période testée (24, 48 et 72 heures).

À l'avenir, il serait intéressant de compléter cette recherche en évaluant l'effet d'HE de *Lippia citriodora* sur d'autres paramètres, tel que le développement, la viabilité des œufs et un dosage de vitéllogénine.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- Aitken .1954.** The culicidae of Sardinia and CorsicaDiptera. *Bull. Ent. Res.* 45(3).437-494.
- Abuhamdah R ;Mohammed A. 2014.** Chemical, molecularpharmacology and neuroprotectiveproperties of the essential oilderivedfromAloysiacitrodora Palau: Durham University.
- Afnor. 1987.** Huiles essentielles, recueil dans des normes française. 5 ème editions.1. échantillonnage et méthodes d'annalyses, 2. Spécifications. AFNOR. Paris
- Beaudoin &Lemonde. 1970.** Evolution des glycérides et des acides gras durant la croissance et la métamorphose de *Triboliumconfusum*. *J. Insect. Physiol.* 16:71–78.
- Beenakers A.M.T.H; Vander host D.G. & Van Marrewijk W.J.A. 1985** R Insectlipids and lipoproteins and theirrole in physiologicalprocesses. *Prog, lipid. Res*, 24: 19-67.
- Briegel H. 1990** .Metabolic relation shipbetweenfemale body size. Reserves and Fecundity of *Aedesegypti*. *Journal of Insectphysiology* 36: 165- 172.
- Brunhes;Brunhes;Rhaim ;Geoffroy Angel et Hervy.1999.** Les moustiques de l'Afrique méditerranéen. Logiciel d'identification et d'enseignement
- Boulkenafet .2006.** Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes Diptera .Psychodidae et appréciation de la faune CulicidienneDiptera .Culicidae dans la région de Skikda. Présentation pour l'obtention du Diplôme de Magister en entomologie option ; application agronomique et médicale. 191p
- Botrel A.2001** . « Encyclopédie des plantes médicinales » . Edition Larousse . France pp 228.
- Benini C. 2007.** Contribution à l'étude de la diversification de la production d'huiles essentielles aux Comores. Mémoire d'ingénieur. Université Gembloux, p 109.
- 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
- Bastien F. 2008.** Effet Larvicide Des Huiles Essentielles Sur *Stomoxys Calcitrans* La Reunion. Thèse de Doctorat. Université Paul-Sabatier .Toulouse .P 78 ..

Références bibliographiques

- Baranauskien 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.
- Burt S. 2004.** Essential oils: Antibacterial properties and potential applications in food A review. International Journal of Food Microbiology **94**(3) 223-253.
- Benayad N. 2013.** Évaluation de l'activité insecticide et antibactérienne des plantes aromatiques et médicinales Marocaines. Thèse de doctorat. Université Mohammed V – Agdal .p186.
- Bouguerra A. 2012.** Etude des activités biologiques de l'huile essentielle extraite des graines de *Foeniculum vulgare* Mill. en vue de son utilisation comme conservateur alimentaire. Mémoire de Magister, Université Mentouri Constantine. 120 p
- 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.
- Braqueunier J.B. 2009.** Etude de la toxicité développementale d'insecticides organophosphorés : Analyse comportementale de la souris CD1. Thèse pour l'obtention du diplôme de Doctorat, Université de Liège. 217p.
- Carnat A; Fraisse D; Lamaison J. 1999.** The aromatic and polyphenolic composition of lemon verbena tea. Fitoterapia **70**(1).44-49.
- Capo M; Couilleau V; & Valnet C. 1990.** Chimie des couleurs et des odeurs .cultures et techniques. p 204.
- Clastrier .1941.** La présence en Algérie d'Orthopodomiyapulchralpis. Rodani. Arch. Inst. Pasteur Alg. **19** (4) : 443-446.
- Chiasson. H & Beloin N. 2007.** Les huiles essentielles, des biopesticides .nouveau genre **14**(1) 4-5.
- Caillet S & Lacroix M. 2007.** Les huiles essentielles leurs propriétés antimicrobiennes et leur applications potentielles en alimentaire INRS. Institut Armand Frappier. Ressala p1-8.
- Daferera D.J; Ziogas B.N & Polissiou M.G. 2000.** GC-MS analysis of essential oils from some Greek aromatic plants and their fungitoxicity on *Penicillium digitatum*. journal of Agriculture and food chemistry **48**(6). p 2576-2581.

