



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 de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences Biologiques

Option : Toxicologie

Thème :

**Etude comparative de l'activité biologique de
deux extraits de *Thymelaea hirusa* L chez une
espèce de moustique *Culiseta longiareolata***

Présenté par :

LAGGOUN ManelBOUZNEB Maroua

Devant le jury:

Dr. Boussekine Samira	MCA	Université de Tébessa	Rapporteuse
Dr Gassmi salim	MCB	Université de Tébessa	Président
Me Benlakhel ammar	MCB	Université de Tébessa	Examineur

Année universitaire : 2020-2021



Remerciements

Avant tout, je remercie le bon Dieu qui m'a éclairé le chemin et m'a donné la patience et le courage pour réaliser ce travail.

Mes profonds remerciements vont à mon encadrant Dr. Boussekine Samira . Qui a accepté d'encadrer mes travaux pour ses encouragements, ses conseil et sa Disponibilité. Nous avons été satisfaites de votre qualité exceptionnelle de bonne Enseignante,

Nous tenons à remercier à la présidente de jury de notre mémoire .

Toute ma considération à l'égard de Dr. Qui m'a fait l'honneur de juger le présent travail.

Je remercie ma famille et surtout mes parents pour leur soutien moral, leurs encouragement set leur patience durant les étapes difficiles de ce travail.

Merci à toutes les personnes qui ont accepté de m'aider

Dédicace :

Que le bon dieu me donne la puissance de vous rendre au moins une partie de ce que vous m'aviez donné.

A Mon Cher Père

A Ma Chère Mère

A Mon Frère et ma sœur

A TOUTES MES CHERES AMIES

A Toutes Ma Famille

*À mon cher **Chiheb**, il était un prince, aujourd'hui pais a son âme.*

A Tous Ceux Que J'aime

Tous mes collègues de promotion

LMD : toxicologie 2020-2021

Manel

Dédicace :

En tout premier lieu, je remercie le bon Dieu, tout puissant, de m'avoir donné la force pour survivre, ainsi que l'audace pour dépasser toutes les difficultés afin de réaliser ce modeste travail.

Je dédie ce modeste travail :

A mes parents pour leur affections et pour le soutien dont ils m'ont toujours fait preuve tout au long de mes études.

A mes frères et mes sœurs

A mes proches amies

À tous ceux qui ont contribué à ma réussite dédie cet humble travail

Tous mes collègues de promotion.

Maroua

ملخص

الهدف من عملنا هو الدراسة المقارنة للأنشطة البيولوجية للمستخلص المائي والإيثانولي منالمثنان على نوع من البعوض *Culisetalongiareolata*.

تم إجراء اختبار السمية تحت ظروف معملية على يرقات المرحلة L4 الخارجة حديثًا لمدة 24 ساعة. كشف التحليل عن قيم للتركيزات المميثة DL50 في المستخلص الإيثانولي (0.8 ملغم / لتر) ؛ في المستخلص المنقوع (0.3 مجم / لتر)

أظهر الفحص الكيميائي النباتي وجرعة مكونات المستخلصين ثراء ثيميلايا هيرسوتا المنقوع في العديد من المستقبلات الثانوية مثل: الفلافونويد ، التانينات ، الستيرولات وثلاثي تربين ، مركبات مختزلة ، كومارين ، ن ، الصمغ ، تربينويد مع عدم وجود قلويدات وسابنوزويد .من ناحية أخرى ، فإن المستخلص الإيثانولي غني جدًا بالتيربينويدات.

أظهرت نتائجنا أيضًا أن النبات المنقوع له نشاط مضاد للأكسدة ممتاز مقارنة بالمستخلص الإيثانولي.

كشفت دراسة تأثير المستخلصين (الإيثانولي والمازري) على نوع البعوض *Culisetalongiareolata* عن التأثير الضار للمستخلص الإيثانولي على هذا النوع مما يؤدي إلى تعطيل المستقبلات الثانوية (البروتينات والدهون والكربوهيدرات). مع تعديل تركيزات وأنشطة مؤشرات الجلوتاثيون الحيوية المخفضة والنشاط الأنزيمي للجلوتاثيون بيروكسيديز. بينما لم تظهر النبتة المملوءة بالنبات تأثيرا ضارا على البعوض.

Résumé

Le but de notre travail est l'étude comparative des activités biologique d'extrait éthanolique et aqueux de *Thymelaeahirusta* L sur une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*.

Le test de toxicité a été réalisé en conditions de laboratoire sur les larves de stade L4 nouvellement exuvies pendant 24h. L'analyse a révélé les valeurs des concentrations létales DL50 chez l'extrait éthanolique (0.8 mg/l) ; chez l'extrait infusée (0.3 mg/l).

Le screening phytochimique et le dosage des constituants des deux extraits ont montré une richesse de l'infusé de *thymelaeahirsuta* en plusieurs métabolites secondaires tel que : flavonoïdes, Tanins, Stéroïdes et tri terpènes, composés réducteurs, les coumarines, Mucilages, terpenoïdes avec l'absence des alcaloïdes et les Saponosides. par contre l'extrait éthanolique est très riche en terpenoïdes.

Nos résultats ont montré aussi que l'infusé de la plante a une activité anti oxydante excellente par rapport à l'extrait éthanolique.

L'étude de l'effet des deux extraits (éthanolique et l'infusé), sur l'espèce de moustique *Culiseta longiareolata* dévoilé l'effet néfaste de l'extrait éthanolique sur cette espèce qui se traduit par une perturbation des métabolites secondaires (protides, lipides et glucides), avec une modification des concentrations et activités des biomarqueurs de Glutathion réduit et l'activité enzymatique de glutathion peroxydase. Alors que l'infusé de la plante n'a pas montré un effet néfaste sur les moustiques.

Abstract

The object of our work is the comparative study of the biological activities of ethanolic and aqueous extract of *Thymelaea hirsuta* L in a species of mosquito *Culiseta longiareolata*.

The toxicity test was carried out under laboratory conditions on newly exuviated stage L4 larvae for 24 hours. Analysis revealed values for lethal concentrations DL50 in ethanolic extract (0.8 mg / l); in the infused extract (0.3 mg / l).

The phytochemical screening and the dosage of the constituents of the two extracts showed a richness of *thymelaea hirsuta* infused in several secondary metabolites such as: flavonoids, Tannins, Sterols and tri terpenes, reducing compounds, coumarins, n, Mucilages, terpenoids with absence of alkaloids and Saponosides. on the other hand, the ethanolic extract is very rich in terpenoids.

Our results also showed that the infused plant has excellent antioxidant activity compared to the ethanolic extract.

The study of the effect of the two extracts (ethanolic and the infused) on the mosquito species *Culiseta longiareolata* has revealed the harmful effect of the ethanolic extract on this species which results in a disruption of secondary metabolites (proteins, lipids and carbohydrates), with a modification of the concentrations and activities of reduced glutathione biomarkers and the enzymatic activity of glutathione peroxidase. While the infused with the plant did not show a detrimental effect on mosquitoes.

Liste Des abréviations

°C	Degrés Celsius
α	Alfa
β	Beta
CL25	Concentration létale 25
CL50	Concentration létale 50
CL90	Concentration létale 90
CM	Carré moyen
Cm	Centimètre
Cs	<i>Culiseta</i>
Ddl	degré de liberté
G	Gramme
H	Heure
HE	Huile Essentielle
L3	Larve de stade 3
L4	Larve de stade 4
MI	Millilitre
Na2SO4	Sulfate de sodium
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
Ppm	Partie par million
<i>P.sativum</i>	<i>Petroselinumsativum</i>
SCE	Somme des Carrés des Ecart
T ⁺	Témoin positive
T ⁻	Témoin négative

Liste des Figures

N°	Titre	Pages
Figure01	Dents du peigne siphonal (flèche)De <i>Culisetalongiareolata</i>	6
Figure02	Taches d'écailles sombres sur l'ail (flèche) de <i>Culisetalongiareolata</i> .	6
Figure03	Trois bandes blanches longitudinales (flèche) de <i>Culisetalongiareola</i>	6
Figure04	Aspect général d'une exuvie larvaire du stade 4 de <i>Culisetalongiareolata</i> sous l'eau (BRUNHES et al, 2000)	7
Figure05	Cycle de développement de <i>Culisetalongiareolata</i> (Poupardin, 2011).	9
Figure06	Carte de repartition géographique des Thymelaeaceae (Heywood, 1996)	11
Figure07	<i>Thymelaeahirsuta</i> A-feuilles cotonneuses. B-fleurs mâles. C-fleurs femelles. (web 01)	13
Figure08	Observation <i>Thymelaea hirsuta</i> (L.) Endl. (Boualem Felfoul 10 mars 2021)	19
Figure09	Carte géographique de la région de Bir al Ater montrant la station de récolte (Google Map).	19
Figure10	Sites d'élevages des moustiques dans la wilaya de Tébessa (Photo personnelle).	20
Figure11	Extraction éthanolique de la plante de <i>Thymelaeahirsuta</i> L (photo personnelle).	21
Figure12	Photographie représentant un appareil Rotavapor (photo personnelle).	22
Figure13	Protocole d'extraction de <i>Thymelaeahirsuta</i> L par le solvant hydroalcoolique. (Markhan, 1982).	23
Figure14	Extrait infusé préparé (photo personnelle)	24
Figure15	Protocole d'extraction aqueux de <i>Thymelaeahirsuta</i> L.	24
Figure16	Larves traitées par l'extrait éthanolique (photo personnelle)	28
Figure17	Larves traitées par l'extrait infusé (photo personnelle)	28
Figure18	Effets de l'extrait éthanolique appliqué sur les larves 4	35
Figure19	Effets de l'extrait infusé appliqués sur les larves 4	36
Figure20	Courbe d'étalonnage de l'acide gallique	37
Figure 21	Courbe d'étalonnage de la quercétine	38
Figure22	Courbe comparative de l'Activité inhibitrice du radical DPPH par les extraits (éthanolique et infusé) de <i>thymelaeahirsuta</i> .	39
Figure23	Effet des extraits (éthanolique et infusé) de <i>thymelaeahirsuta</i> sur les protéines (mg/ml/g du poids sec des moustiques) chez les larves du quatrième	40

	stade de <i>Culisetalongiareolata</i> pendant 24h (m ±Sd ;n□03) (T : différence non significative , éthanologique : différence significative , infusé : ** différence très hautement significative p<0.002).	
Figure24	Effet des extraits (éthanologique et infusé) de <i>thymelaeahiruista</i> sur les glucides (mg/ml/g du poids sec des moustique) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> pendant 24h (m ±Sd ;n□03) (T : différence non significative , infusé : différence significative , éthanologique : *** différence très hautement significative p<0.0001)	41
Figure25	Effet des extraits (éthanologique et infusé) de <i>thymelaeahiruista</i> sur les lipides (mg/ml/g du poids sec des moustique) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> pendant 24h (m ±Sd ;n□03) (T : différence non significative , éthanologique : différence significative , infusé : *** différence très hautement significative p<0.0001).	42
Figure26	Effet des extraits (éthanologique et infusé) de <i>thymelaeahiruista</i> sur le taux de GSH (nmol/ml/mg de protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> pendant 24h (m ±Sd ;n□05) (T : différence non significative , éthanologique : différence significative , infusé : *** différence très hautement significative p<0.0001).	43
Figure27	Effet des extraits (éthanologique et infusé) de <i>thymelaeahiruista</i> sur le taux de GPx (μmol/ml/mg de protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>Culisetalongiareolata</i> pendant 24h (m ±Sd ;n□05) (T : différence non significative , éthanologique : différence significative , infusé : * différence significative p<0.0144).	44

Liste des Tableaux

N°	Titre	Page
Tableau01	Position systématique de <i>Culiseta longiareolata</i>	8
Tableau02	Composés phytochimique de l'extrait éthanolique de <i>Thymelaeahirsuta</i> L de la région de Tébessa	34
Tableau04	Tenure des polyphénols et flavonoïdes	38
Tableau05	Valeurs des IC50 des extraits éthanolique et infusé de <i>Thymelaeahirsuta</i> L DPPH	39
Tableau 06	Valeurs des IC50 des extraits éthanolique et infusé de <i>Thymelaeade</i> composition chimiques	43
Tableau 07	Effet des extrait sur les taux de GSH et GPx	44

Table des matières

REmerciement	
Dédicase	
Résumé	
Abstract	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	
Recherche Bibliographique	
Chapitre 01/ Présentation d'une espèce de moustique <i>culesitalangiareolata</i>	
1. Présentation de la famille <i>culesita</i>	5
2. Définition et morphologie de <i>Cs langiareolata</i>	6
3. Position systématique de <i>Cs langiareolata</i>	8
4. Cycle de développement de moustique	8
Chapitre 02 : présentation d'une plante médicinale algérienne <i>thymelaeahirusita</i>	
1. Présentation de <i>thymelaeahirusita</i>	11
1.1 Généralité	11
1.2 Description botanique	12
1.3. Biologie et écologie	14
1.4 classification	14 ,15
1.5. Composition chimique et utilisation	15 ,16
Partie expérimentale	
1. Matériel	19
1.1 matériel végétal	19
1.2.matériel biologique	éà

2. Méthode	21
2.1 étude phytochimique	21
2.2 teste préliminaire de la composition chimique	25
2.3 Teste toxicité	27
2.4 Dosage de biomarqueurs	28
2.5 analyse statistique	31
3. Résultats	34
3.1 rendement	34
3.2 Screening phytochimique	34
3.3 toxicité extrait éthanolique sur <i>Cs longiarealata</i>	35
3.4 toxicité extrait infusé sur <i>Cs longiarealata</i>	35
3.5 résultat dosage polyphénol	37
3.6 dosage flavonoïde	37
3.7 activité anti radicalaire du radical DPPH	39
3.8 effets extrait sur la composition biochimique	40
3.8.1. effets des extrait éthanolique et infusé sur protéine	40
3.8.2. Effet des extrait éthanolique et infusé sur glucides	41
3.8.3 Effets des extrait éthanolique et infusé sur contenu lipides	42
3.12. effets extraits éthanolique et infusé sur GSH	43
3.12. Effets extraits éthanolique et infusé sur glutathion peroxydase GPx	44
4. Discussion	45
4.1. Rendement	45
4.2 test toxicité	45
4.3. Screeningphytochimique	46
4.4. l'activité antioxydant	47
4.5. l'effets dès l'extrait sur la composition chimique	48
4.6. l'effet des extrait sur glutathion GSH	49

4.7 . L'effet des extrait sur glutathion peroxydase GPx	49
Conclusion	
Référence bibliographique	

Introduction

Les plantes ont été utilisées par l'homme, depuis la période préhistorique, comme une source principale de nourriture. Ensuite, leur intérêt s'est développé pour être employées comme médicaments et remèdes à fin de soigner les différentes maladies **(Damintoti, 2005)**. Selon certaines estimations, environ 60 à 75% de la population mondiale et 80% de la population africaine ont recourt à la médecine traditionnelle. Cette pratique répond à leurs besoins pour lesquelles la majeure partie des thérapies implique l'exploitation de principes actifs de ces plantes **(Biyiti et al., 2004 ; Newmann et Cragg, 2007 ; Oyedemi et Afolayan, 2011)**. Ces dernières produisent une large gamme de composés phytochimiques. Selon les statistiques récentes, les deux tiers des médicaments actuels commercialisés sont d'origine naturelle **(Morel, 2011)**.

