



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



Université Larbi Tébessi-Tébessa

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

Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Sciences Biologiques.

Option : Biochimie Appliquée.

Thème :

**Evaluation des activités biologiques de quelques
plantes médicinales dans la région de Tébessa**

Présenté par :

Soltani Nada

Boudiar Ibtissem

Devant le jury :

Dr. BELGUENDOZ Karima	M.A.A	Université De Tébessa	Présidente
Dr. ZEGHIB Assia	M.C.A	Université De Tébessa	Promotrice
Dr. BENHADJ Mabrouka	M.C.A	Université De Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 15/06/2022

Note :

Mention :



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



Université Larbi Tébessi-Tébessa

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

Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de **Master**

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie.

Filière : Sciences Biologiques.

Option : Biochimie Appliquée.

Thème :

**Evaluation des activités biologiques de quelques
plantes médicinales dans la région de Tébessa**

Présenté par :

Soltani Nada

Boudiar Ibtissem

Devant le jury :

Dr. BELGUENDOZ Karima	M.A.A	Université De Tébessa	Présidente
Dr. ZEGHIB Assia	M.C.A	Université De Tébessa	Promotrice
Dr. BENHADJ Mabrouka	M.C.A	Université De Tébessa	Examinatrice

Date de soutenance : 15/06/2022

Note :

Mention :

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

الملخص

الغرض من هذه الدراسة هو تقييم نشاط مبيد اليرقات لنباتي *Rosmarinus* و *Artemisia herba-alba* ضد نوعين من البعوض الاكثر انتشارا في منطقة تبسة و *Culiseta longiareolata* و *Culex pipiens*.

تم تطبيق اختبار السمية للزيوت العطرية من نبات *Artemisia herba-alba* و *Rosmarinus officinalis* وكذلك المستخلصات المذيبة من *Artemisia herba-alba* على يرقات المرحلة الرابعة *Culiseta longiareolata*.

تم تطبيق اختبار سمية الزيت العطري *Artemisia herba-alba* على يرقات *Culex pipiens* المرحلة الرابعة لتقييم تأثير التركيز القاتل 25 .

أظهرت النتائج قدرة التأثير مثيرة للاهتمام على إبادة اليرقات لنباتي *Rosmarinus* و *Artemisia herba-alba* ضد المرحلة الرابعة من *Culex pipiens* و *Culiseta longiareolata*.

الكلمات المفتاحية : *Rosmarinus*, *Artemisia herba-alba*, *Culex pipiens*, *Culiseta longiareolata*, *officinalis*, الزيوت الاساسية, المذيبات المستخلصة السمية, المستقلبات, القدرة على اباده اليرقات .

Abstract

The aim of this study is to evaluate the larvicidal activity of the plants *Artemisia herba-alba* and *Rosmarinus officinalis* towards two species of the most widespread mosquitoes in the region of Tebessa, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*.

The toxicity test of essential oils of *Artemisia herba-alba* and *Rosmarinus officinalis* as well as the solvents-extracts of *Artemisia herba-alba* was applied on fourth stage larvae of *Culiseta longiareolata*. The toxicity test of *Artemisia herba-alba* essential oil was applied on fourth stage larvae of *Culex pipiens* in order to evaluate the effect of lethal concentration 25 (LC₂₅) on metabolites.

The results show interesting larvicidal potential of *Artemisia herba-alba* and *Rosmarinus officinalis* plants towards fourth stage larvae of *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*.

Key words: *Culiseta longiareolata*, *Culex pipiens*, *Artemisia herba-alba*, *Rosmarinus officinalis*, essential oils, solvents-extracts, toxicity, metabolites, larvicidal potential.

Résumé

Le but de cette étude est d'évaluer l'activité larvicide des plantes *Artémisia herba-alba* et *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis de deux espèces de moustiques les plus répandues dans la région de Tébessa, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*.

Le test de toxicité des huiles essentielles d'*Artémisia herba-alba* et *Rosmarinus officinalis* ainsi que les extraits-solvants d'*Artémisia herba-alba* a été appliqué sur les larves stade 4 de *Culiseta longiareolata*. Le test de toxicité de l'huile essentielle d'*Artémisia herba-alba* a été appliqué sur les larves stade 4 de *Culex pipiens* afin d'évaluer l'effet de la concentration létale 25 (CL₂₅) sur les métabolites.

Les résultats montrent un potentiel larvicide intéressant des plantes *Artémisia herba-alba* et *Rosmarinus officinalis* vis-à-vis des larves stade 4 de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*.

Mots clés: *Culiseta longiareolata*, *Culex pipiens*, *Artémisia herba-alba*, *Rosmarinus officinalis*, huiles essentielles, extraits-solvants, toxicité, métabolites, potentiel larvicide.



Dédicaces

Avec un énorme bonheur et une extrême joie,

Je dédie ce modeste travail à tous ceux que j'aime et que j'apprécie énormément leur aide et leur soutien durant ma vie.

Je dédie ce travail à ma mère, Dieu ait son âme.

À

Mon père

À mes sœurs *Meriem* et *Soumaia*.

À mes chers frères *Djamel*, *Mohamed* et *Bilel*.

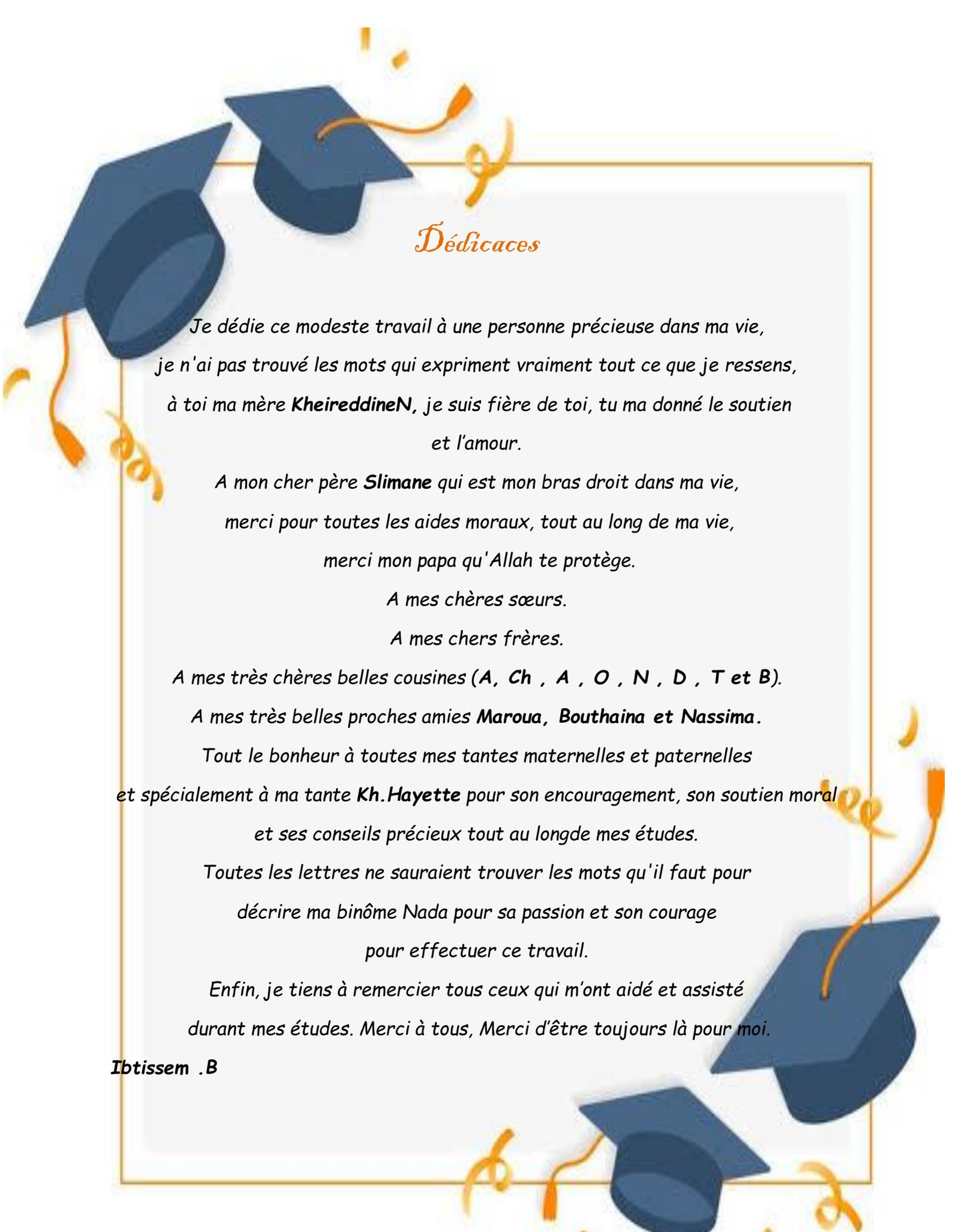
À ma famille et mes amies (*Hanane*, *Aya*, *Ahlem*...).

À ma chère binôme *Ibtissem*

À ma chère Encadrante *DrZEGHIB*,

Merci pour votre patience ,vos efforts intenses et votre disponibilité permanente.

Nada soltani



Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail à une personne précieuse dans ma vie, je n'ai pas trouvé les mots qui expriment vraiment tout ce que je ressens, à toi ma mère **KheireddineN**, je suis fière de toi, tu m'as donné le soutien et l'amour.*

*A mon cher père **Slimane** qui est mon bras droit dans ma vie, merci pour toutes les aides morales, tout au long de ma vie, merci mon papa qu'Allah te protège.*

A mes chères sœurs.

A mes chers frères.

*A mes très chères belles cousines (**A, Ch, A, O, N, D, T et B**).*

*A mes très belles proches amies **Maroua, Bouthaina et Nassima**.*

*Tout le bonheur à toutes mes tantes maternelles et paternelles et spécialement à ma tante **Kh. Hayette** pour son encouragement, son soutien moral et ses conseils précieux tout au long de mes études.*

*Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut pour décrire ma binôme **Nada** pour sa passion et son courage pour effectuer ce travail.*

Enfin, je tiens à remercier tous ceux qui m'ont aidé et assisté durant mes études. Merci à tous, Merci d'être toujours là pour moi.

Ibtissem .B



Remerciements

Nous tenons d'abord à remercier le tout puissant, notre DIEU, le clément et le miséricordieux, de nous avoir donné la clairvoyance et la persévérance, pour mener à terme ce travail, prière et salut sur notre prophète MOHAMED.

Nos plus vifs remerciements à notre professeur et promotrice Dr. ZEGHIBA. Sans savoir, son ouverture d'esprit, ses conseils

Ont marqué à jamais notre pensée.

Un grand remerciement aux honorables membres du jury:

Dr. Belguendouz. K d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'elle trouve ici toute nos expressions respectueuses.

Dr. Benhadj .M 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.