Références bibliographiques

- Duchateau G et Florkin M.1959.** Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol.* **130**.325-337.
- Enan E. 2001.** Insecticidal activity of essential oil : octopaminergic sites of action. [Comparative Biochemistry and Physiology - Part C](#) **130**.325-337. *Biochem.*, 67 306-314.
- Downer R.G.H. 1985.** Lipid metabolism. In comprehensive Insect physiology, Biochemistry and pharmacology. Vol. 10 (G.A. Kerbert & L.I. Gilbert, eds). Pergamon Press, Oxford, PP: 77-113.
- El haib A. 2011.** Valorisation de terpène naturels issus de plantes marocaines par transformations catalytiques. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse. Délivré par l'Université Toulouse III - Paul Sabatier. Discipline ou spécialité . Chimie organique et catalyse.09-10.
- El kalamouni C. 2010.** Caractérisations chimiques et biologiques d'extraits de plantes aromatiques oubliées de Midi-Pyrénées. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse. 43- 75.
- Goldworthy A.C; Mordue W & Guthkelch J.1972.** Studies on insect adipokinetic hormone. *Gen. Comp. Endocrinol.* **18**.306-314.
- Gómez-Caravaca A; Gómez-Romero M; Arráez-Román D; Segura-Carretero A;**
- Siengre G.1974.** Contribution à l'étude physiologique d'*Aedes (Ochlerotatus) caspius* (pallas, 1771) (Nematocera, Culicidae). Eclosion, dormance, développement, fertilité, thèse d'état science. Univ du langage doc, 285p.
- Galois R. 1987.** Les lipides neutres chez les crustacés Décapodes : métabolisme et besoins. *Oceanis. Fasc. 2(13)*: 197- 215.
- Guignard J.L. 2000.** Biochimie végétale. Édition Masson. Paris. p166.
- Ghédira K; Goetz P. 2017.** Verveine odorante *Aloysiacitriodora Paláu* *Lippiacitriodora*. *Phytothérapie* **15(1)**.33-37.
- Hassaine K. 2002 -** Les culicides (Diptera- Nematocera) de l'Afrique méditerranéenne. Bioécologie d'*Aedes caspius* et d'*Aedes detritus* des marais

Références bibliographiques

salés, d'*Aedes* *mariaedes* rock Pools littoraux et de *Culex pipiens* des zones urbaines de la région occidentale algérienne. Thèses Doc. d'état. Univ. Tlemcen, 203p.

Hosoi T. 1954. Egg production in *Culex pipiens* pallenscoquillet. I.V. Influence of breeding conditions on wing length, body weight and follicle production. *J. Med. Sci. Biol.*, 7: 129-134.

INGA Kerkut et L.I. Gilbert *Comprehensive Insect Biochemistry, physiology and pharmacology*, vol. 3, Pergamonpress, oxford.

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

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.

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

Kelly L.L. 1985 *Physiology and biochemistry of Fat body* PP. 211 -248

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.

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

Luque de Castro M.D); Jimenez-Carmona M. M. Et Fernandez-Perez V. 1999. *Trends in analytical chemistry*. vol. 18. n°11. 708 et references citees.

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

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

Madhavi .D.L.; Deshpande S.S. & Salunkhe D.K. 1996. Food antioxidant technological, toxicological and health perspectives. Marcel Dekker Inc. New York. p 65.