Aujourd'hui, les agents antioxydants de source naturelle ont suscité un intérêt particulier, car ils peuvent protéger le corps humain contre les maladies causées par les radicaux libres sans effets secondaires ; ceci est contraire aux agents antioxydants synthétiques tels que lebutylhydroxytoluène (BHT), le butylhydroxyanisole (BHA) et le butylhydroquinone tertiaire (BHQT) largement commercialisés dans l'industrie alimentaire. Leur application provoquent un potentiel risque en toxicité pour la santé humaine. En outre, ils peuvent provoquer des maladies cancérogène, mutagène **(Laouini, 2014)**. Pour cette raison la recherche de molécules bioactives d'origine naturelle semble être l'un des axes prioritaires ces dernières années.

Ainsi, pour contribuer à une gestion durable de l'environnement, la mise en place de nouvelles alternatives de contrôle des moustiques est davantage encouragée. Les substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie, comme bactéricides, fongicides, acaricides, etc..., peuvent aussi être utilisées comme insecticides de remplacement

Les moustiques sont les vecteurs de certaines maladies telles que la dengue hémorragique, la fièvre jaune et le paludisme. Parmi celles-ci, le paludisme se caractérise par son aspect fatal pour la population humaine avec un taux de mortalité élevé **(OMS, 1995)**.

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. Appartenant à l'embranchement des Arthropodes, les insectes jouent des rôles épidémiologiques variés, ce qui fait d'eux un problème majeur de santé publique. **(Berge, 1975; Jolivet, 1980)**.

La famille de Cluicidae est une famille bien homogène, comprenant 2800 à 3000 espèces, répartie dans le monde. En raison de leur rôle important dans la transmission d'agents pathogènes à l'homme comme aux animaux, les moustiques ont donné lieu à une somme considérable de travaux depuis la fin du siècle dernier (**Knight, 1978**). Les Cluicidae présentent des caractères morphologiques nets.

Thymelaeahirsuta est une espèce méditerranéenne assez commune dans toute l'Algérie et tout spécialement sur le littoral (**Quzel P., (1963)**). C'est un arbrisseau de la famille des *Thyméléacées*, appelée aussi Passerine hirsuta ou mundulacciu en Corse.

Le choix des *Thymelaeaceae* comme sujet du présent travail a été guidé par les nombreuses utilisations traditionnelles, mais aussi basé d'une part, sur l'abondance de plantes médicinales en Algérie et d'autre part cette plante demeure inconnue.

Dans ce contexte, notre travail s'intéresse à l'étude comparative de l'activité biologique de deux extraits de *Thymelaeahirusta* L chez une espèce de moustique *Culisetalongiareolata*.

Notre travail sera présenté comme suit :

La première partie est consacrée à une bibliographie sur *Culisetalongiareolata* et *Thymelaeahirsuta*.

La deuxième partie concerne la partie expérimentale, qui comporte :

- Un screening phytochimique des deux extraits de la plante
- Etude de la cytotoxicité des deux extraits sur l'espèce de moustique avec détermination de la DL50 et dosage des métabolites secondaires des biomarqueurs.
- Discussion des résultats obtenus.
- Finalement une conclusion générale du travail.

Partie I

Recherche bibliographique

Chapitre 01 :
Présentation d'une espèce
de moustique *culiseta*
longiareolata

1. Présentation de la famille de *Culicidae*

La famille des *Culicidae* se divise en trois sous-familles, les *Toxorhynchitinae*, les *Anophelinae* et les *Culicinae*. Environ 3000 espèces des *Culicidae* sont connues dans le monde. En Algérie seules les deux sous-familles *Culicinae* et *Anophelinae* sont représentées (Tahraoui, 2012)

Les moustiques ou les *Culicidae* est une famille cosmopolite de Diptères Nématocères dont les larves aquatiques, inféodées aux eaux stagnantes, se nourrissent d'algues unicellulaires du phytoplancton et les femelles adultes ectoparasites et hématophages sucent le sang de mammifères et/ou d'oiseaux. Les mâles sont eux floricoles (Ramade et al; 2008).

Les *Culicidae* sont des Diptères Nématocères qui transmettent diverses affections animales et humaines, notamment le Paludisme. (Messai, N. et al, 2010)

Famille : *Culicidae*

Sous famille : *Culicinae*

Genre : *Culex* Linné (1758)

Espèces : *Culex (Culex) pipiens* Linné (1758)

Culex (Culex) theileri Theobald (1903)

Culex (Culex) laticinctus Edwards (1912)

Culex (Neoculex) hortensis Ficalbi (1889)

Culex (Culex) perexiguus Theobald (1901)

Genre : *Culiseta*

Espèces : *Culiseta (Allotheobaldia) longiareolata* Macquart (1838)

Culiseta (Theobaldia) annulata Schrank (1776)

Culiseta (Theobaldia) subochrea Edwards (1921)

Genre : *Ochlerotatus*

Espèces : *Ochlerotatus caspius* Pallas (1771)

Liste des *Culicidae* de la région de Tébessa (Bouabida, 2012)

2. Définition et morphologie de *Cs. Longiareolata*

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 (Desire, 1965).

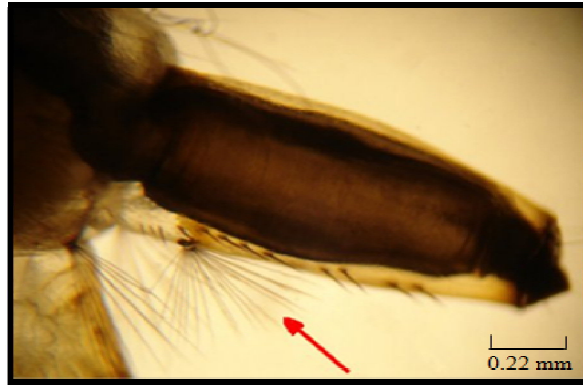


Figure 01 : Dents du peignesiphonal (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Bouabida, 2014).

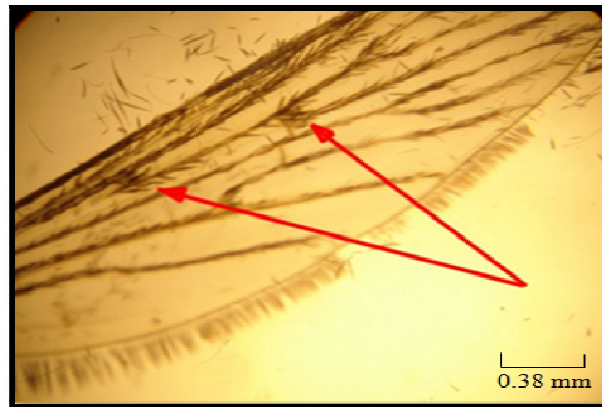


Figure 02 : Taches d'écailles sombres sur l'ail (flèche) de *Culiseta longiareolata*. (Bouabida, 2014).

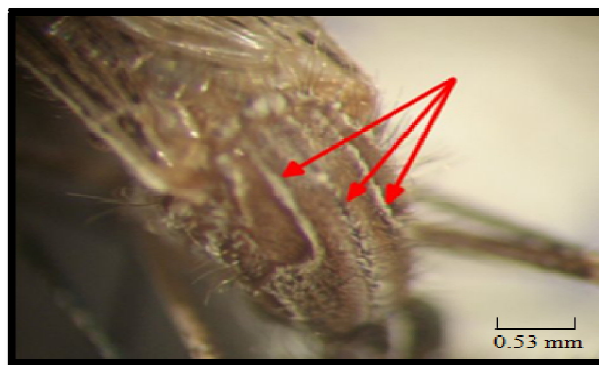


Figure 03 : Trois bandes blanches longitudinales (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Bouabida, 2014)

Chapitre 01

Culisetalongiareolata est multivoltine, peut présenter une diapause hivernale chez les imagos femelles (régions froides), et chez les larves (régions tempérées). Les adultes sont présents toute l'année avec un max de densité au printemps et un autre en automne (Brunhes, et al., 1999). Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs (Boulkenafet, 2006).

Les femelles sont sténogrammes et autogènes. Elles piquent de préférence les vertébrés surtout les oiseaux, très rarement l'humain, l'espèce est considérée comme un vecteur de plasmodium d'oiseau. La larve est caractérisée par un peigne siphonal dont ses dents sont implantées irrégulièrement. Chez l'adulte, on remarque la présence au moins d'une tache d'écailles sombres sur l'aile, 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).

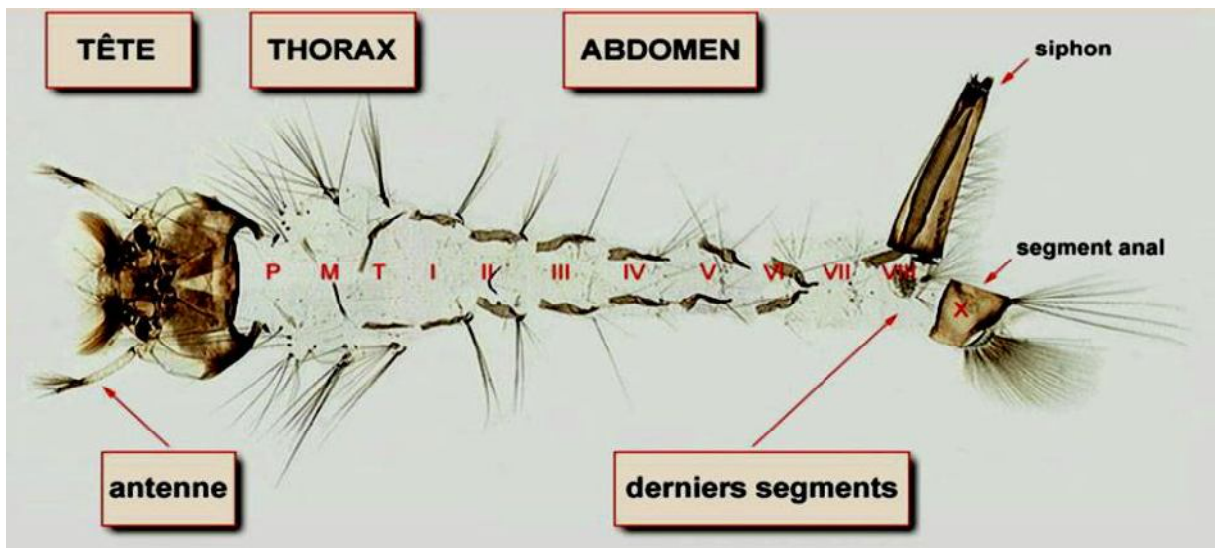


Figure 4: Aspect général d'une exuvie larvaire du stade 4 de *Culisetalongiareolata* sous l'eau (BRUNHES et al, 2000)

3. Positions systématique de *Culisetalongiareolata*

La position systématique de *Culisetalongiareolata* comme suit (Aitken, 1954).

Chapitre 01

Tableau01 : position systématique de *Culiseta longiareolata*

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

4. Cycle de développement des moustiques

Le cycle vital des moustiques présente de nombreuses variations selon les espèces. Tous sont des insectes à métamorphose complète, ou holométaboles. Les stades de l'œuf, de la larve et de la nymphe sont aquatiques, alors que l'adulte est aérien (Boyer, 2006).

Chapitre 01

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 frétilants 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. 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 différencie (Boulkenafet, 2006).

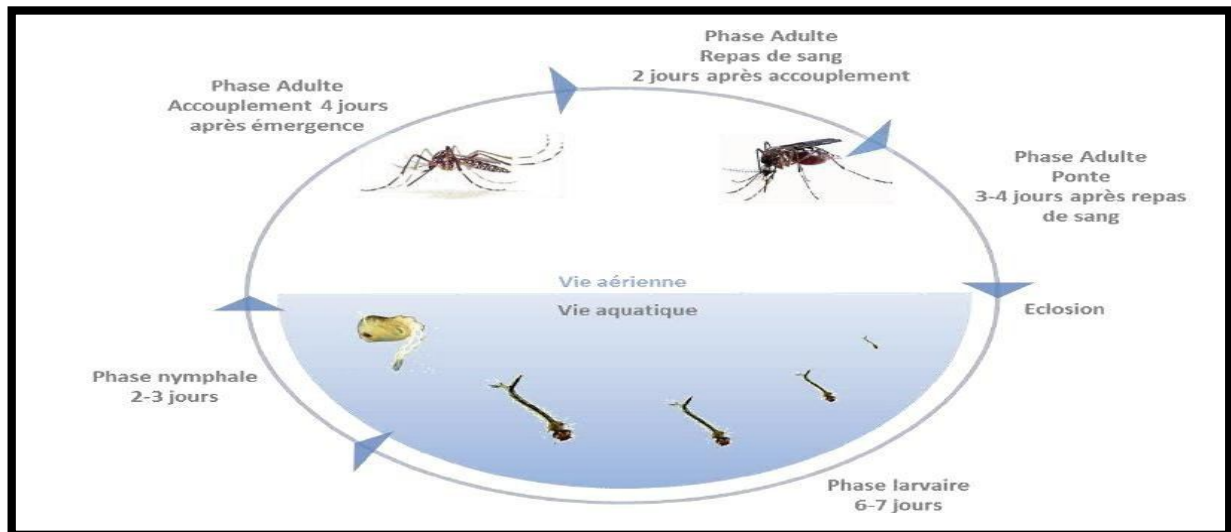


Figure 05: cycle de développement de *Culiseta longiareolata* (Poupardin, 2011)

***Chapitre 02 : Présentation
d'une plante médicinale
Algérienne (
Thymelaeahirsuta)***

1. Présentation de *Thymelaeahirsuta* L

1.1 Généralité

Les *Thymelaeaceae* sont une petite famille de dicotylédones composée de quelque 1200 espèces réparties en 67 genres, bien que certains auteurs'en répertorient qu'une cinquantaine (Ferrari, 2002). Elle constitue l'une des principales familles parmi les neuf formant l'ordre des Malvales (Judd *et al.*, 2002).