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01	Position systématique de <i>Culex pipiens</i>	03
02	Position systématique de <i>Culiseta longiareolata</i>	04
03	Systématique de la plante <i>Artémisia herba-alba</i>	11
04	Position systématique de <i>Rosmarinus officinalis</i> .	13
05	Dosage des glucides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	20
06	Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	20
07	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.	21

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Cycle de vie des moustiques (Photo personnelle)	05
02	Œufs de moustique : (A) <i>Culex pipiens</i> (Balenghien, 2007), (B) <i>Culiseta longiareolata</i> (Berrak, 2009).	06
03	Larve de moustique : (A) <i>Culex pipiens</i> (Brunhes et al., 1999), (B) <i>Culiseta longiareolata</i> (Berrak, 2009).	07
04	Aspect général d'une nymphe : (A) <i>Culex pipiens</i> (Berchi, 2000), (B) <i>Culiseta longiareolata</i> (Berrak, 2009).	08
05	Adulte de moustique : (A) <i>Culex pipiens</i> (Balenghien, 2007), (B) <i>Culiseta longiareolata</i> (Berrak, 2009).	09
06	Gites larvaires des moustiques	10
07	Techniques d'élevage (Photo personnelle)	11
08	La plante dans son milieu naturel au début de la saison de floraison (Messei 2011).	12
09	Photographie de la plante <i>Rosmarinus officinalis</i> (Makhloufi, 2009).	13
12	Huile essentielle d' <i>Artémisia herba-alba</i> (photo personnelle)	14
13	Huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> (photo personnelle)	14
14	Test de toxicité de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur les larve L4 de <i>Culiseta longiareolata</i> (photo personnelle)	16
15	Test de toxicité des extraits-solvants polaires d' <i>Artémisia herba-alba</i> sur L4de <i>Culiseta longiareolata</i> (photo personnelle)	18
16	Test de toxicité de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur les larve L4 de <i>Culex pipiens</i> (Application de la concentration létale 25 (CL ₂₅) (photo personnelle)	21
17	Extraction des glucides,protéines et lipides totaux (Shibkoetal.,1967).	20

18	Diagramme en barre présentant la mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traitées par différentes concentrations décroissantes de l'huile essentielle d' <i>Artémisia herba-alba</i> . Comparaison des moyennes à différents temps (24,48 et 72h).	24
19	Diagramme en barre présentant la mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traitées par différentes concentrations décroissantes de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> . Comparaison des moyennes à différentes temps (24,48 et 72h) .	25
20	Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traitées par l'extrait Ah-HA et Ah-ME à une même concentration test. Comparaison des moyennes à différents temps (24, 48, 72 h)pour une même concentration de l'extrait.	26
21	Courbe d'étalonnage des Glucides	27
22	Effet des H.E d'A herba alba (CL25) sur le contenu en glucides totaux chez les larves du quatrième stade de <i>Cx pipiens</i> à différentes périodes	27
23	Courbe d'étalonnage des Protéines	29
24	Effet des H.E d'A herba alba (CL25) sur le contenu en protéine totaux chez les larves du quatrième stade de <i>Cx pipiens</i> à différentes périodes	29
25	Courbe d'étalonnage des Lipides	31
26	Effet des H.E d'A herba alba (CL25) sur le contenu en lipides Totaux chez les larves du quatrième stade de <i>Cx pipiens</i> différentes périodes	31

Abréviations et symboles

HE : huile essentielle

Ah : *Artemisia herba-alba*

RO : *Rosmarinus officinalis*

Cx. pipiens : *Culex pipiens*

h : heure

mm : millimètre

cm : centimètre

m : mètre

g : gramme

mL : millilitre

C° : degré Celsius

% : pourcentage

mg : milligramme

L4 : larve stade 4

Min : minute

Trs : tours

Nm : nanomètre

CL₂₅ : concentration létale 25

CL₅₀ : concentration létale 50

TCA : trichloracétique

BBC : bleu brillant de commassie

1V/1V : deux solutions avec un même volume

Table des matières

ملخص

Abstract

Résumé

Dédicaces

Remerciements

Liste des tableaux

Liste des figures

Abréviations et symboles

Table des matières

Titre	Page
Introduction	01
I. Matériels et méthodes	02
I.1. Matériel animal	03
I.1.1. Présentation de moustiques : <i>Culex pipiens</i> et <i>Culiseta longiareolata</i>	03
I.1.1.1. Définition de <i>Culex pipiens</i>	03
I.1.1.2. Position systématique de <i>Culex pipiens</i>	03
I.1.1.3. Définition de <i>Culiseta longiareolata</i>	03
I.1.1.4. Position systématique de <i>Culiseta longiareolata</i>	04
I.1.1.5. Cycle de développement	05
I.1.2. Technique d'élevage à l'état larvaire	09
I.2. Matériel végétal	10
I.2.1. <i>Artémisia herba-alba</i>	10
I.2.1.1. Description botanique	11
I.2.1.2. Systématique de la plante	11

1.2.2. <i>Rosmarinus officinalis</i>	12
I.2.2.1. Description botanique	12
I.2.2.2. Position systématique	13
I.2.3. Huiles essentielles et extraits-solvants d'étude	14
I.3. Test de toxicité des huiles essentielles d' <i>Artémisia herba-alba</i> et de <i>Rosmarinus officinalis</i> ainsi que les extraits-solvants d' <i>Artémisia herba-alba</i> à l'égard des larves du 4 ^{ème} stade de <i>Culiseta longiareolata</i>	15
I.4. Test de toxicité de l'huile essentielle d' <i>Artémisia herba-alba</i> à l'égard des larves du 4 ^{ème} stade de <i>Culex pipiens</i> (Effet de la concentration létale 25 (CL ₂₅) sur les métabolites)	18
I.4.1. Extraction et dosage des métabolites	19
I.4.1.1. Dosage des glucides totaux	21
I.4.1.2. Dosage des protéines totales	21
I.4.1.3. Dosage des lipides totaux	22
II. Résultats	24
II.1. Activité larvicide de quelques plantes médicinales	24
II.1.1. Evaluation de l'effet larvicide de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> à l'égard des larves du 4 ^{ème} stade de l'espèce de moustique <i>Culiseta longiareolata</i> .	24
II.1.2. Evaluation de l'effet larvicide de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> à l'égard des larves du 4 ^{ème} stade de l'espèce de moustique <i>Culiseta longiareolata</i>	25
II.1.3. Evaluation de l'effet larvicide des extraits polaires d' <i>Artemisia herba-alba</i> à l'égard des larves du 4 ^{ème} stade de l'espèce de moustique <i>Culiseta longiareolata</i>	26
II.1.4. Evaluation de l'effet larvicide de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> à l'égard des larves du 4 ^{ème} stade de l'espèce de moustique <i>Culex pipiens</i> : Effet de la concentration létale 25 (CL ₂₅) sur les métabolites	27
II.1.4.1. Contenu en glucides totaux	27

II.1.4.2. Contenu en protéines totales	28
II.1.4.3. Contenu en lipides totaux	30
III. Discussion	32
III.1. Effet toxique de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur les larves L4 de <i>Culiseta longiareolata</i>	32
III.2. Effet toxique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les larves L4 de <i>Culiseta longiareolata</i>	33
III.3. Effet toxique des extraits polaires d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur les larves L4 de <i>Culiseta longiareolata</i>	33
III.4. Effet de la concentration létale 25 (CL ₂₅) de l'huile essentielle d' <i>Artemisia herba-alba</i> sur les métabolites des larves du 4 ^{ème} stade de <i>Culex pipiens</i>	33
III.4.1. Effet sur le contenu en glucides	34
III.4.2. Effet sur le contenu en protéines	34
III.4.3. Effet sur le contenu en lipides	35
Conclusion	36
Références bibliographiques	37

Introduction

Introduction

Depuis la période préhistorique, les plantes ont été à la base de plusieurs thérapies. On les utilise aussi bien en médecine classique qu'en phytothérapie (**Mostafa, 2011**). Un grand nombre de plantes, aromatiques, médicinales, des plantes épices et autres, possèdent des propriétés biologiques très intéressantes, qui trouvent application dans divers domaines à savoir en médecine, pharmacie, cosmétologie et en agriculture (**Mouhammedi, 2006**).

L'Algérie, possède une flore très riche et offre des conditions de développement de nouvelles exploitations agricoles des plantes médicinales et aromatiques. Cependant, l'évaluation des propriétés phytothérapeutiques, antioxydants et antimicrobiennes demeure une tâche très intéressante et utile, en particulier pour les plantes d'une utilisation rare ou moins fréquentes ou non connues en médecine traditionnelle. Ces plantes représentent une nouvelle source de principes actifs. En effet, les métabolites secondaires font et restent l'objet de nombreuses recherches in vivo comme in vitro, notamment la recherche de nombreux constituants naturels tels que les composés phénoliques, les saponosides et les huiles essentielles (**Mouhammedi, 2006**).

Dans le cadre de la valorisation des espèces végétales algériennes, nous sommes intéressés à l'extraction d'*Artemisia herba-alba*, *Rosmarinus officinalis* provenant de la région (Tébessa). Notre choix est porté sur ces plantes aromatiques, car elles sont très répandues à Tébessa et largement utilisées en médecine traditionnelle.

Depuis 170 millions d'années les diptères (les mouches et les moustiques) forment un groupe d'insectes le plus écologiquement diversifié, la famille des *Culicidés* est la plus importante. Les moustiques appartiennent à cette famille et forment un groupe diversifié dont une grande partie des insectes sont hématophages (**Boudemagh et al., 2013 ; Poupardin, 2011**). Selon le plus récent classement, la famille des *Culicidés* comprend deux sous-familles, constituées de 11 tribus, 111 genres et 3528 espèces de la faune du monde (**Bensafi et al., 2013**).

Ce travail a pour but d'étudier l'activité larvicide des plantes *Artemisia herba-alba* et *Rosmarinus officinalis*, à l'égard de deux espèces de moustique, *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*.

Matériels et méthodes

Matériels et méthodes

I. Matériels et méthodes

I.1. Matériel animal

I.1.1. Présentation de moustiques : *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*

I.1.1.1. Définition de *Culex pipiens*

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. Il existe des sous-espèces de *Cx. pipiens*. Tout comme chez les autres espèces de moustiques, c'est la femelle qui pique pour produire ses œufs. Le sang consommé est donc indispensable à la reproduction de cette espèce. Pour lutter contre ce moustique on utilise des insecticides ou la réintroduction de prédateurs naturels (Pierrick, 2014).

I.1.1.2. Position systématique de *Culex pipiens*

La position systématique de *Culex pipiens* est la suivante.

Tableau 01 : Position systématique de *Culex pipiens*.

Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Sous embranchement	<i>Antennata</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Sous classe	<i>Pterygota</i>
Ordre	<i>Diptera</i>
Sous ordre	<i>Nematocera</i>
Famille	<i>Culicidae</i>
Sous famille	<i>Culicinae</i>
Genre	<i>Culex</i>
Espèce	<i>Culex Pipiens</i> (Linné, 1758).

I.1.1.3. Définition de *Culiseta longiareolata*

C'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).

Matériels et méthodes

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

I.1.1.4. Position systématique de *Culiseta longiareolata*

La position systématique de *Culiseta longiareolata* et la suivante.

Tableau 02 : Position systématique de *Culiseta longiareolata*.

Règne	Animalia
Sous - règne	<i>Metazoa</i>
Embranchement	Arthropoda
Sous embranchement	Hexapoda
Super classe	Protostomia
Classe	Insecta
Sous classe	Ptérygota
Super ordre	Endopterygota
Ordre	Diptera
Sous ordre	Nématocéra
Famille	Culicidae
Sous famille	Culicinae
Genre	<i>Culiseta</i>
Espèces	<i>Culiseta longiareolata</i> (Aitken, 1954)

I.1.1.5. Cycle de développement

Les moustiques sont des insectes holométaboles, passent par plusieurs stades de développement. Les premiers stades du développement représentés par les œufs, les larves et les nymphes sont aquatiques, cependant le stade adulte a une vie aérienne. La femelle adulte est hémaphage, après son émergence d'une durée estimée à 24-72h, pique les vertébrés pour sucer leur sang contenant des protéines nécessaires à la maturation des œufs (Klowden, 1990). Pendant la piqûre, la femelle injecte de la salive anticoagulante qui provoque, chez l'Homme, une réaction inflammatoire plus ou moins importante selon les individus (Reinert, 2000).