Références bibliographiques

- 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 scolyte du café
Hypothenemus hampei Ferrari. Thèse de Doctorat. Université de Toulouse. 187.
Tchoumboungang, F. Dongmo.P.M.J. Sameza. M.L. Mbanjo. E.G.N.Fotso.G.B. T.
- Nowosielski J.W. & Patton R.L. 1965.** Variations in the haemolymph protein, amino acid, and lipid levels in adult house crickets, *Achetadomesticus* L., of different ages.J. Insect. Physiol., 11 : 263-270
- Nijhout H. F. 1994.** Insect Hormones. In: Princeton University Press, New Jersey, USA.
- Pascual ME;SiowingK;Carretero E ;Sanchez Mata D Villar .** « *Lippiat* traditional uses. chemistry and pharmacology » J. Ethnopharmacol . 2007. vol 76. pp 201-214.
- Paul .2009.** Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français .EID méditerranée .p (1-11).
- Poupardin .2011.** Interactions gènes –environnements chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides. Thèse pour obtenir le grade de Docteur de l'université de Grenoble, Spécialité : Biodiversité, Ecologie et Environnement. P.275. Professionnels de la santé et de la médecine sous la direction du docteur pierrickhorde. Product. végét. Sér. Généralités, 3 (1). art. 8 .47 p. + 1 carte.
- Peterson .1980.** Alimit cycle interprétation of a mosquito circadianoscillator .J. theor.
- Pauli A. 2001.** Antimicrobialproperties of essential oilconstituents. International Journalof Aromathérapie**11 (3)** . 126-133
- Parra J. 2006:** <FILE://E:/fiches2d/fiches2d.php>.
- Pavan .1986.** UNarivolution.Cultural. Europea. Laù carta sugliinvertebratiùdelonsiglio d'eropea. P ubblicazioni dell' Institute entonologico, Universita di Pavia, 33m 1-51
- Richter G.** « *Métabolisme des végétaux* », Physiologie et Biochimie. Presses polytechniques et universitaires.Romandes. 1993. 292.
- Rhayour K. 2002.** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*. *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacteriumphleiet Mycobacteriumfortuitum*. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah. Fès. Maroc. p 170.

Références bibliographiques

Resh et Carde .2003. Encyclopedia of insects.AcademicPress. San Diego, California, USA.
Wanick, P. J.

Raymond M. 2005.L'aromathérapie chez le nourrisson et le petite enfant. Thèse de Doctorat. Université de Nantes. p 101

Roeder T. 1999. Octopamine in invertebrates. Progress in Neurobiology**59**.533-561.

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

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

Shibko S; KoivistoinenP;TratyneckC;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

Slimani N et DahmaneM . « Effet des huiles essentielles extraites a partir des feuilles de *MenthaSpicata*. *Menthapulegium*. *Eucalyptus camaldulensis*. *Lippiacitriodora*. *Ocimum basilicum* sur quelques bactéries pathogènes » .thèse de master .université de Hassiba Ben Bouali-Chlef . 2013

Sallé J. L. *Les huiles essentielles . Synthèse d'aromathérapie et introduction à la sympathicothérapie* . Edition Frison – Roche. Paris. 199121 .b. Campion P J.

Senevet et Andarelli ,1954. Le genre Aèdes en Afrique du Nord, I : Les larves.

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 *Culisetalongiareolata* : toxicologie, morphométrie, biochimie et reproduction. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat Université Badji Mokhtar de Annaba. 168 p.

Van Heudsen H; Candlaw JH. 1989- An Insecttransformparticlepromoteslipidloadingfrom fat body to lipoprotein J. Biad. CHEM. 264: 17287 -17292.

Références bibliographiques

Valnet J. *romathérapie traitement des maladies par les essences des plantes*. Ed. Maloine. S.A ,n°10. 1984

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

Villeneuve et Desire .1965. Zoologie. Bordas. 1ere édition. Pages 323.14 p.

Yousefzadeh N; Meshkatsadat Mh.2013. Quantitative and qualitative study of bioactive compounds of essential oils of plant *Lippia citriodora* by use of GC-MS technique. Journal of Novel Applied Sciences.964-968

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.

Zello P.H.A. & Menut. C. 2009. Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au c **Les sites web :**

Web01 : (http://bioinfoweb.mpl.ird.fr/identiciels/culmed/html/taxa/Culisetalongiareolata_F_.html)

web02 : (http://bioinfoweb.mpl.ird.fr/identiciels/culeuropegenre/html/taxa/Culiseta_F_.html)

web03 : (<http://epanews.over-blog.com/article-palu-chik-dengue-primeur-aux-gestes-antimoustiques-simples-81513430.html>)
meroun. Biotechnol. Agron.Soc.Environ.13 (1). 77-84.