En étymologie, les *thymélées* doivent leur nom générique à une espèce dont les feuilles ressemblent à celles du thym et le fruit à une petite « olive », du grec « *elaia* » (Beniston, 1984).

Les *Thymelaeaceae* sont représentées par une dizaine d'espèces appartenant aux genres *Thymelaea* et *Daphne* (Bruneton, 1999). Les membres de cette famille sont répandus dans les zones tropicales et tempérées de la planète, particulièrement en Afrique, mais sont absents dans les régions aux climats les plus froids (Borrisset *et al.*, 1988 ; Herbada, 2006 ; Vernon *et al.*, 2007) (Fig.6).

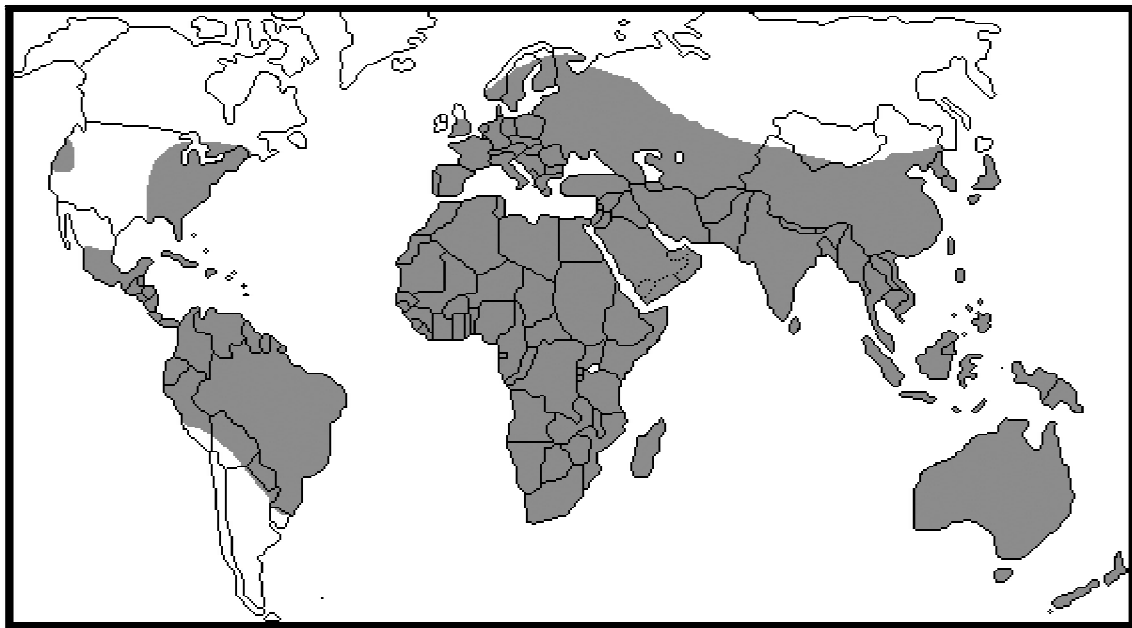


Figure 06: Carte de répartition géographique des *Thymelaeaceae* (Heywood, 1996).

1.2 Description botanique

Selon (**Batanoumy(2005)**), *Thymelaeahirsuta* est une plante vivace ne mesurant pas plus d'un mètre de hauteur (Fig. 7A). Sa souche est ligneuse, forte et porte de nombreux rameaux tombants (**Pausas et al., 2006**) garnis de nombreuses petites feuilles de environ, ovales presque imbriquées, épaisses, luisantes au dessus et cotonneuses en dessous (**Jeanmonod et Gamisans, 2007**).

Dans les conditions climatiques favorables, la floraison débute à partir du mois d'octobre et s'étale jusqu'en avril (**Jeanmonod et Gamisans, 2007**). La plante porte sur des pieds différents, soit des fleurs unisexuées, soit des fleurs hermaphrodites (**Jeanmonod et Gamisans, 2007**; **Shaltout et El keblawy, 1992**; **Dommeé et al., 1995, 1990**; **Renner, 2001**).

Selon (**Dommeé et al. (1984)**), les pieds bisexués sont d'abord mâles, deviennent femelles ultérieurement. L'abondance de cette catégorie pourrait indiquer l'importance de la monoécie d'une espèce considérée jusqu'à présent comme essentiellement dioïque. Les fleurs de cette plante sont groupées entre 2 et 5 périanthes jaunâtres à l'intérieure, blanches, soyeuses et pubescentes à l'extérieur (**Beniston, 1984**; **Somon, 1987**).

Les petites fleurs de 5 mm polygames et sans bractées se trouvent sur les rameaux ou sur les ramifications naissantes, subsessiles et insérées les unes à côté des autres par l'intermédiaire d'un court pédicelle sur l'extrémité renflée de l'axe de l'inflorescence; le pédicelle avec ses longs poils recouvre la base de la fleur. Le calice pétaloïde, poilu à l'extérieur, glabre à l'intérieure, se divise à la partie supérieure en quatre sépales étalés et huit étamines soudées (**Cuvier, 1825**). Le style filiforme et latéral (**Villars, 1807**) est terminé par un stigmate légèrement velu (**Cuvier, 1825**).

Deux types de fleurs peuvent être distingués, mâles et femelles. Les fleurs mâles verdâtres ont un calice cylindrique (Fig. 2 B), alors que celles femelles sont jaunâtres à calice renflé (Fig. 27C).



Figure07: *Thymelaeahirsuta* A-feuillescotonneuses. B-fleurs mâles. C-fleurs femelles.(web 01)

1.3 Biologie et Ecologie

Thymelaeahirsuta est un végétal autotrophe par photosynthèse chlorophyllienne et entomogame dont la dispersion du pollen est assurée par les insectes. C'est une espèce vicariante et chaméphyte frutescente.

Elle vit dans les régions méditerranéennes et saharo-arabique, où se trouve un climat semi-désertique (les terres arides), dans les lieux rocaillieux et sablonneux ou les rochers siliceux maritimes (**Cornara et al., 2005**). Selon (**Shenbrot (2004)**), *Thymelaeahirsuta* est présente dans la partie méridionale des montagnes centrales du Néguev où les précipitations annuelles sont de l'ordre de 180 à 300 mm.

Les éléments nutritifs de *Thymelaeahirsuta* au printemps sont sensiblement plus élevés que ceux présents en été. Ce constat est lié à la différence des éléments nutritifs disponibles dans le sol, la salinité des sols et la quantité de roches exposées. Ces facteurs semblent être les plus importants, influençant à la fois la phytomasse et la teneur minérale de la plante (**Shaltout, 1992**). Il semble que la salinité du sol, sa faible teneur en humidité et ses températures extrêmes favorisent les activités phénologiques de *Thymelaeahirsuta* (**Shaltout, 1987**).

La survie de *Thymelaeahirsuta* est assurée par la reproduction sexuelle qui s'est avérée être le seul moyen de régénérer naturellement les populations, par contre la reproduction végétative est difficile à mettre en œuvre (**Minuto et al., 2004**).

1.4 Classification

1.4.1 Classification botanique

Règne :	Végétale
Sous-règne:	Tracheobionta
Embranchement:	Magnoliophyta
Classe:	Magnoliopsida ou Dicotylédones
Sous-classe:	Rosidae
Ordre:	Malvales
Famille:	Thymelaeaceae
Genre:	<i>Thymelaea</i>
Espèce:	<i>T.hirsuta</i> (L.) Endl., 1847

Chapitre 02

L'étude de la morphologie florale des *Thymelaeaceae* mis en évidence la confusion régnant dans les relations taxonomiques au sein de cette famille (**Heining, 1951**).

Il a été affirmé que les *Thymelaeaceae* peuvent être apparentées aux *Tiliaceae* ou aux *Flacourtiaceae*. Alors que les caractéristiques de morphologie pollinique ont amené à justifier que les *Thymelaeaceae* peuvent être très fortement apparentées aux membres crotonoïdes

des *Euphorbiaceae* et aux *Buxaceae*, mais pas aux familles des *Celastraceae*, *Combretaceae*, *Dichapetalaceae*, *Elaeagnaceae*, *Flacourtiaceae*, *Penaeaceae*, *Proteaceae* et *Tiliaceae* (**Erdtman, 1952**).

1.4.2 Classification phylogénétique

La dernière décennie a vu se développer la cladistique moderne, ou systématique moléculaire, basée sur l'analyse des séquences de gène ou d'ADN (**Van der bank et al., 2002 ; Herbada, 2006**) dont le principe fondamental est que la preuve d'une parenté phylogénétique entre différents taxons n'est fournie que s'ils partagent les mêmes caractères dérivés (synapomorphies).

Ainsi, la délimitation de l'ordre des Malvales par (**Alverson et al. (1998)**), reprise par l'**APG (1998) (Angiosperm Phylogeny Group)**, où s'y trouve les *Thymelaeaceae*, qui étaient jusque-là souvent associées aux *Myrtales*.

La classification des *Thymelaeaceae* dans l'ordre des Malvales «étendu» est d'ailleurs confortée par d'autres caractères, comme par exemple la présence d'acides gras cyclopropaniques (**Vickery, 1980 ; 1981**), de cellules mucilagineuses et d'écorces fibreuses robustes dans cette famille (**Dahlgren et Thorne, 1984**).

Classification phylogénétique des *Thymelaeaceae* (**Anonyme, 2005**):

Classe:	Rosopsida
S/Classe:	Rosidae
Ordre:	Malvales
Famille:	Thymelaeaceae

1.4.3 Composition chimique et utilisation

Les *thymelaeaceae* ont fait l'objet de nombreuses études phytochimiques (**Borris et al., 1988 ; Baba et al., 1987 ; Yanz et al., 1987**). Les esters diterpéniques de type tiglane, daphnane sont la classe de composés les plus caractéristiques des

Chapitre 02

thymelaeaceae. Ces métabolites peuvent se retrouver dans toutes les parties de la plante (racines, tiges, feuilles, fruit et graines) (Ferrari, 2002). Ces sont des purgatifs violents qui déclenchent par contact avec la peau ou les muqueuses une réaction inflammatoire intense (Brooks et al., 1990) et des effets neurotrophiques (He et al., 2002 ; Moosavi et al., 2005) et anticancéreux (Aboukaram et al., 1998).

Selon (Brooks et al., 1990) et (Miyama et al., 2009), des diterpènes daphnanes ont été isolés à partir des feuilles et des rameaux de *Thymelaeahirsuta*. En outre, les coumarines constituent une autre classe de métabolites secondaires des *Thymelaeaceae*, intéressante du point de vue taxonomique. Dans cette famille ils se trouvent sous forme de coumarines simples, di- et trimères de coumarines avec liaison C-Couéther ou à structure dibenzofurannique, ou de coumarinolignanes (Ferrari, 2002).

L'étude de *Thymelaeahirsuta* Endl., par (Rizk et al., 1975) a permis de mettre en évidence des coumarines stérées de chez les végétaux supérieurs: l'esculétine, la scopolétine et l'ombelliférone.

Leur présence dans la famille des *Thymelaeaceae* en fait donc un marqueur chimio-taxonomique de valeur (Ferrari, 2002). (Tandon et Rastogi (1977) ont été les premiers à isoler un tri-coumarine chez les *Thymelaeaceae*, la wikstrosin tirée de *Wikstroemia viridiflora* Meissn., dont la structure n'a jamais été entièrement élucidée. Tandis que (Rizk et al., 1984) signalent la présence de deux dérivés aromatiques isolés à partir des feuilles et des brindilles de *Thymelaeahirsuta*.

La caractéristique frappante des *Thymelaeaceae* réside dans la diversité de leur métabolisme flavonoïdique, produit naturel antioxydant et anti-tumoraux (Trigui et al., 2013 ; Akrou et al., 2011), ceci peut expliquer le fait qu'elle possède différentes propriétés pharmacologiques, surtout pour leurs parties aériennes (Dohou et al., 2003).

Les stérols sont courants chez les *Thymelaeaceae*, principalement représentés par le β -sitostérol, qui est ubiquitaire dans le règne végétal (Borris et al., 1988).

(Levin (1976) a observé la présence des alcaloïdes chez 36% des espèces de *thymelaeacées*, alors que (Touati (1985) a signalé que *Thymelaeahirsuta* n'en contient pas. Quant aux tannins, ils semblent être peu courants dans la famille des *thymelaeaceae*. Lorsqu'ils apparaissent, il s'agit généralement de dérivés du leucocyanidol (Hegnauer, 1973). Alors que les feuilles de *Thymelaeahirsuta* contiennent des tannins de type gallique (El Beiheiry, 2000). Ferrari (2002) affirme que les *thymelaeaceae* ne sont pas une famille à saponines.

Partie II

Expérimentale

Matériel et Méthodes

1. Matériel

1.1 Matériel végétal

1.1.1 Récolte de la plante d'étude

Les parties aériennes de *Thymelaeahirsuta* (Figure1), ont été récoltées en moins de mars (**Gattoute et moussaoui, 2016**), dans la zone de Bir al Ater (Tébessa) (Figure08).



Figure 08 : Observation *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. (**Boualem Felfoul 10 mars 2021**)



Figure09 : Carte géographique de la région de bir al Ater montrant la station de récolte (**Google Map**).

Les parties aériennes ont été nettoyées, lavées avec l'eau du robinet et séchées à l'ombre. Elles ont été ensuite pesées, broyées et récupérées dans des sacs en papier propres. Ainsi, le matériel végétal est fourni « prêt à l'emploi » par Gattoute Saliha (**Gattoute et Moussaoui, 2016**).

Matériel et Méthodes

1.1.2 Identification de la plante

L'espèce végétale faisant l'objet de notre étude a été identifiée selon (Quezel et Santa, 1963) par Madame Hioun S, Département des êtres vivants, Faculté des Science Exactes et Sciences de la Nature et de la vie, Université Larbi Tebessi, Tébessa.

1.2 Matériels biologique

1.1.1 Récoltes des larves de *Culisetalongiareolata*

Les larves de *culisetalongiareolata* ont été collectées à partir de plusieurs sites de la wilaya de Tébessa : Tébessa, Hammamet, Birmokadem (Figure 10)



Figure 10 : Les sites d'élevages des moustiques dans la wilaya de Tébessa (Photo personnelle).

Matériel et Méthodes

La collecte est faite dans des récipients puis le contenu de chaque récipient est déplacé dans des cristallisoirs. A l'aide d'une pipette-gouttes, les larves sont triées, selon leurs stades De développkement, dans des gobelets contenant l'eau déchlorurée. La nourriture des larves est Composée d'une mixture composée de biscuits (75%) et de levure sèche (25%) réduits finement farine et tamisés. Les larves sont triées selon leurs stades de développement.