Matériels et méthodes

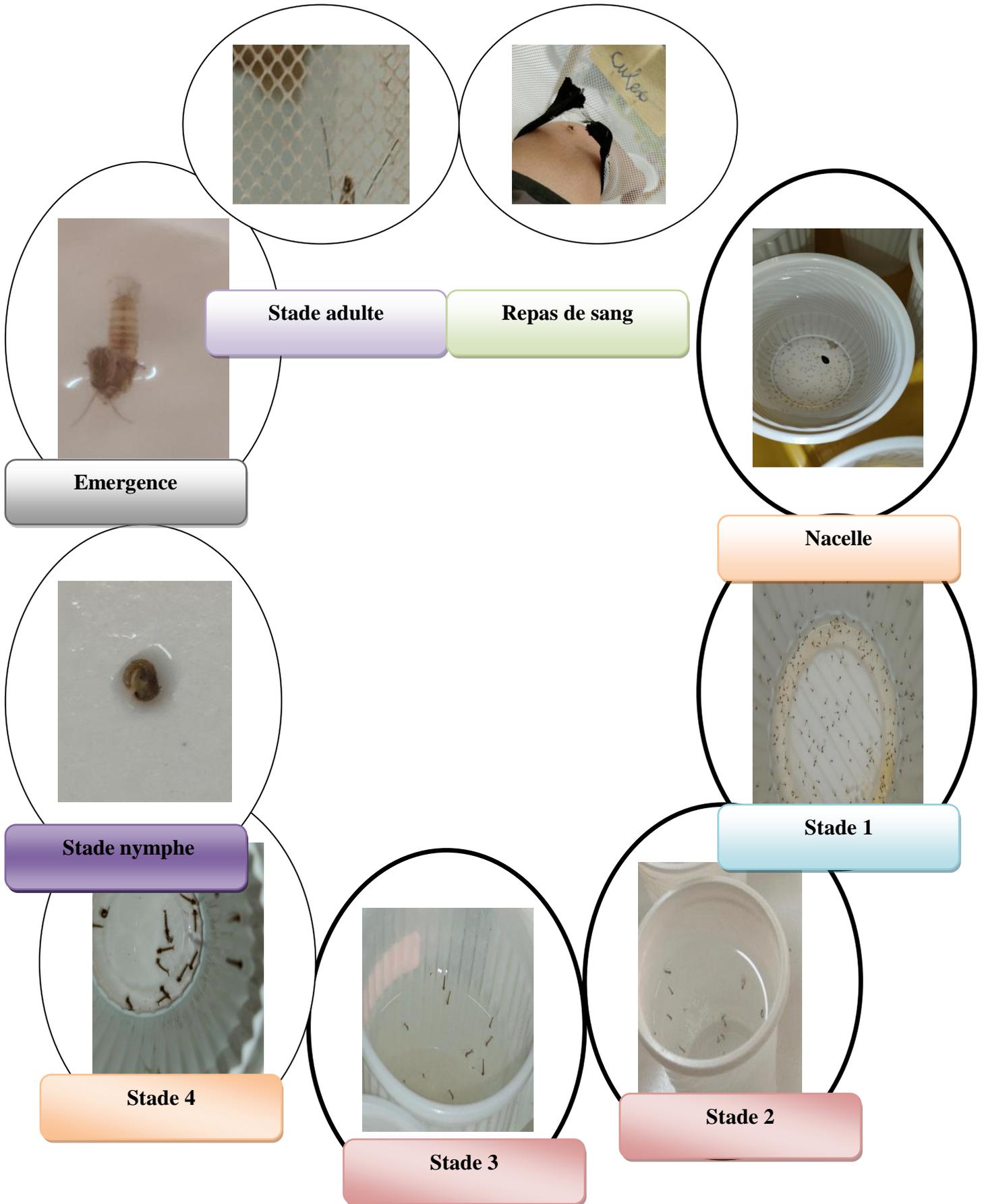


Figure 01: Cycle de vie des moustiques (Photo personnelle)

Œufs

Les femelles pondent de nombreux Œufs de ce qu'on appelle des radeaux sur la surface des gîtes différents (bassins, mers, étangs, canaux, citernes, eau de pluie...), dont l'état de l'eau est toujours stagnant et riche en matières organiques (**Paul, 2009**). Les œufs sont fusiformes, ils ont une taille de 0.5 à 1mm (**Peterson, 1980**). Une Corolla est présent au niveau du pôle inférieur de l'œuf, réunis par 200 à 400 en nacelle dont l'arrangement leur permet d'être insubmersibles (**Anonyme**). Normalement, les œufs sont blancs lors de la première déposée, puis foncés et noirs après un jour. Les œufs éclosent d'un à trois jours en fonction de la température (**Rodain et Perez, 1985**).



Figure 2. Œufs de moustique : (A) *Culex pipiens*(**Balenghien, 2007**), (B) *Culiseta longiareolata*(**Berrak, 2009**).

Le développement des larves à ce stade est exclusivement aquatique, et leur évolution comporte quatre stades (**Boulkenafet, 2006**). D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments: tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs, abdomen souple. Sa taille varie de 2à 12mm en moyenne en fonction des stades(**Fig.03**).Les larves vivent environ 10 jours (**Peterson, 1980**). Elle est dépourvue d'appareil locomoteur, ce qui ne signifie pas qu'elle soit immobile. Son extrémité caudale est munie d'un siphon, ou tube respiratoire, long et étroit affleurant à la surface de l'eau; ce tube est muni de 5 clapets qui s'ouvrent sur deux orifices par où l'air pénètre à l'intérieur quand la larve monte à la surface de l'eau, et se rabattent quand elle gagne les profondeurs (**Kettle, 1995 et Andreo,2003**).



Figure 3: Larve de moustique : (A) *Culex pipiens*(Brunhes et al., 1999), (B) *Culiseta longiareolata*(Berrak, 2009).

Nymphe

La nymphe ou pupa est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (Fig.04)(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).



Figure 4 : Aspect général d'une nymphe : (A) *Culex pipiens*(Berchi, 2000), (B) *Culiseta longiareolata*(Berrak, 2009).

Adulte

L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau. Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours (Clements, 1999). Les moustiques, comme beaucoup d'insectes se nourrissent de nectar, source d'énergie. Seules les femelles sont hématophages; elles n'ont pas besoin de sang pour leur propre survie mais en retirent les protéines nécessaires à la maturation de leurs œufs. La fécondation des œufs s'effectue lors de la ponte grâce au stockage du sperme des mâles par la femelle dans une spermathèque. En général, la durée de vie des moustiques adultes varie d'une semaine à plus d'une trentaine de jours. Deux éléments permettent de distinguer le mâle de la femelle à l'œil nu; les palpes maxillaires sont très courts et effilés chez la femelle, contrairement au mâle où ils sont plus longs que la trompe et ses antennes sont plus développées et très poilues (Urquhart *et al.*, 1996; Euzeby, 2008).

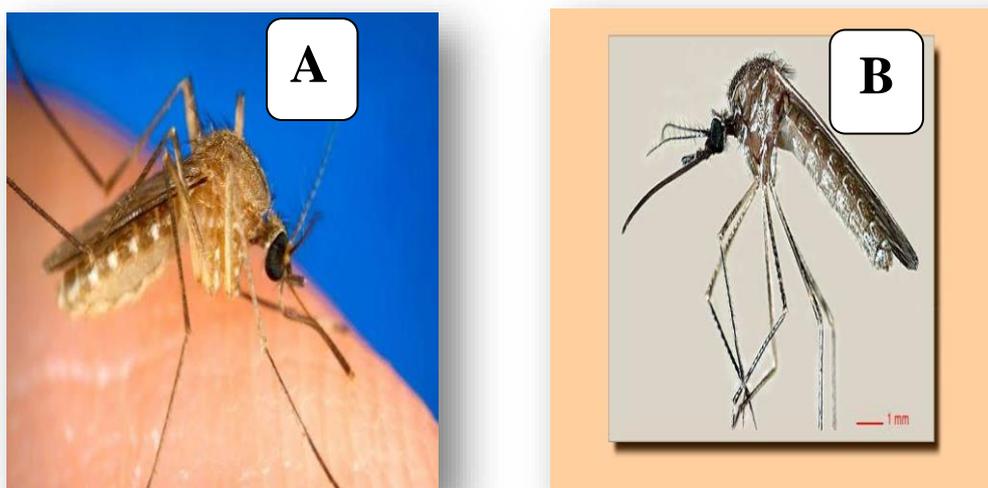


Figure 5 :Adulte de moustique : (A) *Culex pipiens*(Balenghien, 2007), (B) *Culisetalongiareolata*(Berrak, 2009).

I.1.2. Technique d'élevage à l'état larvaire

Les larves de *Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata* utilisées pour la présente étude, ont été collectées à partir de plusieurs régions de la wilaya de Tébessa , Hammamet, El gaàgà, Boukhadra . Ensuite, les larves sont élevées au laboratoire de biochimie, département de biologie appliquée.

Matériels et méthodes

Les larves et les nacelles sont collectées dans des récipients puis déplacées au laboratoire. Le contenu de chaque récipient est déplacé dans des cristallisoirs. A l'aide d'une pipette-gouttes, les larves sont triées selon leur stade de développement, puis placées dans des gobelets contenant de l'eau déchlorurée. La nourriture des larves est composée d'une mixture composée de biscuits (75%) et de levure sec (25 %). L'eau est renouvelée chaque deux jours.



Figure 06: Gites larvaires des moustiques.

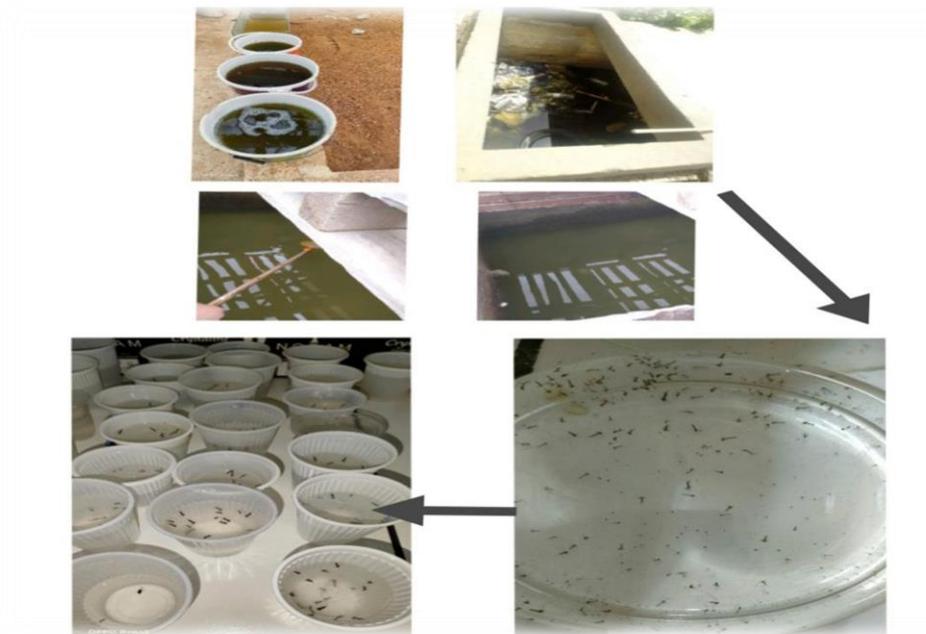


Figure07:Techniquesd'élevage(Photo personnelle).

I.2. Matériel végétal

1.2.1. *Artémisia herba-alba*

1.2.1.1. Description botanique

L'armoise blanche est une plante des climats arides et semi-arides qui pousse dans les hautes plaines steppiques, les déserts du Moyen-Orient et de l'Afrique du Nord. C'est une plante herbacée à tiges ligneuses, ramifiées et tomenteuses de 30 à 50 cm de long. Les feuilles sont courtes, sessiles, pubescentes et argentées. Les capitules sont groupés en panicules de petite taille de 1,5 à 3 mm, allongés et étroits contenant de 3 à 6 des fleurs jaunâtres. Les bractées externes de l'involucre sont orbiculaires et pubescentes (**Boudjelal, 2013**).

La croissance végétative de l'*Artemisia herba-alba* asso à lieu à l'automne, la floraison commence en juin et se développe essentiellement en fin d'été (**Gharbi et sand,n.d**).



Figure 08: La plante dans son milieu naturel au début de la saison de floraison (Messei 2011).

1.2.1.2. Systématique de la plante

Artemisia est le nom de genre des armoises, il provient de celui de la déesse grecque de la chasse, *Artemisia herba-alba* signifie herbe blanche.

Tableau 03 : Systématique de la plante *Artemisia herba-alba*.

Phylum	Angiospermeae.
Sous phylum	<i>Dicotylédones.</i>
Ordre	<i>Gampanulatae.</i>
Famille	<i>Asteraceae.</i>
Sous famille	<i>Asterioideae.</i>
Tribu	<i>Anthemideae.</i>
Sous tribu	<i>Artemisinae.</i>
Genre	<i>Artemisia.</i>
Espèce	<i>herba-alba.</i>

1.2.2. *Rosmarinu officinalis*

1.2.2.1. Description botanique

Rosmarinus officinalis appartient à la famille botanique des *Lamiacées* au sein du genre *Rosmarinus*. C'est un arbrisseau toujours vert de 0,5 à 2 m. La tige ligneuse est couverte d'une écorce grisâtre et se divise en de nombreux rameaux opposés (**ChafaiElalaoui**

Matériels et méthodes

Ali *et al*, 2014). Les feuilles sont étroitement lancéolées linéaires, faibles et coriaces, les fleurs d'une bleue pale, maculées intérieurement de violet, sont disposées en courtes grappes denses, s'épanouissent presque tout au long de l'année (Atikbekkara *et al*, 2007 et Gonzalez-trujano *et al*, 2007). Le fruit a une forme ovoïde, entouré par un calice brun et persistant. L'inflorescence et le calice ont une pilosité très courte ; l'inflorescence est en épistème courts et les bractées mesurent 1 à 2mm (Chafai Elalaoui Ali *et al*, 2014).

Originaire des régions méditerranéennes, le romarin pousse spontanément dans le sud de l'Europe. On le cultive dans le monde entier à partir de semi ou de boutures au printemps (Iserinet *et al*, 2007). Il apprécie les climats chauds ou modérément secs (Paul, 1996). Son écorce s'écaille sur les branches les plus âgées et son odeur est extrêmement odorante et tenace (Delille, 2007).

Origine du nom : le mot romarin (*Rosmarinus*) dérive du latin «Ros» : rosée, «Marinus» : marin ou de marin.



Figure 09 : Photographie de la plante *Rosmarinus officinalis* (Makhloufi, 2009).

1.2.2.2. Position systématique

La position systématique de *Rosmarinus officinalis* est la suivante :

Tableau 04 : Position systématique *Rosmarinus officinalis*.

Règne	<i>Plantae</i>
Sous règne	<i>Tracheobionta</i>
Embranchement	<i>Spermatophyta</i>

Matériels et méthodes

Sous embranchement	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Lamiales</i>
Famille	<i>Lamiaceae</i>
Genre	<i>Rosmarinus L.</i>
Espèce	<i>officinalis</i>

1.2.3. Huiles essentielles et extraits-solvants d'étude

Les plantes d'étude ont été collectées dans la région de Tébessa. Les huiles essentielles d'*Artemisia herba-alba* et *Rosmarinus officinalis* ainsi que les extraits-solvants d'*Artemisia herba-alba* nous ont été fournies par notre promotrice Mme ZEGHIB Assia. Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation des parties aériennes de la plante, en utilisant un appareil de type Clevenger. Les extraits-solvants d'*Artemisia herba-alba* ont été obtenues par macération de la plante par des solvants de polarité croissante ainsi que par une extraction hydroalcoolique.



Figure 12 : Huiles essentielles, **A** :*Artemisia herba-alba* **B** :*Rosmarinus officinalis*

I.3. Test de toxicité des huiles essentielles d'*Artémisia herba-alba* et de *Rosmarinus officinalis* ainsi que les extraits-solvants d'*Artémisia herba-alba* à l'égard des larves du 4^{ème} stade de *Culiseta longiareolata*

➤ **Huile essentielle d'*Artémisia herba-alba* / *Culiseta longiareolata***

Nous avons préparé une gamme de 4 concentrations décroissantes de l'huile essentielle d'*Artémisia herba-alba* (**figure 12**). 1ml de chaque solution préparée est mis dans des gobelets contenant 150 mL d'eau déchlorurée en contact avec 20 larves du stade 4 de *Culiseta longiareolata* nouvellement exuviées.

Deux témoins ont été utilisés :

- Témoin positif : éthanol absolu.
- Témoin négatif : L4 seules.



Figure 14 : Test de toxicité de l'huile essentielle d'*Artemisia herba alba* sur les larve L4 de *Culiseta longiareolata*(photo personnelle).

Nous avons dénombré les larves mortes et vivantes après 24h de contact avec l'HE d' Ah. Les larves vivantes sont rincées avec l'eau déchlorurée, puis déplacées dans de nouveaux gobelets contenant 150 mL de l'eau déchlorurée avec l'ajout d'une petite quantité de nourriture. La lecture se poursuit après 48 et 72h.

➤ **Huile essentielle *Rosmarinus officinalis* / *Culiseta longiareolata***

Nous avons préparé une gamme de 5 concentrations décroissantes de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*(figure 14).1ml de chaque solution préparée est mis dans des gobelets contenant 150 mL d'eau déchlorurée en contact avec 20 larves du stade 4 de *Culesita longiareolata* nouvellement exuviées.

Deux témoins ont été utilisés :

Matériels et méthodes

- Témoin positif : éthanol absolu.
- Témoin négatif : L4 seules.

Nous avons dénombré les larves mortes et vivantes après 24h de contact avec l'HE-Ro. Les larves vivantes sont rincées avec l'eau déchlorurée, puis déplacées dans de nouveaux gobelets contenant 150 mL de l'eau déchlorurée avec l'ajout d'une petite quantité de nourriture. La lecture se poursuit après 48 et 72h.

➤ Extraits-solvants *d'Artémisia herba-alba / Culiseta ngiareolata*

Nous avons préparé une gamme de deux extraits *d'Artémisia herba-alba* : ME (méthanol) et HA(Hydro-Alcoolique), à une seule concentration-test. Ce test est appliqué dans des gobelets qui contiennent 150 mL d'eau déchlorurée et 20 larves de quatrième stade nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*, comme suit :

Groupe 01 : L4 + solution d'extrait

Groupe 02 : Témoin positif : Méthanol/DMSO (50/50)

Groupe 03 : Témoin négatif : L4 seules

Nous avons dénombré les larves mortes et vivantes après 24h. Les larves vivantes sont rincées avec l'eau déchlorurée, puis déplacées dans de nouveaux gobelets contenant 150 mL de l'eau déchlorurée avec l'ajout d'une petite quantité de nourriture. La lecture se poursuit après 48 et 72h.



Figure 15 : Test de toxicité de l'extrait *d'Artémisia herba alba* sur L4 de *Culiseta longiareolata*(photo personnelle)

I.4. Test de toxicité de l'huile essentielle d'*Artémisia herba-alba* à l'égard des larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens*(Effet de la concentration létale 25 (CL₂₅) sur les métabolites)

Nous avons préparé une solution de l'huile essentielle *d'Artemisia herba-alba* à la concentration létale 25 (CL₂₅)(**figure15**).1 mL de la solution préparée est mis dans des gobelets contenant 150 mL d'eau déchlorurée en contact avec 20 larves du stade 4 de *Culex pipiens*, en parallèle avec un groupe de témoins négatif (L4 seule).

Nous avons dénombré les larves mortes et vivantes après 24h de contact avec l'HE *d'Artemisia herba-alba*. Les larves vivantes sont rincées avec l'eau déchlorurée, puis déplacées dans de nouveaux gobelets contenant 150mL de l'eau déchlorurée avec l'ajout d'une petite quantité de nourriture. La lecture se poursuit après 48 et 72h.

Matériels et méthodes

Les larves vivantes de 24, 48 et 72h sont réparties par pool d'un certain nombre et sont conservés au congélateur à -20°C jusqu'au jour du dosage des métabolites.



Figure 16: Test de toxicité *Culex pipiens*(photo personnelle)

1.4.1.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 **Figure 16**. Les échantillons (larves du quatrième stade de *Cx. pipiens*) sont placés dans des tubes eppendorfs contenant 1 mL d'acidetrichloracétique (TCA) à 20 % et broyés. Après une première centrifugation (5000 trs / min, 10 mn), le surnageant I obtenu est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de **Duchateau&Florkin, (1959)**. Au culot I, on ajoute 1 mL de mélange éther/chloroforme(1V/1V) et après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn), on obtient le surnageant II et le culot II ; le surnageant II sera utilisé pour le dosage des **lipides (Goldworthy et al, 1972)** et le culot II, dissout dans de la soude (0,1 N), servira au dosage des protéines selon **Bradford,1976**.

Matériels et méthodes

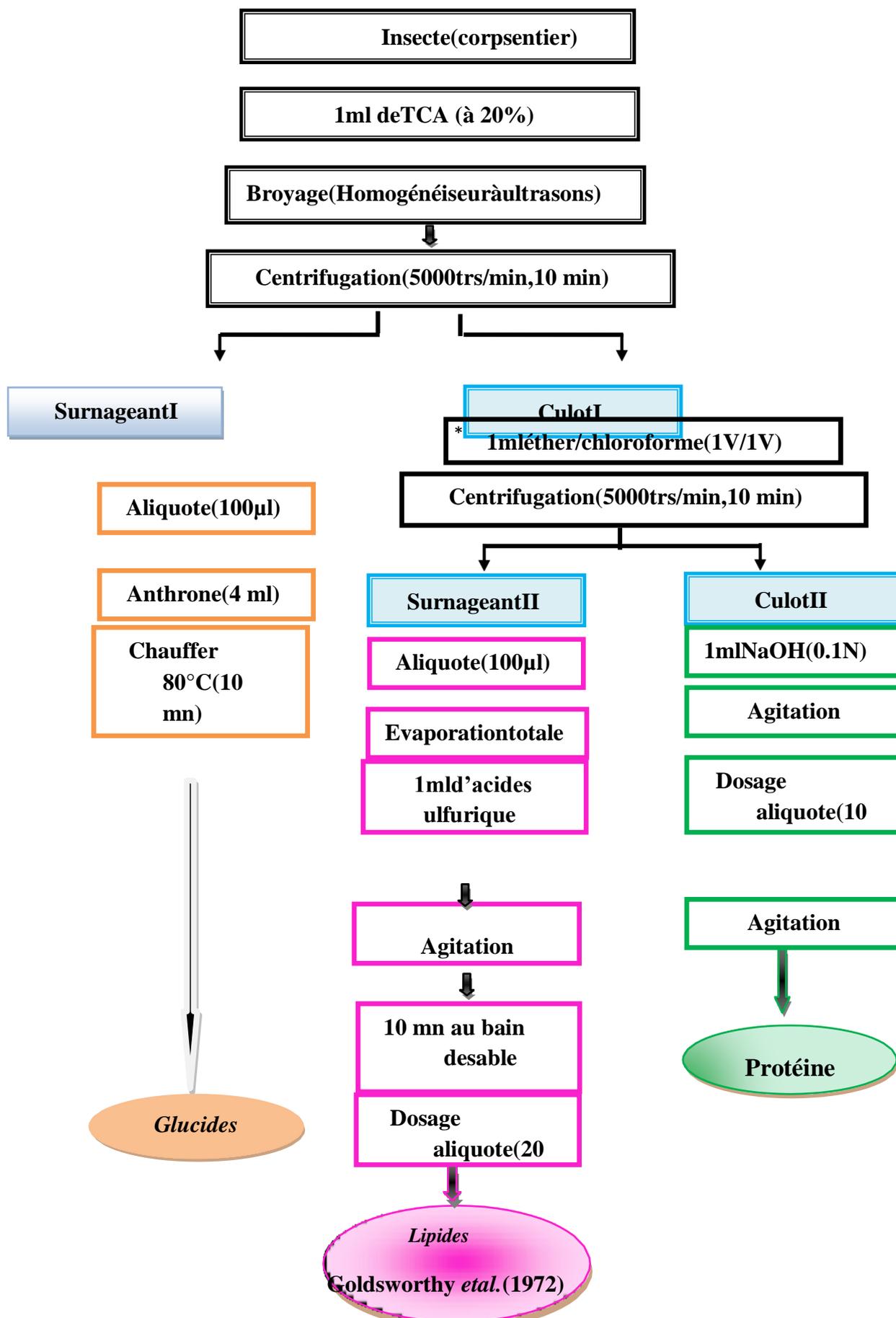


Figure 17 Duchateau & Florkin, (1959) Bradford des glucides, protéines et lipides totaux (Shibko et al., 1967).