2. Méthodes

2.1 Etude phytochimique

2.1.1 Préparation de l'extrait éthanolique de *Thymelaeahirsuta L*

L'extraction a été effectuée par macération successive du matériel végétal en utilisant le solvant hydroalcoolique (HA) (Ethanol+H₂O). Le protocole d'extraction adopté a été élaboré par Markhan (1982).

La macération consiste à laisser séjourner la plante dans un solvant approprié, pendant un Temps déterminé à température ambiante; après décantation le résidu s'appelle le marc et le produit s'appelle macéré.

Les macéras sont récupérés puis filtrés à l'aide d'un entonnoir muni du coton stérile (**Figure 11**). Les filtrats sont évaporés par rotavapor pour séparer totalement le solvant de L'extrait (**Figure 12**). Puis le séchage de l'extrait est terminé au niveau de l'étuve Cette série d'extraction a permis d'obtenir un extrait brut hydroalcoolique. L'extrait sec sans solvant a été pesé puis stocké dans un flacon stérile en verre jusqu'à son Utilisation.



Figure 11 : Extraction éthanolique de la plante de *Thymelaeahirsuta L* (photo personnelle).

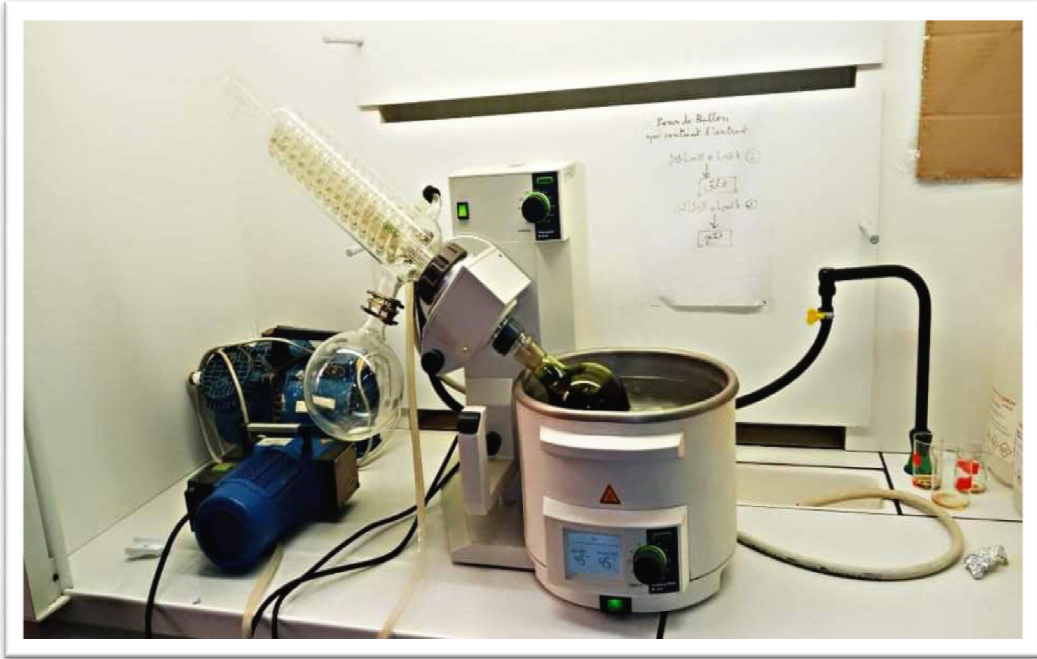
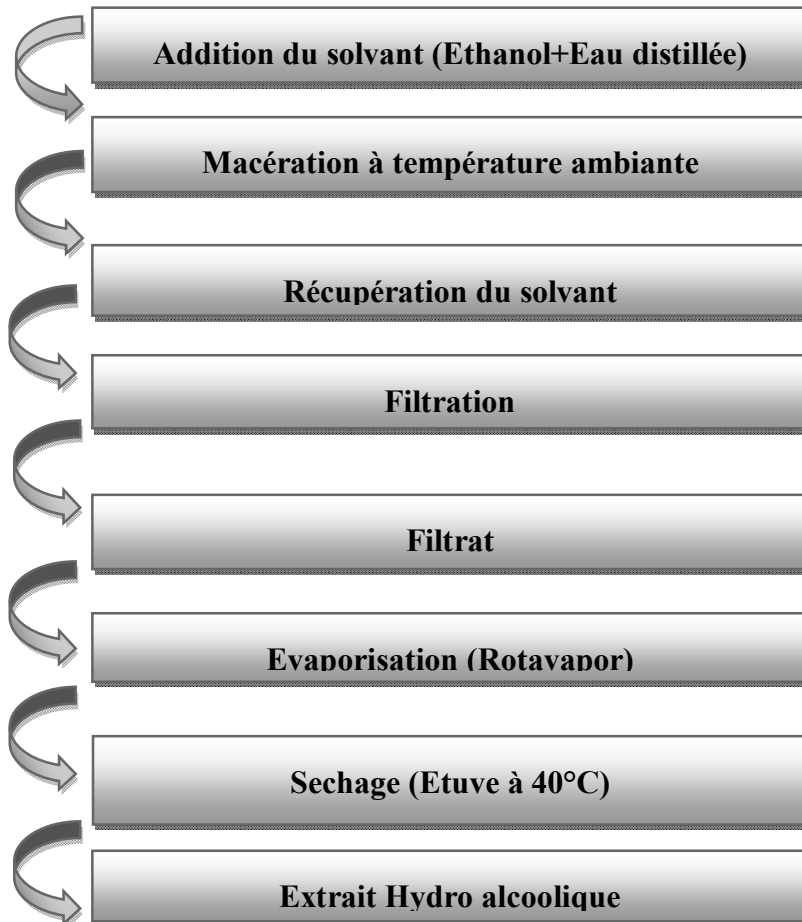


Figure 12: Evaporation du filtrat (photo personnelle).



Matériel et Méthodes

Figure 13 : Protocole d'extraction de *Thymelaeahirsuta* L par le solvant hydroalcoolique. (Markhan, 1982).

Calcul du rendement de la plante

Le rendement de l'extraction (R) a été déterminé par la formule suivante :

$$R\% = (\text{poids de l'extrait} / \text{poids de la poudre végétale sèche}) \times 100$$

2.1.2 Préparation d'extrait infusé

Après la récolte de la plante Les feuilles ont été séchées à l'air libre et à l'ombre pendant (7-15) jours. Une quantité de 05 g de la plante choisie a été diluée dans 100 ml d'eau distillée préalablement portée à ébullition, puis laissée refroidir sous agitation magnétique pendant 30 minutes. Le mélange obtenu a été filtré à l'aide du papier Whatman (125 MM). Le filtrat récupéré représente une solution stock initiale à 10 g par 100 ml soit 10 %. Après la filtration les extraits ont été conservés au réfrigérateur à 4 °c.

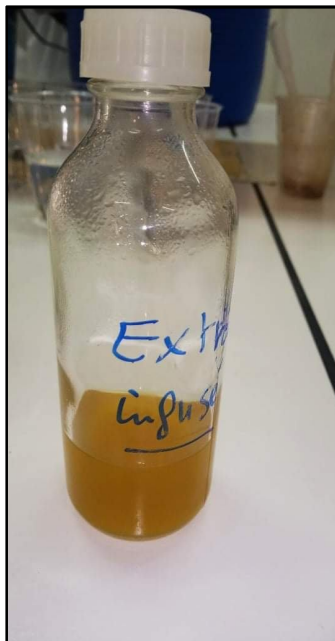
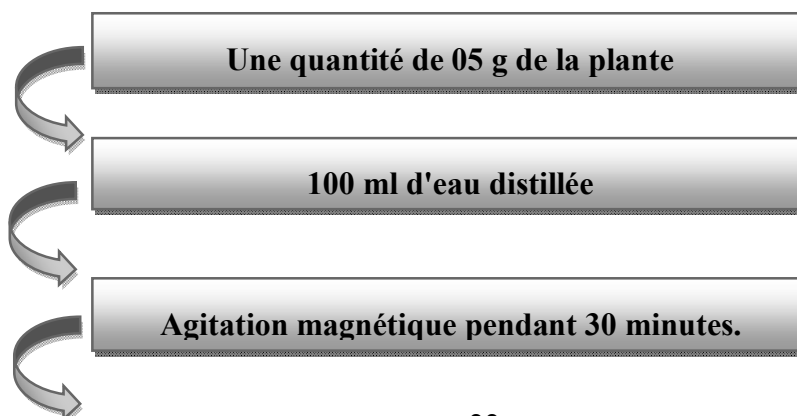


Figure 14 : extrait infusé préparé (photo personnelle)



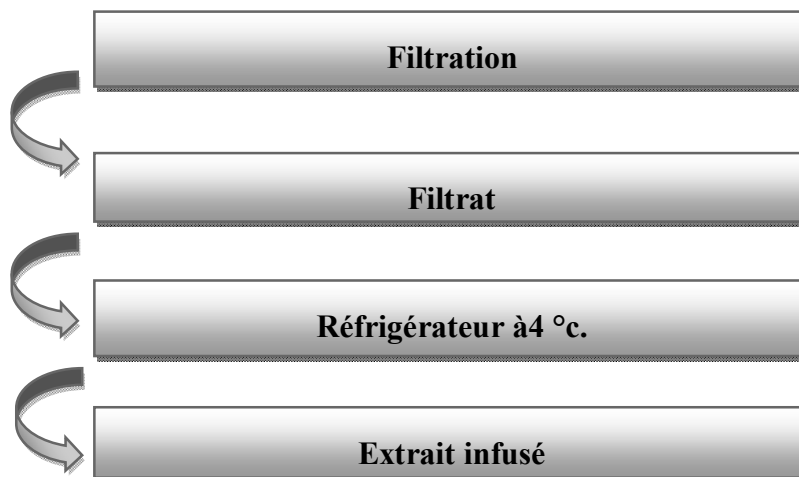


Figure 15 : Protocole de l'infusion de *Thymelaeahirsuta L.*

2.2 Tests préliminaires de la composition chimique

Les tests phytochimiques sont réalisés sur une solution de l'extrait éthanolique dissout dans le diméthylsulfoxyde selon les méthodes décrétées par **Treaset Evans (1983)**

2.2.1 Recherche des Alcaloïdes

Evaporer 4ml de l'extrait méthanolique de chaque plante à sec, ajouter 1ml d HCL'2N, et chauffer dans un bain marie, Filtrer le mélange. Introduire 1ml de du filtrat dans un tube, ajouter 5gttes de réactif de Mayer. La présence d'alcaloïdes est indiquée par la formation de précipité blanc jaunâtre.

2.2.2 Recherche des Tanins

2ml de la solution à tester + 2ml d'eau distille avec agitation, ajouter 2à3gttes de solution FeCl3 à 2%. La présence de tanins est indiquée par la coloration bleue noire ou verdâtre.

2.2.3 Recherche des saponosides

1m de la solution à tester avec 10 ml d'eau distille, agiter pendant 02mn. La formation d'une mousse persistante pendant 15mn traduit la présence des saponosides.

2.2.4 Recherche des stérols et tri terpènes

1ml de l'extrait à analyse +1ml d'anhydride acétique, +1ml chloroforme et 200 ul d'acide sulfurique (H2SO4) concentré sur la paroi de bécher sans agitation. Laisser reposer 20mn. Formation d'un anneau rouge brunâtre à la zone de contacte des deux liquides avec coloration violette de la couche surnageant révèlent la présence des stérols et tri terpène.

Matériel et Méthodes

2.2.5 Recherche des composés réducteurs

Dans un tube à essai mettre 1ml de la liqueur de Fehling (0,5A+0,5SB), ajouter 1 ml de l'extrait à analyser, incuber pendant 08mn dans un bain marie (**référence**).

L'apparition d'un précipité rouge brique indique la présence des composés réducteurs.

2.2.6 Recherche les coumarines

1ml de l'extrait +0,5ml de NH₄OH à 25%, mélanger et observer sous UV à 366 nm.une fluorescence intense indique la présence des coumarines.

2.2.7 Recherche des Mucilages

200 ul d'extrait + 1ml éthanol absolu .après une dizaine de minutes. La présence de mucilages est indiquée par l'apparition de précipité floconneux par mélange.

2.2.8 Recherche des Terpenoides

1ml de l'extrait +1ml de chloroforme et 1ml d'acide sulfurique concentre.La formation d'un anneau marron-rouge à l'interphase indique la présence des Terpenoides.

2.2.9 Analyse des extraits de la plante

2.2.9.1 Dosage des polyphénols

1ml de réactif folin (dilué10x) ,ajouter 200ul d'échantillon ou de standard (préparé dans le méthanol)avec des dilution convenables.après 4mn ajouter 800ul d'une solution de carbonate de sodium (0,75%).incubation 2heures .lecture de la DO à 765nm(**George et al, 2005**)..

La concentration des polyphenols totaux est calculée à partir d'une courbe d'étalonnage de l'acide gallique (0-200 ug/ml), et est exprimée en mg d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait.

2.2.9.2 Dosage des flavonoïdes

Dissoudre 1mg d'extrait dans 1ml de méthanol. 1ml de chaque échantillon est ajouté à 1ml de la solution d'AlCl₃ (à 2% dans le méthanol).après 10mn lire la DO à 430 nm(**Bahorun et al., 1996**).Une gamme d'étalonnage avec la quercétine (0-40ug/ml).

Matériel et Méthodes

2.2.9.3 Evaluation de l'activité anti oxydante : piégeage du radical libre DPPH

25µl des solutions d'extrait ou standard (acide ascorbique) +975ul de DPPH le mélange est laissé à l'obscurité pendant 30min et la décoloration par rapport au contrôle négatif contenant la solution de DPPH et du méthanol est mesurée à 517 nm (**Sanchez-morino, 2002**).

2.3 Tests de toxicité

La méthodologie de nos tests est inspirée de la technique des tests de sensibilité normalisés par l'Organisation Mondiale de la Santé, adoptée pour tester la sensibilité des larves, vis-à-vis des insecticides utilisés en campagnes de lutte (**OMS, 1963**).

Les concentrations ainsi préparées pour la plante *Thymelaeahirsuta*, seront utilisées dans les essais toxicologiques à l'égard du quatrième stade larvaire de *Culisetalongiareolata*, et ceci en plaçant 150 ml d'eau déchlorurée dans un gobelet en plastique, auquel sont rajoutés 25 larves. Les expériences ont été menées avec cinq répétitions pour chaque concentration utilisée, et le nombre de larves mortes ont été comptées après 24h d'exposition. Pour prévenir la mortalité causée par la faim, les larves sont nourries après 24 heures d'exposition. Il est nécessaire d'estimer les concentrations létales (CL 25, CL50, et CL75).