Matériels et méthodes

1.4.1.1. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides totaux a été réalisé selon la méthode de **Duchateau&Florkin(1959)**. Cette méthode consiste à additionner 100 μ L du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 mL du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange à 80 °C pendant 10 min, une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucides présente dans l'échantillon. La lecture de l'absorbance est faite à une longueur d'onde de 620nm. La gamme d'étalonnage est effectuée à partir d'une solution mère de glucose (1mg/mL).

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

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

1.4.1.2. Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de **Bradford(1976)** dans une fraction aliquote de 100 μ L à laquelle on ajoute 4 mL de réactif du bleu brillant de comassie (BBC) G 250 (**Merck**). Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorant en bleu. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm. La gamme d'étalonnage est réalisée à partir d'une solution d'albumine de sérum de bœuf (BSA) titrant 1mg/mL.

Tableau 06: Dosage des protéines totales chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tubes	1	2	3	4	5	6
Solution standard d'albumine (μ l)	0	20	40	60	80	100

Matériels et méthodes

Eau distillée(μl)	100	80	60	40	20	0
Réactif BBC(ml)	4	4	4	4	4	4
Quantité d'albumine(μg)	0	20	40	60	80	100

1.4.1.3. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de **Goldsworthy et al. (1972)** en utilisant le réactifs ulfophospho vanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des prises aliquotes de 100 μL des extraits lipidiques ou de gamme étal onauxquel les onévapore 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 sulfophosphovanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530nm. Les lipides forment à chaud avec l'acide sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide orthophosphorique, des complexes roses. La solution mère des lipides est préparée commesuit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et onajoute1 mL d'éther chloroforme (1V/1V).

Tableau07 : Dosage des lipides totaux chez les moustiques: réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

Résultats

II. Résultats

II.1. Activité larvicide de quelques plantes médicinales

II.1.1. Evaluation de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard des larves du 4^{ème} stade de l'espèce de moustique *Culiseta longiareolata*

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité de l'HE-Ah, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles à différentes périodes de temps 24, 48 et 72h après traitement. La figure ci-après présente la comparaison de moyenne à différents temps (24, 48 et 72 h) pour 4 concentrations décroissantes différentes (C1, C2, C3 et C4).

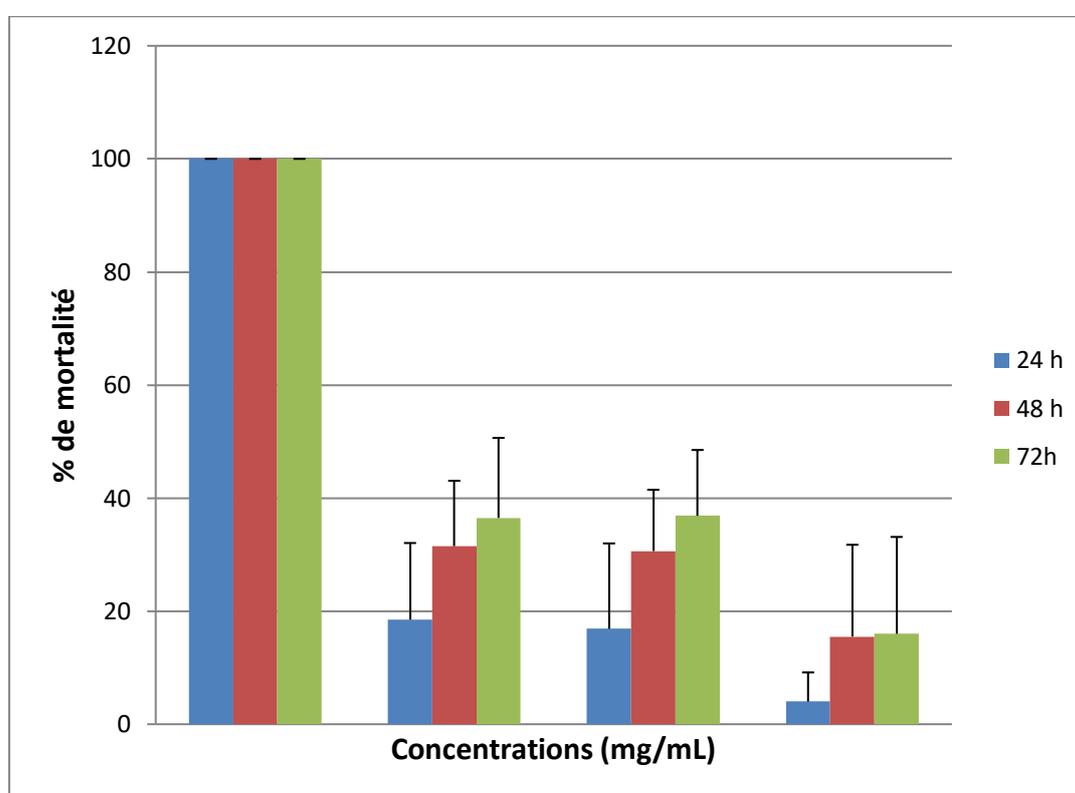


Figure18: Diagramme en barre présentant la mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traitées par différentes concentrations décroissantes de l'huile essentielle d'*Artémisia herba-alba*. Comparaison des moyennes à différents temps (24, 48 et 72h).

Les résultats de notre étude montrent une sensibilité variable des larves L4 nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* vis-à-vis de l'HE d'*Artémisia herba-alba*. Le pourcentage de mortalité augmente de manière progressive au cours du temps et ce pour chaque concentration –test, excepté la concentration la plus élevée C1.

Résultats

II.1.2. Evaluation de l'effet larvicide de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à l'égard des larves du 4^{ème} stade de l'espèce de moustique *Culiseta longiareolata*

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité de l'HE-RO, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles à différentes périodes de temps 24, 48 et 72h après traitement. La figure ci-après présente la comparaison de moyenne à différents temps (24, 48 et 72 h) pour 5 concentrations décroissantes différentes (C1, C2, C3, C4 et C5).

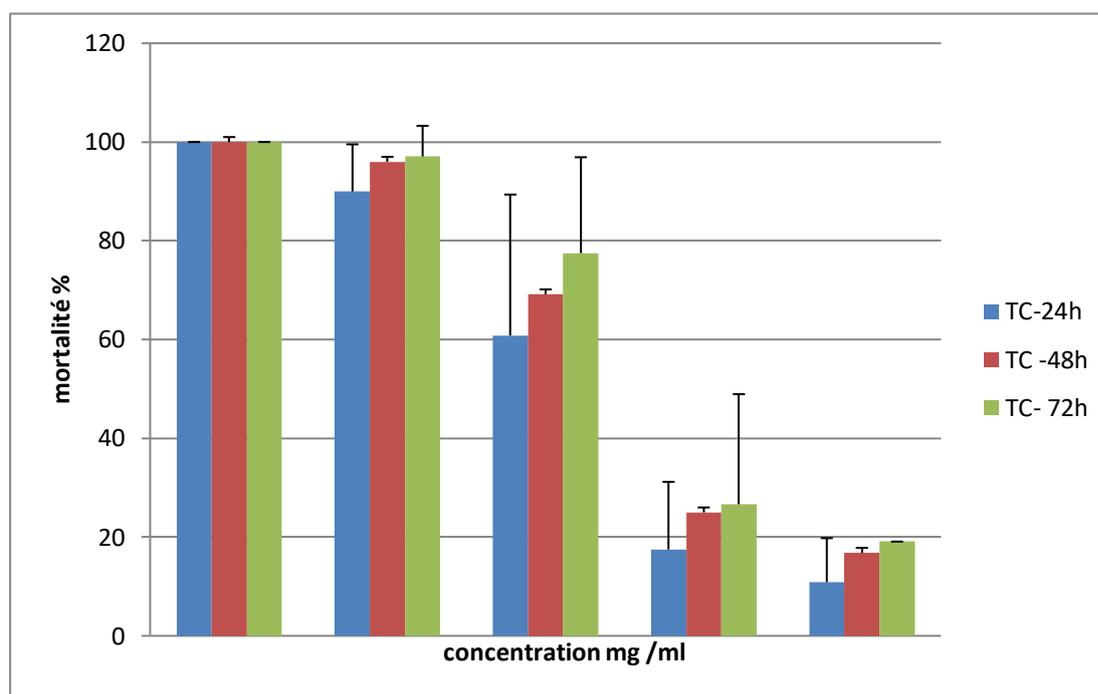


Figure19:Diagramme en barre présentant la mortalité des larves L4 nouvellement exuviées traitées par différentes concentrations décroissantes de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Comparaison des moyennes à différents temps (24, 48 et 72h).

Les résultats de notre étude montrent une sensibilité variable des larves L4 nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* vis-à-vis de l'HE de RO. Le pourcentage de mortalité augmente de manière progressive au cours du temps et ce pour chaque concentration-test, excepté la concentration la plus élevée C1.

Résultats

II.1.3. Evaluation de l'effet larvicide des extraits polaires d'*Artemisia herba-alba* à l'égard des larves du 4^{ème} stade de l'espèce de moustique *Culiseta longiareolata*

Dans le but de connaître l'effet larvicide des extraits polaires (Ah-HA, Ah-ME) de la plante d'*A. herba-alba*, des essais toxicologiques préliminaires sur les larves du 4^{ème} stade de *Culiseta longiareolata* nouvellement exuviées ont été réalisés. Les résultats sont présentés dans la figure ci-après.

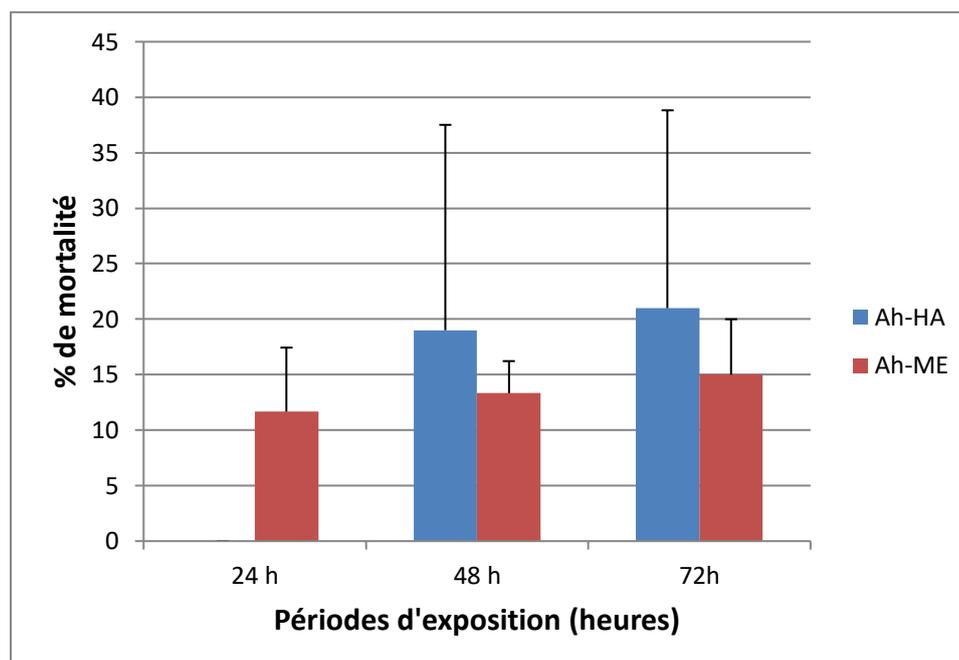


Figure20 : Diagramme en barre présentant les pourcentages de mortalités des larves L4 nouvellement exuviées traitées par les extraits polaires Ah-HA et Ah-ME. Comparaison des moyennes à différents temps (24, 48, 72 h) pour une même concentration de l'extrait.

Les résultats obtenus révèlent une sensibilité variable des larves L4 nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* (traitées par une même concentration d'extraits Ah-AH et Ah-ME) traduite par des taux de mortalité faibles. Les résultats révèlent également que l'activité larvicide est progressive sur la durée d'exposition, puisqu'il a été enregistré une augmentation de la mortalité au fur et à mesure que nous avançons dans le temps d'exposition 24,48 et 72h.

Résultats

II.1.4. Evaluation de l'effet larvicide de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* à l'égard des larves du 4^{ème} stade de l'espèce de moustique *Culex pipiens* : Effet de la concentration létale 25 (CL₂₅) sur les métabolites

II.1.4.1. Contenu en glucides totaux

Le contenu en glucides totaux a été déterminé chez les larves de quatrième stade, d'après une courbe d'étalonnage des glucides croissante (**Figure 26**), exprimée sous forme d'une formule $y = ax + b$ ($a=0,010x + 0,007$, x =concentration), avec un coefficient de détermination $R^2=0,995$.

Le contenu en glucides chez les larves de *Cx. Pipiens* traitées (par CL₂₅) et témoins, a été déterminé au cours des différentes périodes 24, 48, 72h après traitement et les résultats obtenus sont présentés dans la **Figure 27**.

La comparaison des valeurs moyennes montre que :

- ✓ Chez les séries témoins, les résultats obtenus montrent une différence du taux des glucides mesurés après 24, 48 et 72h.
- ✓ Chez les séries traitées par la CL₂₅, il y'a une diminution du taux des glucides mesurés après 24,48 et 72h.

Les résultats montrent que l'huile essentielle de *d'A. herba-alba* (CL₂₅) provoque une diminution du taux des glucides totaux chez *Culex pipiens*.

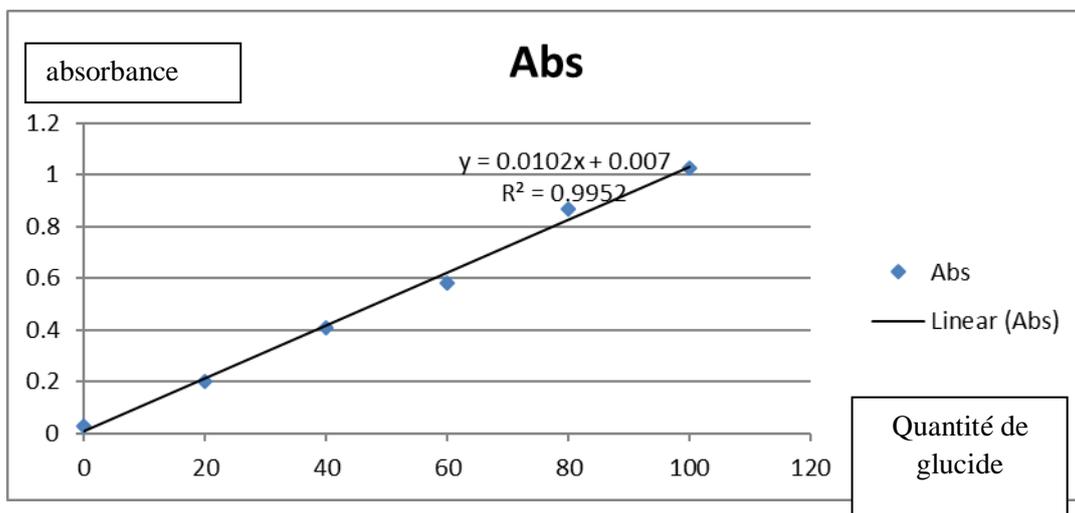


Figure 21 : Courbe d'étalonnage des Glucides.

Résultats

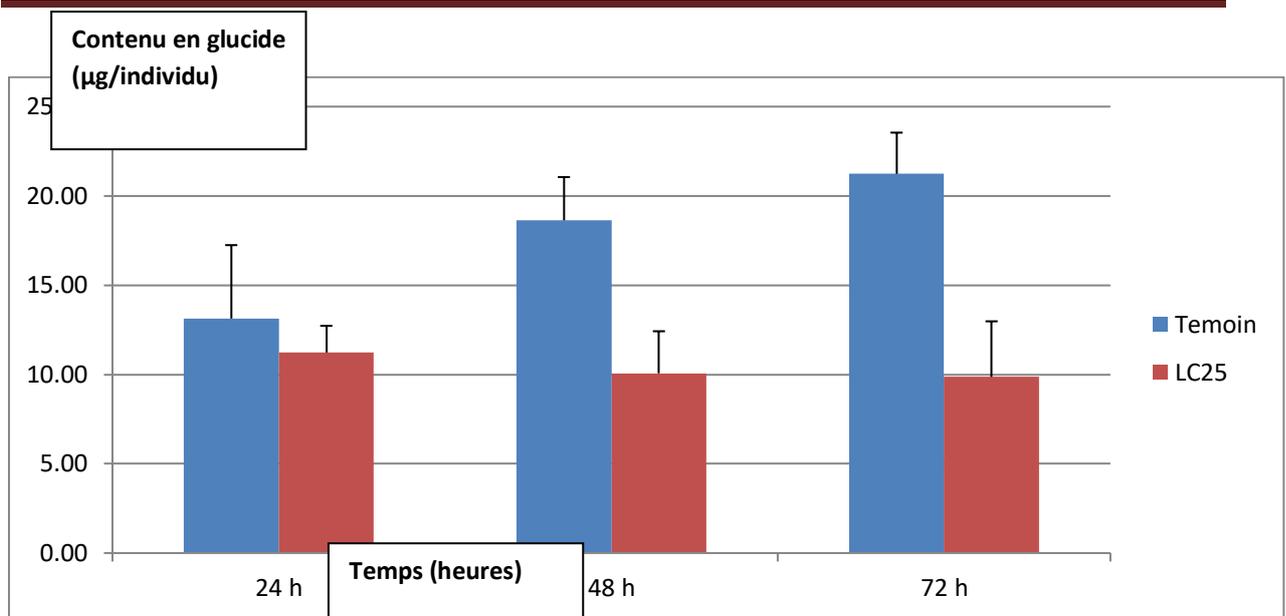


Figure22 : Effet del'H.E d'A. *herba-alba* (CL₂₅) sur le contenu en glucides totaux chez les larves du quatrième stade de *Cx. Pipiens* à différentes périodes de temps (24, 48 et 72h).

Résultats

II.1.4.2. Contenu en protéines totales

Le contenu en protéines totales a été déterminé chez les larves du quatrième stade d'après une courbe d'étalonnage d'albumine croissante (**Figure 23**), exprimée sous forme d'une formule $y = ax + b$ ($y = 0,010x + 0,072$, x =concentration), avec un coefficient de détermination $R^2 = 0,981$.

Le contenu en protéines a été déterminé chez les larves de *Cx. Pipiens* traitées (par CL₂₅) et témoins. Les résultats du dosage sont présentés dans la **Figure 24**. La comparaison des valeurs moyennes montre que :

- ✓ Chez les séries témoins, nous remarquons une augmentation du taux des protéines par rapport aux temps testés (24,48 et 72h).
- ✓ Chez les séries traitées par la CL₂₅, les taux de protéines montrent une augmentation au cours des périodes testées.

Les résultats montrent que l'huile essentielle *d'A. herba-alba*(CL₂₅) provoque une augmentation du taux de protéines totales chez *Culex pipiens*.

Résultats

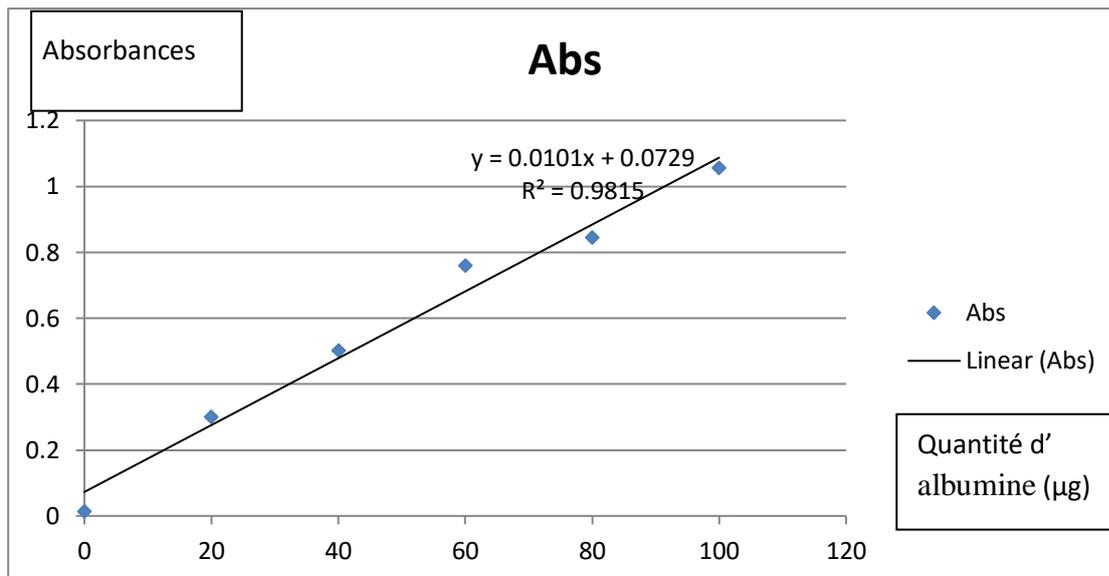


Figure23 : Courbe d'étalonnage des Protéines

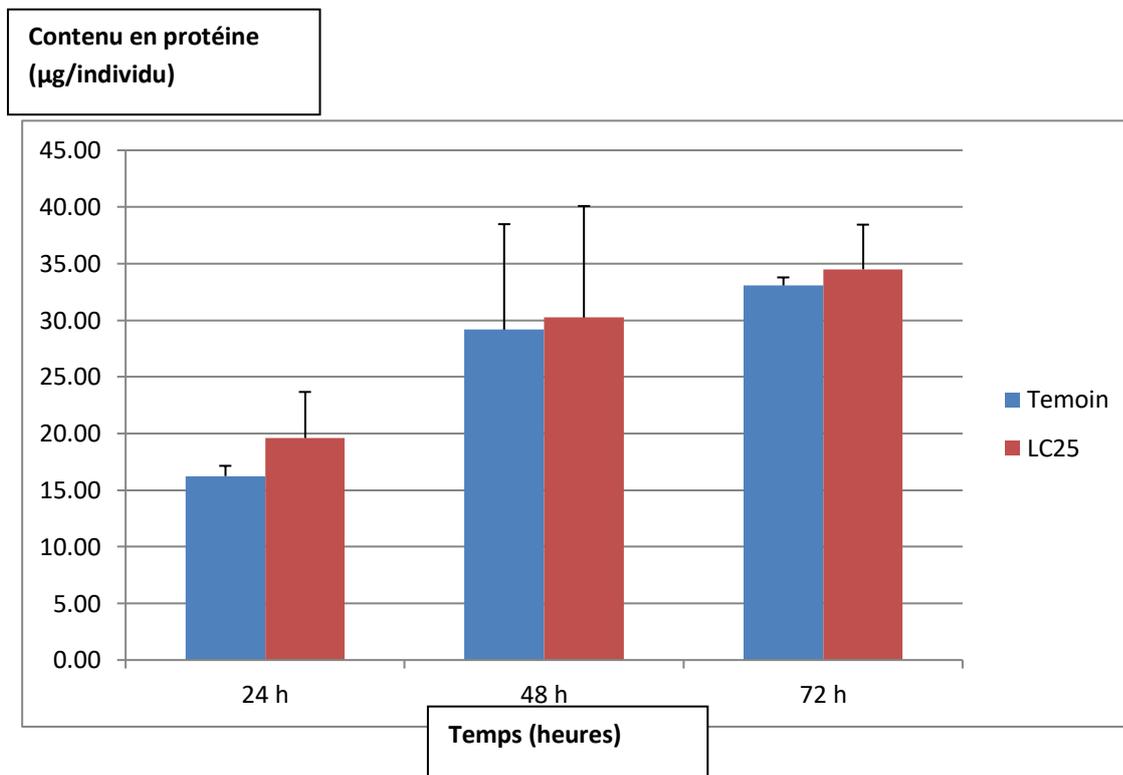


Figure24 : Effet de l' H.E d'A. *herba-alba* (CL₂₅) sur le contenu en protéines totales chez les larves du quatrième stade de *Cx. Pipiens* à différentes périodes de temps 24, 48 et 72h.