2.3.1 Traitement

Nous avons préparé une solution d'extrait de thymelaeahirusta dans le méthanol, des doses correspondant à :

1g d'extrait ethanologique dans 50 ml d'ethanole.



Figure16: Larves traitées par l'extrait éthanolique(photo personnelle)

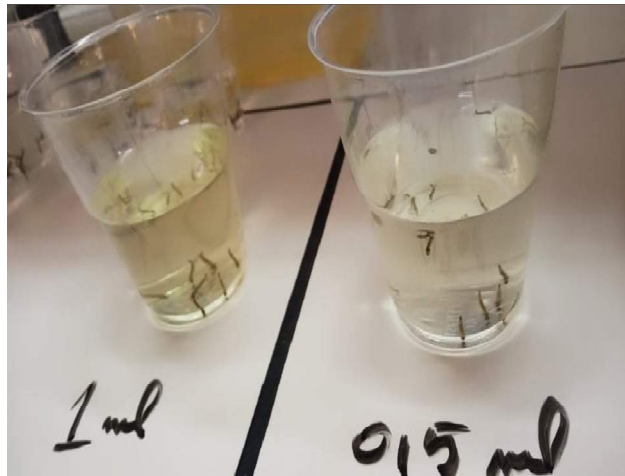


Figure17: Larves traitées par l'extrait infusé(photo personnelle)

2.4 Dosage des biomarqueurs

2.4.1 Préparation d'un homogénat des larves

Après 24 h de traitement 25 larves vivantes de chaque groupe (traités par l'extrait et traité par l'infusé de Th), ont été séchées, pesées et broyées dans 1 ml de tampon phosphate pH7.4.

L'homogénat obtenu subit une centrifugation à 5000t/mn pendant 10 mn. Le surnageant obtenu est utilisé pour le dosage des métabolites et des biomarqueurs.

2.4.2 Dosage de la concentration de glutathion réduit

Le dosage du glutathion est réalisé selon la méthode de **Weekbeker et Cory (1988)**. Le principe de ce dosage repose sur la mesure de l'absorbance optique de l'acide 2-nitro-5-mercapturique qui résulte de la réduction de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) par les groupements (-SH) du glutathion. Pour cela on réalise une déprotéinisation afin de garder uniquement les groupements (-SH) spécifique du glutathion.

La procédure expérimentale du dosage du glutathion est la suivante :

- Prélever 0.8 ml de l'homogénat.
- 0.2 ml de la solution d'acide salicylique (0.25%).
- Agiter et laisser pendant 15 minutes dans un bain de glace.
- Centrifuger à 1000 tours/min pendant 5 min.
- Prélever 0.5 ml du surnageant.

Matériel et Méthodes

- Ajouter 1 ml du tampon Tris, pH 9.6.
- Mélanger et ajouter 0.025 ml de l'acide 5,5 dithio-bis-2-nitrobenzoïque (DTNB) à 0.01 M.

Laisser pendant 5 min à une température ambiante et lire les densités optiques à 412 nm contre le blanc réactif.

La concentration du glutathion est obtenue par la formule suivante :

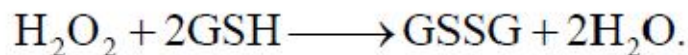
$$\text{GSH (nmol GSH/ mg protéine)} = \frac{\text{DO} \times 1 \times 1,525}{13100 \times 0,8 \times 0,5 \times \text{mg protéine}}$$

D0 : Densité optique.

- 1 : Volume total des solutions utilisées dans la déprotéinisation (0.8ml homogénat + 0.2 ml de l'acide salicylique).
- 1.525 : Volume total des solutions utilisées dans le dosage du GSH au niveau du surnageant (0.5 ml surnageant+1 ml Tris + 0.025 ml DTNB).
- 13100 : Coefficient d'absorbance du groupement –SH à 412 nm.
- 0.8 : Volume de l'homogénat.
- 0.5 : Volume du surnageant.

2.4.3 Dosage de l'activité enzymatique de la glutathion peroxydase

L'activité enzymatique du glutathion peroxydase (GPx) a été mesurée par la méthode de Flohe et Gunzler (1984). Cette méthode est basée sur la réduction de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en présence de glutathion réduit (GSH), ce dernier est transformé en (GSSG) sous l'influence de la GPx selon la réaction suivante :



Pour cela que, nous avons procédé aux étapes suivantes :

- Prélever 0.2 ml de l'homogénat (surnageant).
- Ajouter 0.4 ml de GSH (0.1 mM).
- Ajouter 0.2 ml de la solution tampon TBS (Tris 50 mM, NaCl 150 mM pH 7.4).
- Incuber au bain marie à 25°C, pendant 5 min.

Matériel et Méthodes

- Ajouter 0.2ml de H₂O₂ (1.3 mM) pour initier la réaction, laisser agir pendant 10 minutes.
- Ajouter 1 ml de TCA (1%) pour arrêter la réaction.
- Mettre le mélange dans la glace pendant 30 minutes.
- Centrifuger durant 10 minutes à 3000 tours /minutes.
- Prélever 0.48 ml du surnageant.
- Ajouter 2.2 ml de la solution tampon TBS.
- Ajouter 0.32 ml de DTNB (1.0 mM)

Mélanger et après 5 minutes lire les densités optiques à 412 nm.

La détermination (calcul) de l'activité de la GPx se fait de la façon suivante :

Activité de GSH consommée / min / gr de protéine

Blanc = 0.04 micro mole de GSH réduit ----- DO_b

Extrait = 0.04 // // -----DO_e

Donc la concentration de GSH réduit qui sera oxydée (disparue) = DO_e – DO_b

$$x = \frac{(DO_e - DO_b) * 0.04}{DO_b} = \text{quantité du GSH réduite disparu (oxydée)}$$

L'activité de la GPx = la quantité du GSH réduite disparu (X) *5 / [protéine]

□ DO_{échantillon} : Densité optique de l'échantillon.

□ DO_{étalon} : Densité optique de l'étalon.

□ 0.04 : Concentration de substrat (GSH).

2.4.4 Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides a été réalisé selon (**Duchateau et Florkin,1959**). Cette méthode utilise l'antrone comme réactif (150mg d'antrone, 75ml d'acide sulfurique et 25ml d'eau distillée) et le glucose comme standard. La gamme d'étalonnage a été réalisée à partir d'une solution mère de glucose (1g/l). Après l'addition du réactif, un chauffage au bain marie à 80°C pendant 10 mn permet l'obtention d'une coloration verte. Le dosage des glucides a été effectué dans une fraction aliquote (100µl). Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 620 nm contre un blanc réactif.

Matériel et Méthodes

2.4.5 Dosage des protéines totales

Le dosage des protéines totales dans l'homogénat a été effectué selon la méthode de Bradford (1976) qui utilise le bleu brillant de coomassie G 250 (BBC) comme réactif (100mg de BBC+50ml d'éthanol. Agitation pendant deux heures + 100ml d'acide orthophosphorique + H₂O distillée q.s.p. 1000ml) et l'albumine de sérum de bœuf (BSA) comme standard. Les absorbances ont été obtenues grâce à un spectrophotomètre et la lecture a été réalisée à une longueur d'onde de 595nm contre un blanc réactif.

La concentration des protéines est déterminée par comparaison à une gamme étalon d'albumine sérique bovine (1mg/ml) préalablement réalisée dans les mêmes conditions (voir annexe)

2.4.6 Dosage des lipides totaux

La concentration des lipides totaux a été estimée selon (**Goldsworthy et al,1972**) utilisant le réactif sulfophosphovanillinique (0,38 g de vanilline, 55ml d'eau distillée et 195ml d'acide orthophosphorique à 85%). La solution mère des lipides est préparée en utilisant l'huile de table (Cevital) selon la procédure suivante: 25mg d'huile de table pesés dans un tube eppendorf; cette quantité est ensuite reprise dans 10ml du mélange (éther / chloroforme) (V/V).

Après évaporation des prises aliquotes de 100µl de surnageant II dans un bain à sec à 40°C, on additionne 1ml d'acide sulfurique concentré (96%), les tubes fermés sont agités et chauffés dans un bain à sec à 100°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, on prélève 200µl de chaque tube auxquels on ajoute 2,5 ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique et on agite. Après 30 minutes à l'obscurité, le complexe se colore en rose. La lecture de la densité optique à une longueur d'onde de 530 nm contre un blanc réactif.

2.5 Analyse statistique :

Les résultats obtenus sont exprimés par la moyenne plus ou moins l'écart-type ($m \pm s$). Différents tests statistiques sont réalisés à l'aide du logiciel prism, 8.0.1. le test 't' de Student et l'analyse de la variance.

- * : $p \leq 0.05$
- ** : $p \leq 0.01$
- *** : $p \leq 0.001$

Résultats

3 Résultats

3.1 Rendement

$$\% \text{ d'extraction} = [(P1-P0)/m] \times 100$$

$$\% \text{ d'extraction} = [(66,79-61,35)/100] \times 100 = 5,4\%$$

Les résultats obtenus lors de cette étude montrent que le rendement de la plante *Thymelaeahirsuta* est de l'ordre de 5,4%

3.2 Screening phytochimique

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence des métabolites secondaires au niveau des tissus végétaux de notre plante. La détection de ces composés chimiques est basée sur des essais de solubilités des constituants, des réactions de précipitation, un changement de couleur spécifique ou un examen sous la lumière ultraviolette.

- chez l'extrait éthanolique nous avons constaté la présence des (terpénoides) .et l'absence des (Alcaloïdes, Tanins, , Saponosoides , Stérois et tri terpènes , composés réducteurs , les coumarines , Mucilages). (**Tableau 02**).
- chez l'extrait infusé nous avons constaté la présence des (Tanins, Stérois et tri terpènes , composés réducteurs , les coumarines , Mucilages, terpénoides) .et l'absence des (Alcaloïdes, , , Saponosoides ,) (Tableau 03).

Tableau 02 : les composés phytochimique de l'extrait éthanolique et l'extrait infusé de *Thymelaeahirsuta L* de la région de Tébessa :

Composition phytochimiques	Extrait éthanolique	L'infusé
Les Alcaloïdes	-	-
Les tanins	-	+
Les Saponosoides	-	+
Stérois et tri terpènes	-	+
Les composés réducteurs	-	+
les coumarines	-	+
Les Mucilages	-	+
Les terpénoides	+	+

« + » est fonction de l'intensité de la coloration.

«-» indique l'absence de la coloration

3.3 Toxicité extraite éthanolique sur *Culisetalongiareolata*

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité d'extrait éthanolique, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles *Culisetalongiareolata*. Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade(L4) nouvellement exuvies de (0.25, 0.5,0.75 , 1) pendant 24h à une dose létale: 0,8 correspondant à la DL 50. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle en pourcentage avec une relation dose-réponse **fig18** .

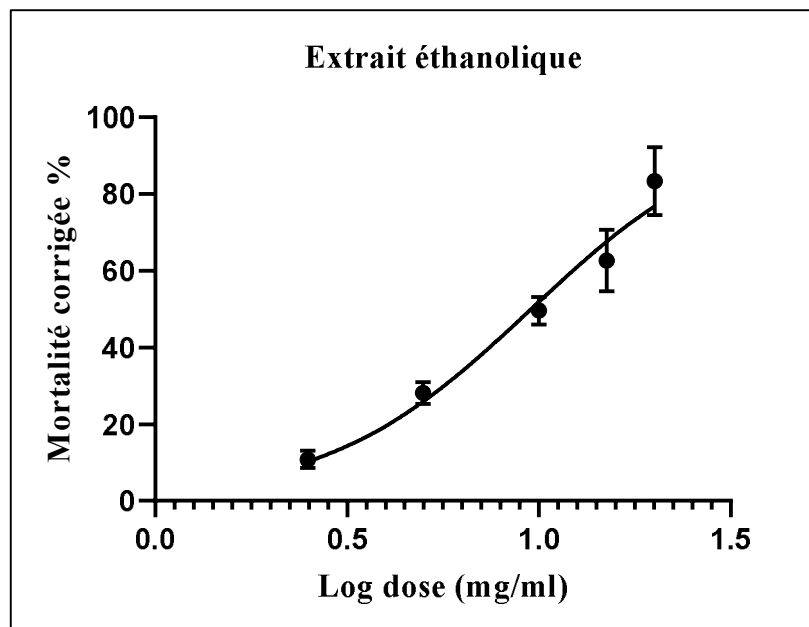


Figure 18: Effets d'extraits éthanoliques de *Thymelaeahirsuta*, appliquée sur les larves 4 *C. longiareolata*: Courbe dose réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

Nous révèlent qu'il y a une proportion directe entre la dose d'E éthanolique de *thymealanceolata* L (mg/ml) et mortalité corrigée (%).

3.4 Toxicité extraite infusé sur *Culisetalongiareolata*

Les études toxicologiques permettent de déterminer l'efficacité d'extrait infusé, évaluée à partir de la mortalité enregistrée chez les individus cibles *Culisetalongiareolata*. Les tests de toxicité sont appliqués sur des larves du quatrième stade(L4) nouvellement exuvies de (0.5,

Résultats

1ml) pendant 24h à une dose létale: 0.3 correspondant à la DL 50. La mortalité observée est corrigée à partir d'une mortalité naturelle en pourcentage avec une relation dose-réponse **fig19**.

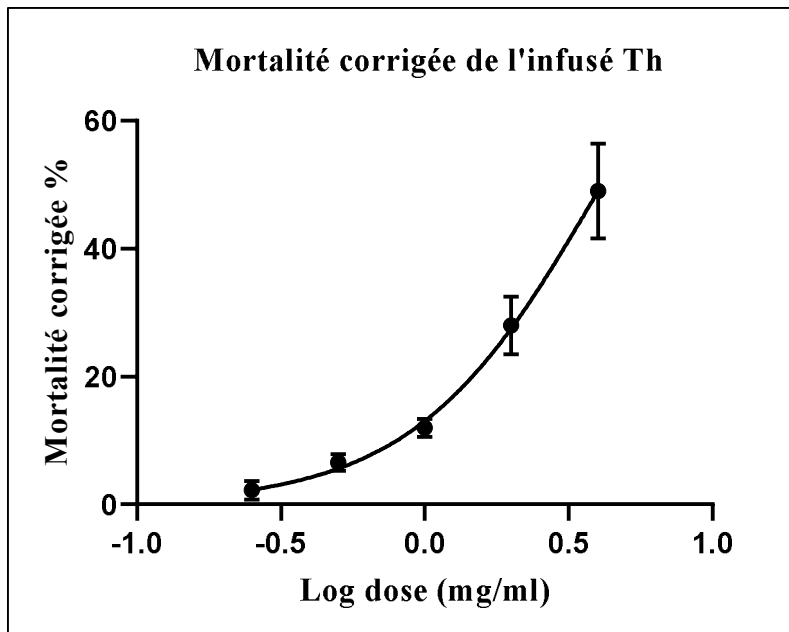


Figure 19: Effets d'extrais infusé de *Thymelaeahirsuta*, appliquée sur les larves 4 *C. longiareolata*: Courbe dose réponse exprimant le pourcentage de mortalité corrigée en fonction du logarithme des doses.