II.1.4.3. Contenu en lipides totaux

Le contenu en lipides totaux a été déterminé chez les larves du quatrième stade, d'après une courbe d'étalonnage des lipides croissante (**Figure 25**), exprimée sous forme d'une formule $y = ax + b$ ($0,000x + 0,01$, x =concentration), avec un coefficient de détermination $R^2=0,976$.

Le contenu en lipides a été estimé chez les larves de *Cx. Pipiens* traitées (par CL_{25}) et témoins au cours des différents temps et les résultats du dosage sont présentés dans **la Figure 26**.

La comparaison des valeurs moyennes montre que :

- ✓ Chez les séries témoins, les résultats obtenus montrent une différence du taux des lipides mesurés après 24, 48 et 72h.
- ✓ Chez les séries traitées par la CL_{25} , les taux de lipides prouvent une diminution après 24, 48 et 72h comparativement aux témoins.

Les résultats montrent que l'huile essentielle d'*A. herba-alba* (CL_{25}) provoque une diminution du taux des lipides totaux chez *Culex pipiens*.

Résultats

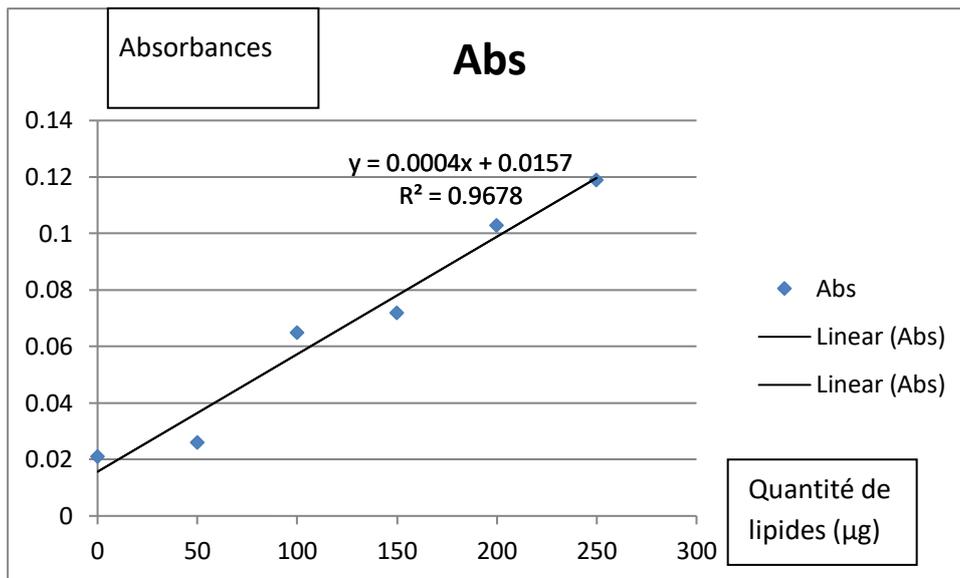


Figure 25: Courbe d'étalonnage des Lipides.

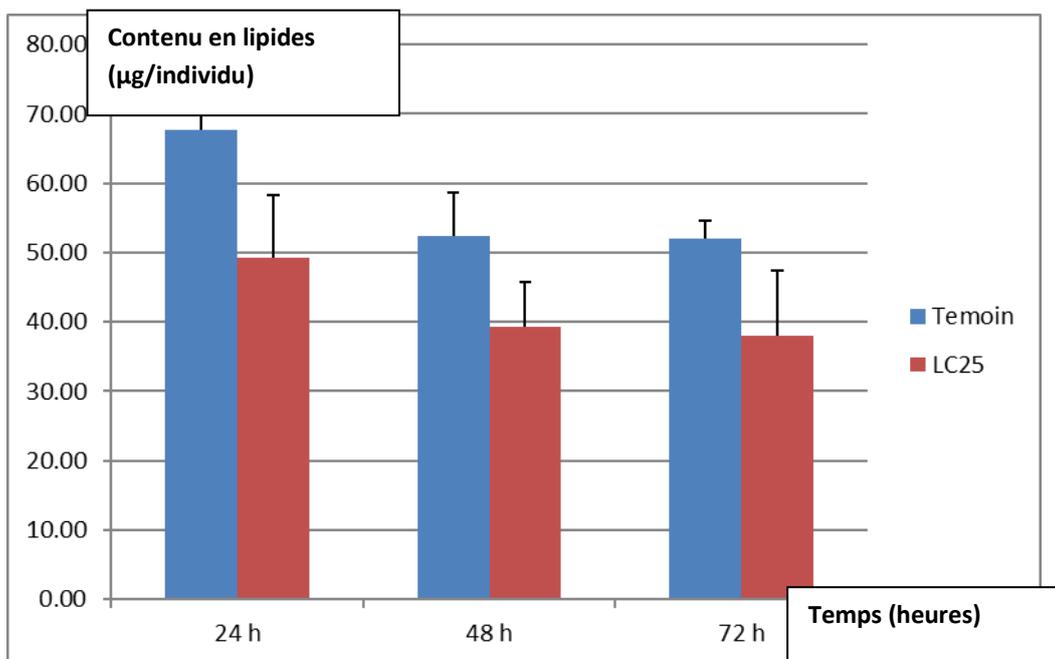


Figure 26 : Effet de l' H.E d'A. *herba-alba* (CL₂₅) sur le contenu en lipides totaux chez les larves du quatrième stade de *Cx. Pipiens* à différentes périodes de temps 24, 48 et 72h.

Discussion

III. Discussion

III.1. Effet toxique de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* sur les larves L4 de *Culiseta longiareolata*

L'activité larvicide d'*A. herba-alba* est, d'une part, temps-dépendante du fait qu'il y'a une augmentation de mortalité en avançant dans le temps et, d'autre part, dose-dépendante du fait qu'il y'a une augmentation de mortalité avec l'augmentation des concentrations-tests.

Les résultats rapportés par l'étude de **Berkane et Boudiar (2018)**, menée sur la toxicité de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* contre *Culex pipiens*, révèlent que les pourcentages de mortalité pour les 3 concentrations testées sont de l'ordre de 0,5, 82,5 et 97% respectivement, pour une période d'exposition de 24h. Selon **Chaiebet al. (2018)**, les résultats obtenus en testant la toxicité de l'huile essentielle d'*A. herba-alba* contre *Tribolium castanum*, à des concentrations de 142,8 et 304,6 µL/L, sont de l'ordre de 50 et 95% respectivement, pour une période d'exposition de 24h.

Ainsi, nos résultats concordent avec les travaux antérieurs sur l'huile essentielle d'*A. herba-alba*, qui montrent que son efficacité est proportionnelle à la concentration.

III.2. Effet toxique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sur les larves L4 de *Culiseta longiareolata*

L'activité larvicide de *R. officinalis* est, d'une part, temps-dépendante du fait qu'il y'a une augmentation de mortalité en avançant dans le temps et, d'autre part, dose-dépendante du fait qu'il y'a une augmentation de mortalité avec l'augmentation des concentrations-tests.

Nos résultats sont en accord avec ceux rapportés par **(Berrah et Ahcene, 2016)** qui ont mis en évidence l'efficacité de l'huile essentielle *R. officinalis* sur les larves L4 nouvellement exuvies de *Culex pipiens*. **(Mahdiechsaeidi and saeid Moharramipour, 2013)** montrent que l'huile essentielle des parties aériennes de *R. officinalis* extraite par hydrodistillation possède un effet toxique contre *Tribolium confusum* donnant 15 % et plus de 50% de mortalité, après une durée d'exposition de 6 heures et 12 heures, respectivement.

En Algérie, l'étude de **Nabti en 2019a** a montré que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a une activité toxique sur les larves de *Culiseta longiareolata* avec un taux de mortalité maximal de 100 % après 24 heures, réalisé avec la concentration de 200 ppm.

III.3. Effet toxique des extraits polaires d'*Artemisia herba-alba* sur les larves L4 de *Culiseta longiareolata*

Les résultats obtenus révèlent une sensibilité variable des larves L4 nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* traduite par des taux de mortalité faibles, en recevant la même concentration des extraits Ah-AH et Ah-ME. Les résultats révèlent également que l'activité larvicide est progressive sur la durée d'exposition, puisqu'il a été enregistré une augmentation de la mortalité au fur et à mesure que nous avançons dans le temps d'exposition 24,48 et 72h. Ce résultat concorde parfaitement avec les explications apportées dans l'étude de **Salah and Jagar (2005)**.

Les composés aromatiques phénoliques (acides phénoliques, tannins et flavonoïdes) forment le groupe des composés chimiques le plus importants des plantes et leurs effets toxicologiques sont dus à ces substances comme le thymol, le carvacrol, le cinnamaldéhyde, l'eugénol, le 1,8-cinéole, le camphre et les thujones (**Aouati, 2016**).

III.4. Effet de la concentration létale 25 (CL₂₅) de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* sur les métabolites des larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens*

Vu que toutes les études faites ont bien étudié les activités larvicides d'*Artémisia* sur *Culex pipiens* sans aborder le contenu en métabolites, notre discussion sera rapportée à des études sur la même espèce mais avec d'autres plantes.

Les huiles essentielles à partir de la plante d'*Artémisia* peuvent engendrer des perturbations biochimiques exprimées par une augmentation ou un déclin en différents métabolites (glucides, protéines, lipides). Il est important d'étudier les modifications de la composition biochimique des individus traités par des insecticides botaniques pour déterminer le pouvoir toxique de ces derniers.

III.4.1. Effet sur le contenu en glucides

Les glucides forment un groupe de composés très importants, certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose), soit de forme de réserve (glycogène) (**Nation, 2008**).

Nos résultats montrent une diminution du contenu glucidique à 24, 48 et 72h de traitement chez les larves traitées par l'huile essentielle d'*Artémisia herba-alba*.

Des résultats similaires à 72h ont été observés par **Dris et al. (2017)**, qui ont noté une perturbation des glucides totaux chez les larves et les pupes de *Cx. pipiens* traitées aux huiles

de l'*Ocimum basilicum* et par **Khosravi et al. (2011)** chez les larves de *Glyphodespyloalis* traitées avec l'extrait d'*A. annua*. **AbdulRazak & Sivasubramanian (2007)** ont constaté que les glucides chez les femelles adultes de *Chrysoperla carnea* ont été affectés par l'huile de *Manduca*. Ce composé a été également réduit chez les larves de *Glyphodespyloalis* traitées à l'huile de *Lavandula angustifolia* (**Yazdani et al., 2013**) et chez les larves de *Crociodolomia binotalis*, traitées aux extraits de *Strychnos nuxvomica*, *Vitex negundu* et *Lippianodiflora* (**Vijayaraghavan et al. 2010**). Dans des conditions de stress, plus de sucres pourraient être métabolisés pour faire face aux dépenses énergétiques (**Yazdani et al. 2014**). Cela pourrait être la raison de l'appauvrissement en carbohydrates chez les insectes traités.

III.4.2. Effet sur le contenu en protéines

Chez les insectes, les protéines et les acides aminés jouent un rôle majeur durant les différentes phases de leur vie. Ce sont des composants biochimiques majeurs nécessaires au développement, à la croissance et à l'accomplissement de leurs activités vitales (**yazdani et al., 2014**). La teneur de l'insecte en protéines dépend de sa synthèse, sa dégradation, du mouvement de l'eau entre les tissus et de l'hémolymphe (**Gnanamani et Dhanasekaran, 2017**). Cependant, elles peuvent être inductibles à la suite d'une exposition à des plantes médicinales (**Haubruge et Amichot, 1998**).