Nous révèlent qu'il y a une proportion directe entre la dose d'E éthanolique de *plantagolanceolata L* (mg/ml) et mortalité corrigée (%).

3.5 Résultats dosage polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu ; l'une des méthodes les plus anciennes conçue. En utilisant comme standard l'acide gallique, dont sa courbe d'étalonnage est représentée dans la (**figure 20**).

L'absorbance a été mesuré à 765 nm, les teneurs en polyphénols sont exprimées en g EAG/g MS d'extrait.

Le taux des polyphénols a été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type : $y = 0.745x + 0.120$ sachant que $R^2 = 0.992$.

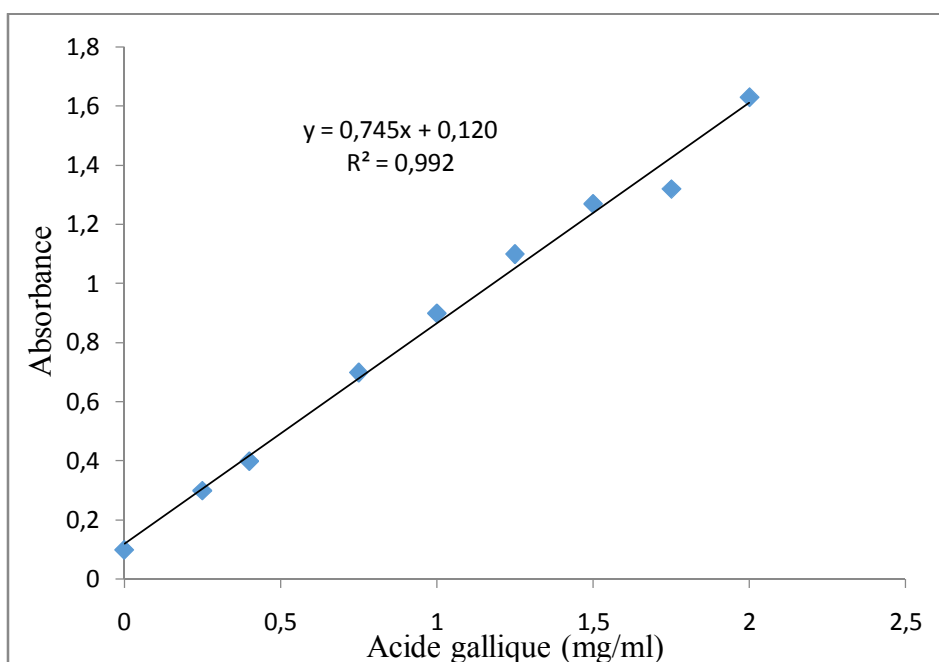


Figure 20 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Les résultats de dosage des polyphénols totaux dans les échantillons de *Thymelaeahirsuta L* analysés Dans cette étude on a obtenu des quantités en polyphénols qui varient entre $0,201 \pm 0,05^21$ chez éthanolique et $0,355 \pm 0,061$ chez l'infusé.

3.6 Résultats dosage flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes est déterminée par la méthode de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) pour chaque extrait a été rapportée en μg équivalent de quercétine /mg d'extrait. Les résultats de la courbe d'étalonnage de quercétine sont représentés dans la (**figure21**).

Le taux des flavonoïdes a été obtenu à partir de la courbe d'étalonnage qui suit une équation de type : $y = 0.033x + 0.019$ sachant que $R^2 = 0.998$.

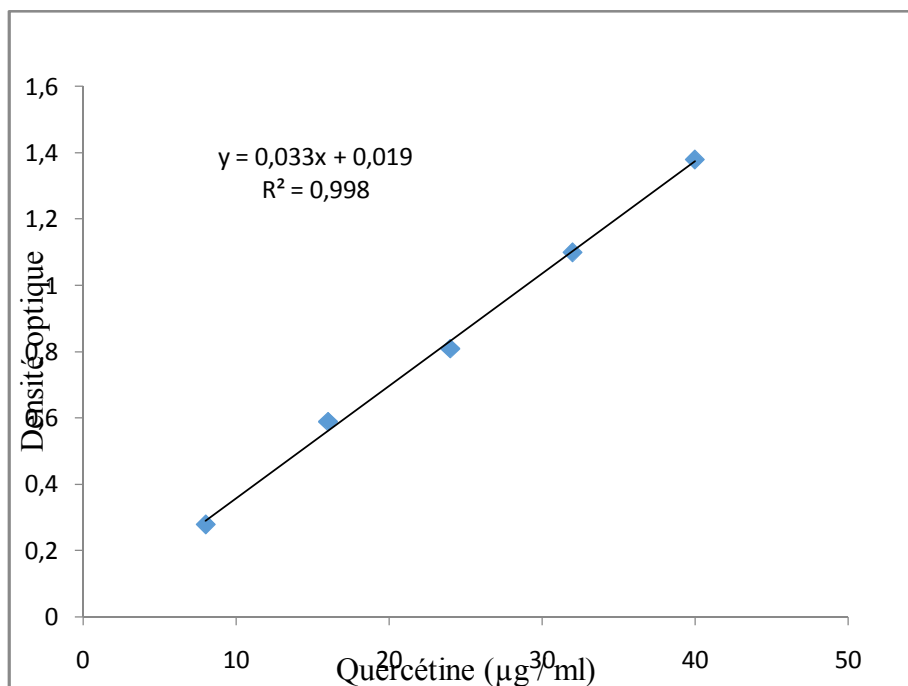


Figure 21: Courbe d'étalonnage de la quercétine.

Les résultats de dosage des polyphénols totaux dans les échantillons de *Thymelaeahirsuta L* analysés Dans cette étude on a obtenu des quantités en polyphénols qui varient entre $25,16 \pm 0,62$ chez éthanolique et $31,68 \pm 0,68$ chez l'infusé.

Tableau 03: Tableau représente teneur des polyphénols et flavonoïdes

Composant de la plante	Extrait éthanolique	Extrait Infusé
Polyphénols (g EAG /g de MS)	0,201±0,0521	0,355 ±0,061
Flavonoïdes (mg/g)	25,16 ± 0,62	31,68 ±0,68

3.7 Activité anti radicalaire du radical DPPH

Les résultats de la présente étude montrent que l'extrait infusé de *thymelaeahirsuta*. possède un effet piègeur remarquable vis-à-vis du radical DPPH par rapport l'extrait éthanolique (figure 21). Le pourcentage de l'activité antioxydant de l'extrait infusé est très faible ou presque inexistant à des concentrations très faibles par rapport l'extrait éthanolique, L' IC50 obtenue à partir la courbe est IC50 (0,2292 ± 0,9149) chez l'extrait infusé et IC50 (0,9760 ± 1,619).

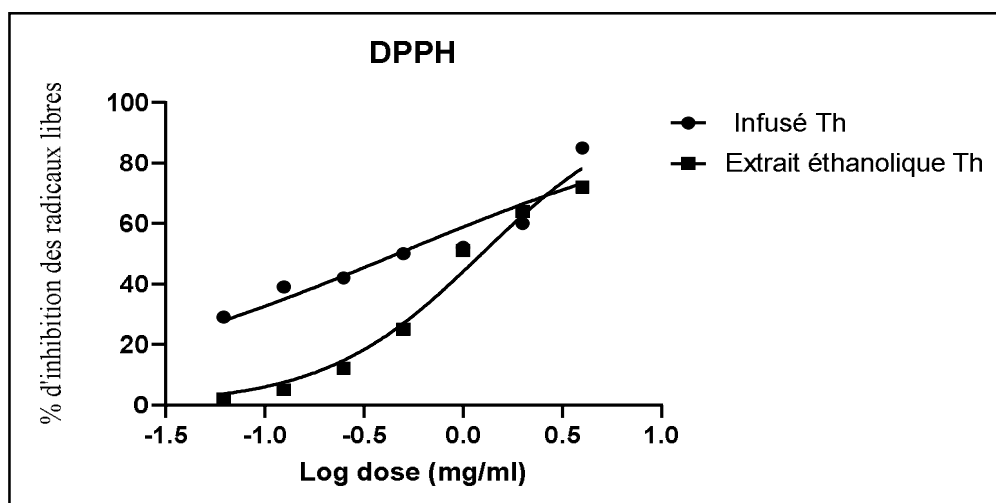


Figure 22: courbe comparatif de l'Activité inhibitrice du radical DPPH par les extraits (éthanolique et infusé) de *thymelaeahirsuta*.

L'efficacité de l'activité anti-radicalaire est exprimée en concentration d'extrait végétal capable de piégé 50% du radical libre DPPH (DL50), ainsi que l'acide ascorbique pris comme référence sont des anti- radicalaire.

Tableau 04 : les valeurs des IC50 des extrait éthanolique et infusé e *Thymelaeahirsuta* et de DPPH

	IC50	Pourcentage
infusé	0,2292 ± 0,9149	85%
Extrait éthanolique	0,9760 ± 1,619	72%
L'acide ascorbique	0,048 ± 0,172	93,23%

Résultats

3.8 Effets d'extrait sur la composition biochimique de *C. longiareolata*

La CL50 à 24h d'extraits de P L. été appliquées sur les larves 4 *C. longiareolata*. L'effet d'extrait a été évalué sur le contenu en protéines, glucides et lipides corporels 24 heures après traitement **Tab06**.

3.9 Effets des extrait éthanolique et infusé sur protéine

Les résultats du dosage biochimique (**Fig23**), montrent une diminution hautement significative ($p < 0.0001$) du contenu en protéines totales chez les séries traitées par l'extrait infusé par rapport les séries traitées par l'extrait éthanolique et témoin. Pendant 24h. La comparaison des valeurs moyennes entre les séries témoins et traitées, révèle une diminution hautement significative du contenu en protéines totales à 24 h.

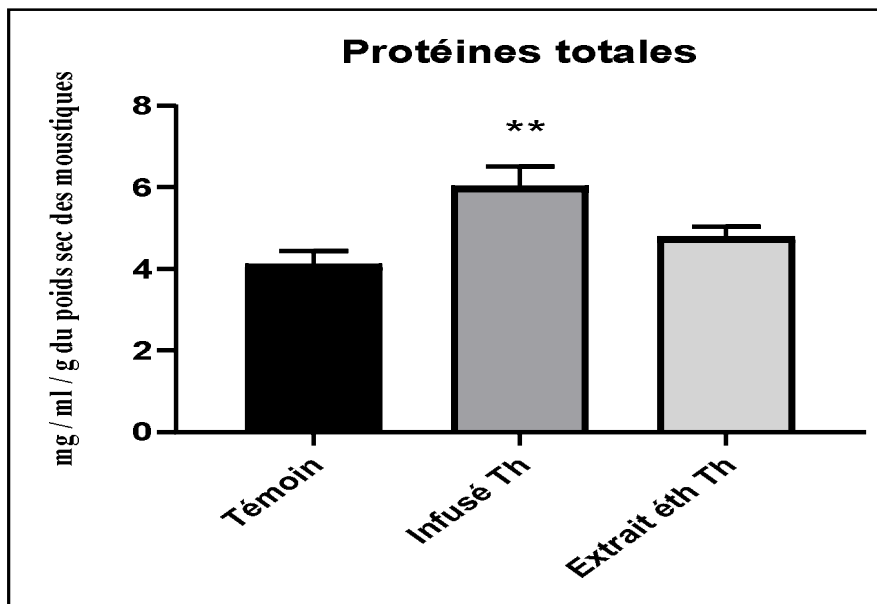


Figure23 : effet des extraits (éthanolique et infusé) de *thymelaeahiruista* sur les protéines (mg/ml/g du poids sec des moustique) chez les larves du quatrième stade de *Culisetalongiareolata* pendant 24h ($m \pm Sd ; n \square 03$) (T : différence non significative , éthanolique : différence significative , infusé : ** différence hautement significative $p < 0.002$).

3.10 Effet des extraits éthanolique et infusé sur glucides

Le contenu en glucides chez les larves 4 *deculisetalongiareolata* été déterminé pendant 24h, après traitement et les résultats obtenus sont enregistrés dans la **figure24**. La comparaison des valeurs moyennes par le test « t » de Student montre que l'extraite éthanolique *dethymelaeahiruista*, induit une diminution*** très hautement significative ($p < 0,0001$) du contenu en glucides totaux chez la série traitée par l'extrait infusé (CL50) pendant 24h par rapport aux séries témoin.

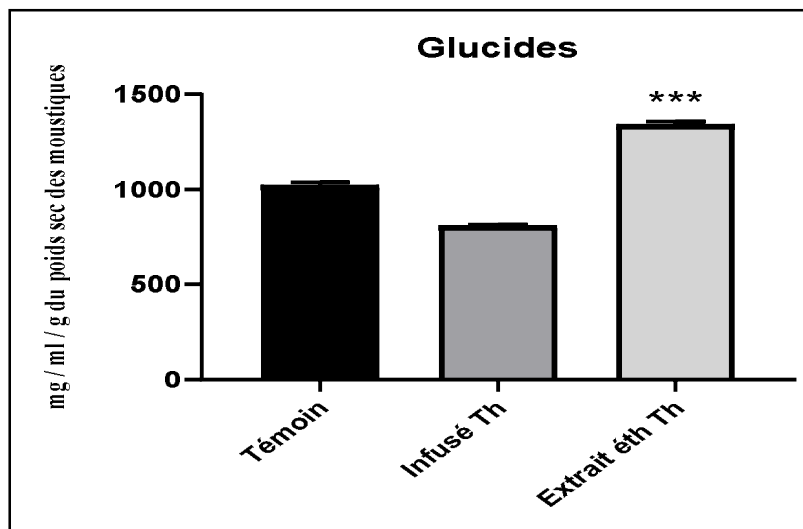


Figure24: effet des extraits (éthanolique et infusé) de *thymelaeahiruista* sur les glucides (mg/ml/g du poids sec des moustique) chez les larves du quatrième stade de *Culisetalongiareolata* pendant 24h ($m \pm Sd ; n = 03$) (T : différence non significative , infusé : différence significative , éthanolique : *** différence très hautement significative $p < 0.0001$)

Résultats

3.11 Effet extraits éthanolique et infusé sur contenu lipides

Le contenu en lipides a été estimé chez les larves 4 témoins et traitées *deculisetalongiareolata*, pendant 24 heures et les résultats du dosage sont mentionnés dans la **figure25**. L'étude comparative par le test « t » de Student, révèle une augmentation très hautement significative ($p < 0,0001$) chez l'extrait les traités par l'extrait infusé par rapport les séries traités par l'extrait éthanolique et témoin de ce contenu lipidique après traitement *authymelaeahiruista* avec concentration (CL50).