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation, montrent que l'application de l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* (CL₂₅) sur les larves de *Culex pipiens* augmente le contenu en protéines. Des résultats similaires ont été enregistrés chez la même espèce suite à un traitement par les HEs d'*O. basilicum* (**Dris et al. 2017 b**), *Cs. longiareolata* traités à la lavande et à la menthe (**Dris, 2018**). Cela a été observé aussi par **Madaci et al. (2008)** qui ont montré que les huiles essentielles d'*Artemisia* des feuilles de *Nerium oleander* (*Apocynaceae*) provoquent une augmentation des taux de protéines chez les larves blanches de *Rhizotrogini* (*Coleoptera: scarabaeidae*). Contrairement à nos résultats, l'étude de **Sharma et al. (2011)** a montré que les teneurs en protéines ont été réduites à 63,13% et 92,62% chez les *Anophelins* et à 32,39% et 48,12% chez les larves de *Culicins* après traitement aux huiles essentielles d'*Artemisia* et d'*Azadirachta indica*, respectivement. De même, il a été rapporté que le contenu en protéines réduit chez les larves d'*Anopheles stephensi* traitées avec certains extraits végétaux (**Senthilkumaret al., 2009**).

III.4.3. Effet sur le contenu en lipides

Les lipides sont également des composants importants formés des acides gras, des phospholipides et des stérols qui font partie intégrante des parois cellulaires des insectes et contribuent également à d'autres fonctions (**Chapman, 1998**). Ils représentent la principale source d'énergie chez les insectes (**Beenakker et al. 1985**), transportés du corps gras, site de leur synthèse et stockage (**Keely, 1986 ; Van Hensden & Law, 1989**) vers les organes utilisateurs. Les réserves lipidiques semblent être la résultante d'un équilibre entre la prise de nourriture et les dépenses énergétiques indispensables pour certains processus tel que la croissance (**Beenakker et al. 1985**).

Dans la présente étude, les résultats obtenus montrent que le traitement des larves de *Cx. pipiens* par l'huile essentielle d'*Artemisia herba-alba* avec la CL₂₅ réduit le contenu en lipides. Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus par **Dris (2018)** qui a constaté que le contenu en lipides est réduit chez les larves et les pupes de *Cx. pipiens* après traitement au basilic, à la lavande et la menthe. Les travaux de **Senthilkumaret al. (2009)**, ont également démontré une réduction des lipides totaux chez les larves d'*Anopheles stephensi* traitées avec certains extraits de plantes. Des résultats similaires ont été observés par **Sharma et al. (2011)** qui ont rapporté que les teneurs en lipides chez les larves d'*Anophélinés* et de *Culicidés* diminuent de 28,57% et de 25,0%, respectivement après traitement avec l'extrait d'*Artemisia annua*.

Conclusion

Conclusion

Conclusion

Depuis toujours l'être humain cherche à lutter contre les moustiques qui sont vecteurs de diverses maladies. Plusieurs moyens de lutte sont exploités, entre autres, l'utilisation des insecticides chimiques. Néanmoins, ces derniers ont un impact nocif sur la santé et l'environnement. Ainsi, le recours à des alternatives naturelles jouant le même rôle que les insecticides synthétiques et présentant des avantages écologiques et économiques, au vu de nombreux chercheurs, s'avère nécessaire.

L'*Artemisia herba-alba* et le *Rosmarinus officinalis* sont des plantes médicinales, utilisées depuis longtemps. Elles ne sont pas exploitées à l'échelle qui se doit, malgré leurs effets biologiques potentiels.

Notre étude est axée, d'une part, sur l'évaluation du potentiel larvicide de l'huile essentielle et des extraits polaires d'*Artémisia herba-alba* ainsi que l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* à l'égard des larves nouvellement exuviées du 4ème stade de l'espèce de moustique *Culiseta longiareolata* et, d'autre part, sur l'effet de la concentration létale 25 (CL₂₅) de l'huile essentielle d'*Artémisia herba-alba* vis-à-vis des métabolites (glucides, protéines et lipides) des larves nouvellement exuviées du 4ème stade de l'espèce de moustique *Culex pipiens*.

Les résultats obtenus montrent que :

- ✓ L'huile essentielle d'*Artémisia herba-alba* possède un effet larvicide intéressant sur les larves L4 nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens*.
- ✓ L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a un effet larvicide très intéressant sur les larves L4 nouvellement exuviées de *Culiseta longiareolata*.
- ✓ L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est plus efficace que l'huile essentielle d'*Artémisia herba-alba* sur les larves L4 de *Culiseta longiareolata*.
- ✓ Les extraits polaires Ah-HA et Ah-ME ont un effet larvicide plus faible sur les larves L4 de *Culiseta longiareolata*.

Il sera intéressant et nécessaire de poursuivre cette recherche, en évaluant d'autres concentrations des huiles essentielles et des extraits des plantes *Artémisia herba-alba* et *Rosmarinus officinalis*, afin de déterminer les concentrations létales.

Références bibliographiques

-A -

Aouati , A2016 Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) . (thèse doctorat université des frères mentouri . , constantine) .

Atikbekkara, F., Bousmaha, L., Taleb bendiab, S.A., Boti, J.B., Casanova J. (2007) Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* L poussant à l'état spontané et cultivé de la région de Tlemcen. *Biologie & Santé*. **7**: 6-11p.

-B -

Balenghien T. (2007). Les moustiques vecteurs de la Fièvre du Nil Occidental en

Berchi S. (2000) - Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae) dans la région de Constantine et perspectives de lutt. Thèse doc. Es – science, Université de Constantine, Algérie : 133p.

Berrak, H. (2009) -Inventaire des moustiques et des hydracariens dans le lac des oiseaux : lutte biologique, Magistère en écologie animale. Université Annaba).

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

Boudjelal A.(2013), Extraction, identification et détermination des activités biologiques de quelques extraits actifs de plantes spontanées (*Ajugaiva*, *Artemisia herba alba* et *Marrubiumvulgare*) de la région de M'Sila, Algérie .thèse doctorat : Biochimie Appliquée. Annaba : Université Badji Mokhtar, 61p.

Boudemagh, N., Bendali-Saoudi. F & Soltani. N. (2013). Inventory of Culicidae (Diptera: Nematocera) in the région of Collo (North-East Alegria). *Annals of Biological Research*, **4** (2) : 94-99.

Bouderhem .A (2014) Effet des huiles essentielles de la plante *Laurusnobilis* sur l'aspect Toxicologique et morphométrique des larves des moustiques (*Culex pipiens* et *Culiseta longiareolata*). Mémoire de fin d'étude En vue de l'obtention du diplôme de Master.

Bensafi-Gheraibia, H., Menail, A.H. & Soltani, N. (2013). Activité d'un inhibiteur de la synthèse des lipides (spiromesifen) chez *Drosophila melanogaster*: taux et peroxydation lipidiques et effet sur la descendance. *Bull. soc. zool. fr.*, **138** (1-4) : 189-199.

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

Beenakers, A.M.T.H., Vander Host, D.G. & Van Marrewijk, W.J.A. (1985). Insect lipids and lipoproteins

-C -

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

-D -

Delille L. 2007. Les plantes médicinales d'Algérie. Édition BERTI. Alger, 122p.

Duchateau G. & Florkin M., 1959. Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem.*, **67**:306-314.

Duchateau G. & Florkin M., 1959. Sur la tréhalosémie des insectes et sa signification. *Arch. Insect. Physiol. Biochem.*, **67**:306-314.

Dris, D., Tine-Djebbar, F., Bouabida, H. & Soltani, N. (2017b). 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

-E -

Euzeby J. (2008) - Grand dictionnaire illustre de parasitologie medicale et veterinaire. Paris: Editions Tec & Doc. p 818.

-G -

Gharbi Z., sand RL, *Artemisia herba alba* asso. A guide to medicinal plants in north africa : 49_49

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

Gnanamani, R. & Dhanasekaran, S. (2017). Efficacy of azadirachta indica leaf extract on the biochemical estimation of a lepidopteran pest *Pericallia ricini* (Lepidoptera: Arctiidae). *World Applied Sciences Journal*. 35 (2): 177– 181.

-I -

Iserin P, Masson M et Restellini J P, 2007. Larousse des plantes médicinales. Identification, préparation, Soins .Ed Larousse, 11p.

-K-

Kettle D.S. (1995) - Medical and Veterinary Entomology, 2^o edition, Wallingford: CAB international, 725 p.

Klowden M.J. (1990) - The endogenous regulation of mosquito reproductive behavior.

Keely, L.L. (1986). Physiology and biochemistry of fat body, pp. 211 – 248. In GA Kerkut & L.I. Gilbert (eds): Comprehensive Insect Biochemistry, physiology and pharmacology, vol. 3, Pergamon Press, oxford.

-L -

Lenoir. ; « Effet protecteurs des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle

-M-

Mahddich S ,saeid M : 2011, insecticidal and repellent activities of *Artemisia khorassania* , *rosmarinus officinalis* and *menthe longifolia* essential oils on *tribolium confusum*.

Messai M, (2011), étude phytochimique d'une plante médicinale de l'est algérien (*artemisia herba alba*), thèse doctorat en chimie organique, université de Constantine. 2011 p 28.P47.

Messai ,N akriche ,H (2017) evaluation de l'effet larvicide des extraits d'*Artemisia herba alba* à l'égard de *Culex pipiens* (université Larbi Tebbessi , Tébessa)

Mohammedi Z. 2006. Etude du pouvoir antimicrobien et antioxydant des huiles Essentielles.

Mostafa S. 2011. Extraction et caractérisation de l'huile essentielle et de quelques métabolites secondaires actifs d'une plante à caractères thérapeutiques, *Thymus vulgaris* L.; et étude de quelques activités pharmacologiques. Thèse de magister. Université de Blida.

-N-

Nabti L 2019 : université de Msila /CHU de Sétif –microbiologie –biologie moléculaire.

-P-

Paul, J. (1996). Larousse des plantes médicinales. Edition Andrewchavallier .2^e édition .116p.

Paul R. (2009) - Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français .EID.

Peterson E.L. (1980) -Alimit cycle interprétation of a mosquito circadian oscillator .J. theor. Biol. 84 : (281-310).

Pierrick H. (2014) - *Culex pipiens* - Définition. Réalisé en collaboration avec des Polytechnique de Toulouse, 22-38.

Poupardin R. (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 pierrick horde, p: 1.

-R-

Reinert J.F.(2000) - New classification for the composite genus *Aedes* (Diptera: Culicidae: Aedini), elevation of subgenus *Ochlerotatus* to generic rank, reclassification of the other subgenera, and notes on certain subgenera and species. *J. Am. Mosquito Control Assoc* 175: 16.-188.

Rodhain F, Perez C, 1985. Précis d'entomologie médicale et vétérinaire- Maloine S.A

-S-

Shibko S., Koivistoinen P., Tratnyneck C., New Hall. & Feidman L., 1966. A method for the sequential quantitative separation and determination of protein, RNA, DNA, lipid and glycogen from a single rat liver homogenate or from subcellular fraction. *Analyt. Biochem.*, **19**:415-528.

Salah , S. M. , and A. K. Jäger . 2005. " Two Flavonoids from *Artemisia herba - alba* Assos with In Vitro GABA Benzodiazepine Receptor Activity . "

Senthilkumar, N., Varma, P. & Gurusubramaniam, G. (2009). Larvicidal and adulticidal activities of some medicinal plants against the malaria vector, *Anopheles stephensi* (Liston). *Journal of Parasitology Research*. 104: 237 – 244.

-U-

Urquhart G.M., Armour J., Duncan J.L., Dunn A.M. And Jennings F.W. (1996) - *Veterinary parasitology. 2nd edition.* Oxford: *Blackwell science.* p 307

-V-

Villeneuve F., Desire CH. (1965) - *Zoologie.* Bordas. 1ere édition. Pages 323.

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

-Y-

Yazdani, E., Jalal Jalali, S. & Hajizadeh, J. (2014). Effect of *Thymus vulgaris* L.

and *Origanum vulgare* L. essential oils on toxicity, food consumption, and biochemical properties of lesser mulberry pyralid *Glyphodes pyloalis* Walker (*Lepidoptera: Pyralidae*). *Journal of Plant Protection Research*. 54 (1):53–6.