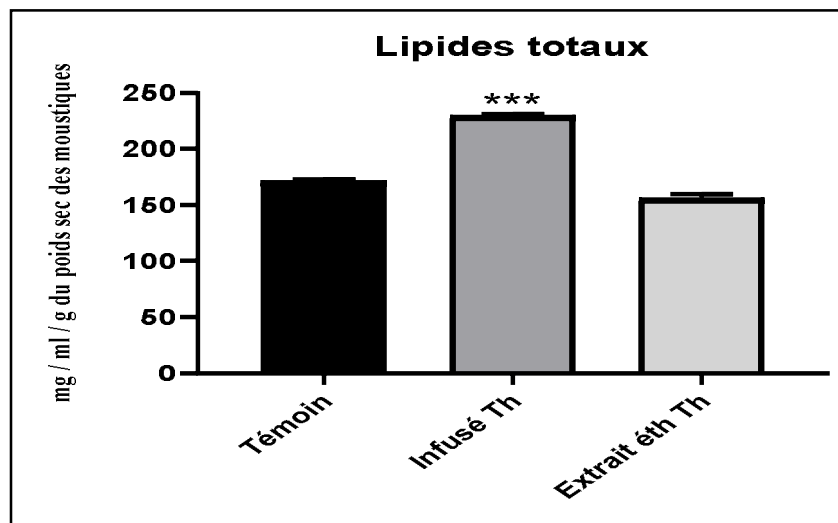


Figure 25 : effet des extraits (éthanolique et infusé) de *thymelaeahiruista* sur les lipides (mg/ml/g du poids sec des moustique) chez les larves du quatrième stade de *Culisetalongiareolata* pendant 24h ($m \pm Sd ; n \square 03$) (T : différence non significative , éthanolique : différence significative , infusé : *** différence très hautement significative $p < 0.0001$).

Résultats

Tableau 05: les valeurs des IC50 des extrait éthanolique et infusé e *Thymelaeahirsuta* et de composition chimique

	Témoin	Infusé	Extrait éthanolique	P infusé	P Ex éth
Protéines	4,1± 0,3351	6,027±1,48 **	4,783±1,098	P<0,002	ns
lipides	155,9 ± 3,742	229,4± 1,890 ***	171± 1,467	P<0,001	ns
Glucides	1341 ± 16,65	807,7± 7,506	1022±14,73 ***	Ns	P<0,001

3.12 Effet extraits éthanolique et infusé sur glutathion GSH

Le taux du glutathion (nmol/mg de protéines) chez les larves L4 de *C. longiareolata* témoins et traitées (CL50) est enregistrée à 24heures après traitement **Tableau05**.

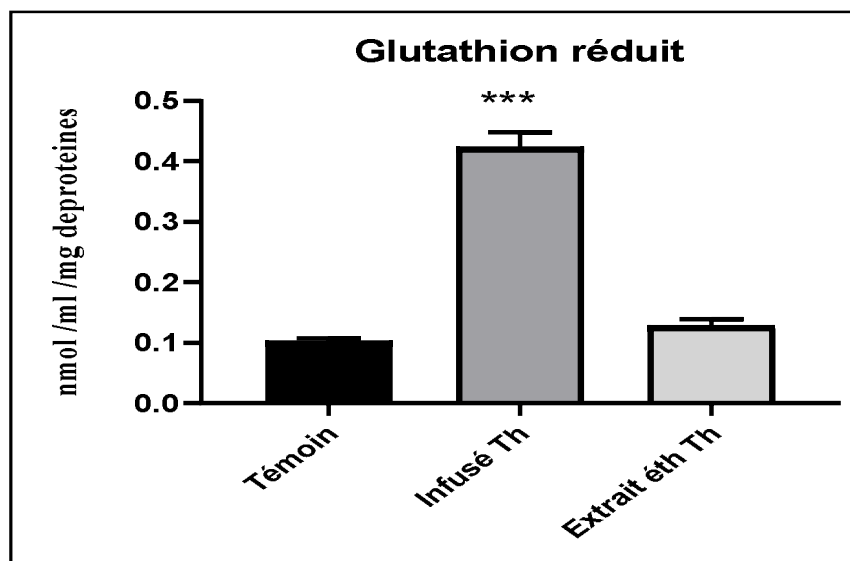


Figure 26 : effet des extraits (éthanolique et infusé) de *thymelaeahiruista* sur le taux de GSH (nmol/ml/mg de protéines) chez les larves du quatrième stade de *Culiseta longiareolata* pendant 24h (m ±Sd ;n=05) (T : différence non significative , éthanolique : différence significative , infusé : *** différence très hautement significative p<0.0001).

3.13 Effet extraits éthanolique et infusé sur glutathion peroxydase GPx

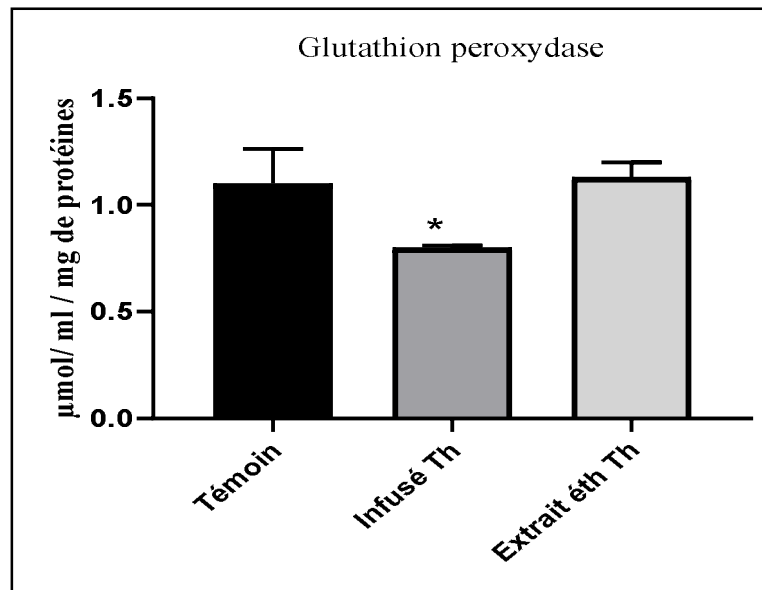


Figure 27: effet des extraits (éthanolique et infusé) de *thymelaeahiruista* sur le taux de GPx ($\mu\text{mol/ml/mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de *Culiseta longiareolata* pendant 24h ($m \pm Sd$; $n \square 05$) (T : différence non significative , éthanolique : différence significative , infusé : * différence significative $p < 0.0144$).

Tableau 06 : Effet de l'extrait éthanolique et extrait infusé de *thymelaeahiruista* L sur le taux de GSH (nmol/mg de protéines) et le taux de GPX ($\mu\text{mol/mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de *Cs longiareolata* ($m \pm SD$, $n=5$). Pendant 24heures.

	Témoin	Extrait infusé	Extrait éthanolique	P éthanolique	P infusé
GPX	1,1±0,1647	0,8003± 0,01	1,13±0,07	Ns	p<0,0144
GSH	0,102±0,005	0,4233±0,025	0,1277±0,01	Ns	p<0,0001

Discussion

4. Discussion

4.1 Rendement

Les résultats obtenus lors de cette étude montrent que le rendement d'extrait méthanoïque obtenu de la plante *Thymelaeahirsuta* est de l'ordre de 5,4%.

En effet, les solvants alcooliques sont capables d'augmenter la perméabilité des parois cellulaires en facilitant l'extraction d'un ou plus grand nombre de molécules polaires, de moyenne et de faible polarité (Seid et al., 2014).

Des résultats semblables ont été menée par l'étude de (Kadi Kenza, 2017) ou elle a montré que les valeurs du rendement de *Thymelaeahirsuta* des extraits varient entre (8 ±0,31)% et (10±0,7)%, dont le faible rendement est constaté dans l'extrait Acétate d'éthyle et le meilleur rendement est enregistré dans l'extrait méthanolique.

Concernant le rendement de l'extrait éthanolique obtenu des feuilles, nos résultats sont inférieurs à ceux de (Kadi Kenza, 2017) qui ont trouvé un rendement élevé de l'ordre de 10% pour les feuilles de la plante *Thymelaeahirsuta* de la région d'ARRIS wilaya de Batna.

4.2 Test toxicité

L'application des produits naturels reste la méthode qui présente beaucoup d'avantages pour la santé de l'être vivant et pour son environnement par rapport aux produits de synthèse chimique qui contaminent globalement la biosphère (Benayad, 2008). En Algérie, l'utilisation des produits naturels, spécifiquement les extraits des plantes, comme type de lutte contre les insectes a commencé de se développer, à travers une multitude des travaux récentes (Kemassi, 2008 ; Labouzi, 2010 ; Habbachi et al., 2013 ; Aouati et Berchi, 2015).

Les résultats de notre étude montrent que l'extrait éthanolique de plante choisie (*Thymelaeahirsuta*) possède une activité insecticide à l'égard de stade L4 de *Culiseta longiareolata*. Ces résultats, bien qu'ils soient préliminaires, illustrent bien l'intérêt que présentent les extraits végétaux dans la lutte anti-larvaire. L'interprétation de l'activité larvicide de l'extrait pourrait être causée d'une part par la diversification des substances actives qui le composent et d'autre part, par l'interaction moléculaire des groupements fonctionnels de ces mêmes substances actives avec les tissus des organismes visés, notamment les larves de moustiques. Les composés aromatiques phénoliques (acides phénoliques, tannins et flavonoïdes) forment le groupe des composés chimiques le plus important 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 (Hadj Salem, 2009).

4.3 Screening phytochimique :

Le screening phytochimique réalisé, a révélé la richesse de notre plante (*Thymelaeahirusta L*) en métabolites secondaires, chez l'extrait éthanolique nous avons constaté la présence les(terpenoïdes), et l'absence des (Alcaloïdes, Tanins, Saponosides, Stéroïls et tri terpènes, composés réducteurs, les coumarines, Mucilages).

chez l'extrait infusé nous avons constaté la présence des (Tanins, Stéroïls et tri terpènes, composés réducteurs, les coumarines, Mucilages, terpenoïdes) et l'absence des (Alcaloïdes, Saponosides,)

On remarque aussi la présence des tanins et des saponosides. Mise en évidence des tanins et des saponosides (**(Karumi Y, (2004))**)

La présence des coumarines. Mise en évidence des coumarines (Rizk A.M., (1974)). Au vu des résultats obtenus lors de la présente étude, cette plante renferme presque toutes les grandes familles des métabolites secondaires. Même résultats ont été trouvés par **(Kadi Kenza, 2017)**.

Nos résultats de dosage des polyphénols totaux d'extrait éthanolique de *ThymelaeaHirsuta L* qui varient entre ($0,2017 \pm 0,03723 \mu\text{g EAG/mg}$) sont inférieurs à ceux de l'extrait infusé ($0,3553 \pm 0,05139\mu\text{g EAG/mg}$). Ceci indique que l'extrait éthanolique et l'extrait infusé de *ThymelaeaHirsuta* possèdent des teneurs en polyphénols très faibles.

Nos résultats sont inférieures à ceux de **(Mohammed Bouzouina, 2016)** qui a trouvé Le contenu des polyphénole était estimé à ($19.83 \pm 0.42 \text{mgGAE/g DW}$) dans les feuilles et ($16.78 \pm 0.67 \text{ mg GAE/g DW}$) dans les fleurs, ($6.17 \pm 0.82 \text{ mg GAE/g DW}$) dans les racines

Les résultats obtenus durant cette étude sont inférieurs à ceux trouvés par (**(Kadi Kenza, 2017)**) dont les quantités en phénols totaux des extraits de la partie aérienne de la plante *T. hirsuta* varient entre $2,69 \pm 0,05 \text{ mg EAG/g}$ de l'extrait hexane, $7,01 \pm 0,02 \text{ mg EAG/g}$ de l'extrait méthanol $9,03 \pm 0,12 \text{ mg EAG/g}$ de l'extrait acétate d'éthyle, $10,65 \pm 0,098 \text{ mg EAG/g}$ de l'extrait chloroforme et $11,87 \pm 0,41 \text{ mg EAG/g}$ de l'extrait éthanolique.

Nos résultats montrent que les teneurs en flavonoïdes d'extrait éthanolique de *ThymelaeaHirsuta* qui varient entre ($31,68 \pm 1,18\mu\text{g EQ/mg}$) sont supérieures à ceux de l'extrait infusé ($25,16 \pm 1,076 \mu\text{g EQ/mg}$). Ceci indique que l'extrait éthanolique de *ThymelaeaHirsuta* est riche en flavonoïdes que l'extrait infusé.

Discussion

Nos résultats sont supérieurs à ceux de **(Mohammed Bouzouina, 2016)** qui a trouvé Le contenu des flavonoïdes était estimé à $(5,00 \pm 0,17 \text{ mgQE/g DW})$ dans les feuilles et $(5,17 \pm 0,06 \text{ mgQE / g DW})$ dans les fleurs et $(1,30 \pm 0,10 \text{ mgQE/g DW})$ dans les racines.

Des résultats supérieurs ont été trouvés par **(Kadi Kenza, 2017)** les quantités en flavonoïdes totaux des extraits de la partie aérienne de la plante *T. hirsuta* varient entre $(1.29 \pm 0,075 \text{ mg EQ/g})$ d'extrait méthanolique, $(2.70 \pm 0,10 \text{ mg EQ/g})$ de l'extrait hexane, $(1.04 \pm 0,036 \text{ mg EQ/g})$ de l'extrait acétate d'éthyle, $(0.53 \pm 0,01) \text{ mg EQ/g}$ de l'extrait chloroforme et $(1.74 \pm 0,053 \text{ mg EQ/g})$ de l'extrait éthanolique.

4.4L'activité antioxydante

D'après le tableau, l'extrait infusé représente l'extrait le plus actif avec un IC₅₀ de l'ordre de **$(0,2292 \pm 0,9149)$** par rapport l'extrait éthanolique **$(0,9760 \pm 1,619)$** , Une activité qui reste toujours, inférieure à celle du standard (l'acide ascorbique) avec l'IC₅₀ de **$(0,048 \pm 0,172)$**

La comparaison de ces valeurs montre que l'extrait infusé de la plante possède un potentiel antiradicalaire excellent. L'acide ascorbique a présenté l'activité anti radicalaire la plus élevée (93,23%) suivie par l'extrait infusé (85%) et en dernier l'extrait éthanolique (72%), ces deux derniers présentent un potentiel anti radicalaire excellent.

La comparaison de ces valeurs avec celles de l'acide ascorbique, montrent que les deux extraits de la plante possède un potentiel antiradicalaire excellent. Les résultats présentés dans le tableau précédent montre que la capacité de réduction du radical est proportionnelle à l'augmentation de la concentration des extraits. Ceci a pu être confirmé par beaucoup d'autres auteurs **(Amari et al., 2014)**. Les résultats indiqués dans la figure 0 représentent les concentrations des extraits qui piègent 50% du radical DPPH (IC₅₀). Plus cette concentration est faible plus le pouvoir antioxydant est élevé **(Brande-Williams et al., 1995 ; Tsimogiannis et Oreopoulou, 2004 ; Atoui et al., 2005)**.

Le maximum d'inhibition a été marqué avec l'extrait infusé. Cette valeur est légèrement supérieure à celle l'extrait éthanolique. Il est à noter que la première est riche en flavonoïdes $(0,2292 \pm 0,9149.)$ et la deuxième en flavonols $(0,048 \pm 0,172)$. Cette constatation a été vérifiée par **(Gursoy et al. (2009))**, supposant que la majorité des flavonoïdes sont non antioxydants. Alors que **(Cai et al. (2006))** suggèrent que les flavonols sont responsables une meilleure activité anti-DPPH.

Discussion

4.5 Effet des extrait de *thymelaeahirsuta* sur la composition biochimique

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 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 extraits de *thymelaeahirsuta* à 24 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 l'extrait infusé de *thymelaeahirsuta* chez *Cs longiareolata*, cause une diminution du contenu en protéine. ceci concorde avec les résultats de (Tine-Djebar, F., & Soltani, N. 2008) indiquent que le traitement par *lavanduladentata* avec la CL50 chez *Cs longiareolata*, cause une diminution du contenu en protéine.

Les expérimentations menées au niveau de notre laboratoire dans le but de comparer l'activité biologique des extraits (éthanolique et infusé) de *thymelaeahirsuta* sur des moustiques (*Cs longiareolata*) ont mis en évidence L'aspect biochimique montre des différences significatives dans la composition biochimique entre les espèces testées (TINE-DJEBBAR, F., BOUABIDA, H., & SOLTANI, N. (2011))

Concernant le contenu en glucides, nos résultats montrent que le traitement par *thymelaeahirsuta* avec l'extrait éthanolique chez *Cs longiareolata*, cause une diminution du contenu en glucides chez les larves de 4^{ème} stades nouvellement exuviées. Par contre l'extrait infusé cause une différence non significative chez l'infusé.

De plus, des travaux antérieurs ont montré des résultats différents, avec une réduction de ce contenu chez la même espèce après traitement par l'extrait éthanolique.

Discussion

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'hémolymphe surtout lors de la vitellogénèse (**Downer, 1985 ; Keely, 1986**).

Nos résultats montrent que le traitement par l'extrait infusé de *dethymelaeahirsutae* chez *Cs longiareolata*, cause une variation très hautement significative pour les larves de 4^{ème} stade.

Nos résultats sont en accord avec ceux obtenus chez d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue (**Tine-Djebar, F., & Soltani, N. 2008**).

4.6 Effet des extraits sur glutathion GSH

Le glutathion (GSH) est un tripeptide soluble dans l'eau, constitué de trois acides aminés ; glutamate, cystéine et glycine (L- γ -glutamyl-L cysteinyl glycine) (**Meister & Anderson, 1983 ; Noctoret et al., 1998 ; Kim et al., 2005**).

C'est le principal système impliqué dans la détoxification des ions peroxyde et dans la lutte contre le stress oxydatif (**Gannagé-Yared et al., 1998**).

Le glutathion existe sous deux formes, une forme oxydée (GSSG) et une forme réduite (GSH), et ses enzymes comprennent la glutathion peroxydase (GPx) et la glutathion S-transférase (GST) qui sont impliquées dans la détoxification (**Yu, 1994 ; Kiseket et al., 2004 ; Zehnaleket et al., 2004, Singh et al., 2017**).

L'analyse des résultats obtenus au cours de nos expérimentations, révèle très hautement significative chez les traités par l'extrait infusé par rapport le témoin et diminution significative chez les traités par l'extrait éthanolique. du taux de GSH chez les séries traitées. La diminution du glutathion pourrait être expliquée par une consommation accrue de ce cofacteur par les GSTs afin de détoxifier ces bios pesticides. (**Kiran et al. (2017)** observent une réduction du taux de GSH chez *Callosobruchus chinensis* et *C. maculatus* après traitement (CL50) à l'HE de *Boswellia carterii*.

4.7 Effet des extraits sur glutathion peroxydase GPx

La glutathion peroxydase (GPx) est une superfamille de protéines répandue dans de nombreux organismes à travers tous les règnes de la vie. (**Toppo, S., Vanin, S et al. 2008**)

Discussion

L'analyse des résultats obtenus au cours de nos expérimentations, révèle très hautement significative chez les traités par l'extrait infusé par rapport le témoin et diminution significative chez les traités par l'extrait éthanolique.

Conclusion

Conclusion

Les Culicidae, sont sans doute les insectes les plus connus et les plus redoutés tant pour le désagrément et nuisance que constitue leur présence, que par les maladies parasitaires qu'ils peuvent inoculer pendant leur repas sanguin tel que la filariose, la fièvre jaune, la fièvre du virus du Nile Occidental.

Dans ce cadre, nous avons procédé a une étude comparative de deux extrais (ethanolique et infusé) de *thymelaeahirsuta* à l'évaluation de leur activité biologique sur les larves stade (L4) de *Culisetalongiareolata*

Après l'analyse phytochimique de notre plante, On a démontré que l'extrait infusé de *Thymelaeahirsuta* est riche en plusieurs métabolites secondaires tels que : flavonoïdes, Tanins, Stérols et tri terpènes, composés réducteurs, les coumarines, Mucilages, terpenoides avec l'absence des alcaloïdes et les Saponosoides. par contre l'extrait ethanolique nous avons constaté la présence des (terpenoides) .et l'absence de les autres métabolites secondaires. Alors que, le potentiel anti radicalaire de l'extrait infusé notre plante présente un pouvoir antioxydant très important que celui d'extrait ethanolique.

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer chez une espèce de moustiques *Cs. longiareolata*, l'effet toxique des extraits de *thymelaeahirsuta* à travers un dosage des métabolites (protéines, glucides et lipides) et des biomarqueurs de la défense antioxydante (GPx et GSH). Cet effet se traduit par :

Une augmentation des glucides chez les larves traités par l'extrait éthanolique,

Une augmentation des protéines et lipides totaux chez les larves traités par l'infusé

Une augmentation du GSH et GPX

Références

Bibliographiques

A

Abou Karam, M., El Shaer, N. S., & Shier, W. T. (1998). Inhibition of oncogene product enzyme activity as an approach to cancer chemoprevention. Tyrosine-specific protein kinase inhibition by daphnoretin from *Thymelaea hirsuta* root. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives*, 12(4), 282-284.

Aitken, T. H. (1954). The culicidae of sardinia and corsica (diptera). *Bulletin of Entomological Research*, 45(3), 437-494.

Akrout, A., Gonzalez, L. A., El Jani, H., & Madrid, P. C. (2011). Antioxidant and antitumor activities of *Artemisia campestris* and *Thymelaea hirsuta* from southern Tunisia. *Food and Chemical Toxicology*, 49(2), 342-347.

Alverson, W. S., Karol, K. G., Baum, D. A., Chase, M. W., Swensen, S. M., McCourt, R., & Sytsma, K. J. (1998). Circumscription of the Malvales and relationships to other Rosidae: evidence from rbcL sequence data. *American Journal of Botany*, 85(6), 876-887.

Anonyme.2005. *Thymelaeahirsuta*. Paris:tela-botanica.

APG(AngiospermPhylogenyGroup),1998. AnupdateoftheangiospermPhylogenyGroup.

Atoui, A. K., Mansouri, A., Boskou, G., & Kefalas, P. (2005). Tea and herbal infusions: their antioxidant activity and phenolic profile. *Food chemistry*, 89(1), 27-36.

B

BABA, K., TAKEUCHI, K., DOI, M., & KOZAWA, M. (1987). Chemical studies on the constituents of the Thymelaeaceous plants. III. Structure of a novel spiro biflavonoid, daphnodorin C, from *Daphne odora* Thunb. *Chemical and pharmaceutical bulletin*, 35(5), 1853-1859.

Bahorun, T., Gressier, B., Trotin, F., Brunet, C., Dine, T., Luyckx, M., ... & Pinkas, M. (1996). Oxygen species scavenging activity of phenolic extracts from hawthorn fresh plant organs and pharmaceutical preparations. *Arzneimittel-forschung*, 46(11), 1086-1089

Batanoumy,K.2005. *Thymelaeahirsuta*(L.)end. Thymelaeaceae. Aguideto medicinal plant in northafrica .publiéparilucn internationalmalaga,spain

Beenakers A.M.T.H; Vander host D.G. & Van Marrewijk W.J.A. 1985 Ré Insectlipids and lipoproteins and theirrole in physiologicalprocesses. Prog, lipid. Res, 24: 19-67.

Beniston,W.S.1984. Fleursd'Algérie.Alger : Edition EntrepriseNationaledulivre.

Berge, T. O. (1975). International catalogue of arboviruses, including certain other viruses of vertebrates.

Biyiti, L.F., Meko'o, D.J.L., Tamzc, V., AmvamZollo, P.H. 2004. Recherche de l'activité antibactérienne de quatre Plantes médicinales camerounaises. *Pharmaceutical Mediterranean traditional african*, 13: 11-20.

Borris, R. P., Blaskó, G., & Cordell, G. A. (1988). Ethnopharmacologic and phytochemical studies of the Thymelaeaceae. *Journal of ethnopharmacology*, 24(1), 41-91.

Boulkenafet, F. (2006). Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera: Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera: Culicidae) dans la région de Skikda. *Mémoire de master-Université Mentouri Constantine-Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie*, 191p.

Boyer, S. (2006). *Résistance métabolique des larves de moustiques aux insecticides: conséquences environnementales* (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).

Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. L. W. T. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT-Food science and Technology*, 28(1), 25-30.

Brooks, G., Evans, A. T., Aitken, A., Evans, F. J., Rizk, A. F. M., Hammouda, F. M., ... & Ismail, S. E. (1990). Daphnanediterpenes of *Thymelaeahirsuta*. *Phytochemistry*, 29(7), 2235-2237.

Bruneton, J. (1999). *Pharmognosie, phytochimie, plantes médicinales*, 2ème édition, Paris: Editions médicales internationales, Tecet Doc Lavoisier, p 1120

Brunhes, J., Rhaim, A., Geoffroy, B., Angel, G., & Hervy, J. P. (1999). Les moustiques de l'Afrique méditerranéenne CD-ROM d'identification et d'enseignement. *Edition IRD, Montpellier, France*.

C

Cai, C., Xu, C., Li, X., Ferguson, I., & Chen, K. (2006). Accumulation of lignin in relation to change in activities of lignification enzymes in loquat fruit flesh after harvest. *Postharvest Biology and Technology*, 40(2), 163-169.

Cornara, L., Borghesi, B. A. R. B. A. R. A., Caporali, E., Casazza, G., Roccotiello, E., Troiano, G., & Minuto, L. (2005). Floral features and reproductive ecology in *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. *Plant systematics and evolution*, 250(3), 157-172.

Cuvier, F. G. (1825). *Dictionnaire des sciences naturelles*. Tome trente-huitième, F. G. Levrault, éditeur. Strasbourg, p 34.

D

Dohou, R., Yamni, K., Tahrouch, S., Hassani, L. I., Badoc, A., & Gmira, N. (2003). Screening phytochimique d'une endémique iberomarocaine, *Thymelaealythroïdes*. *Bulletin-Société de Pharmacie de Bordeaux*, 142(1/4), 61-78.

Dahlgren, R., & Thorne, R. F. (1984). The order Myrtales: circumscription, variation, and relationships. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 633-699.

Dommeé, B., Denelle, N., & Rioux, J. A. (1984). Proportions des sexes dans deux populations françaises de *Thymelaeahirsuta* (L.) Endl. *Bulletin de la Société Botanique de France. Lettres Botaniques*, 131(3), 201-205.

Downer R. G. H. (1985). Lipid metabolism. In *Comprehensive Insect Physiology*,

Desire Villeneuve et Zoologie. ordas . - [s.l.] : 1er édition, 1965. - p. 323. 14p.

Damintoti, K., Mamoudou, H.D., Jacques, S., Saydou, Y., Souleymane, S., et Alfred, S.T. 2005. Activités antioxydantes et antibactériennes des polyphénols extraits de plantes médicinales de la pharmacopée traditionnelle du Burkina Faso. Mémoire de l'université de Burkina Faso.

Duchateau, G &Florkin.(1959). For treahalosemie of insects and its signification. Arch. Insect. Physiol. Biochem, 67, 306-314.

E

El-Beheiry, M. (2000). Evaluation of the organic composition of *Thymelaea hirsuta* populations in Egypt. *Bull. Fac. Sci., Assiut Univ*, 29(1), 375-383.

Erdtman, G. (1952). Pollen morphology and plant taxonomy. xii+ 553 pp. *New York and London*.

Éric Haubruge, Marcel Amichot,1998. Les mécanismes responsables de la résistance aux insecticides chez les insectes et les acariens. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2 (3), 161–174

F

Ferrari, J. (2002). *Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles: " Gnidiainvolucrata" Steud. ex A. Rich* (Doctoral dissertation, Université de Lausanne, Faculté des sciences).

Flohé, L., &Günzler, W. A. (1984).[12] Assays of glutathione peroxidase. *Methods in enzymology*, 105, 114-120.

G

Galois, R. (1987). Les lipides neutres chez les crustacés Décapodes: métabolisme et besoins. *Océanis (Paris)*, 13(2), 197-215.

Gannagé-Yared, M. H., Khneisser, I., Salem, N., Gouyette, A., Loiselet, J., Halaby, G., &Massade, L. (1998, May). Glutathion et glutathion S-transférase sanguins et leucocytaires: relation avec la cholestérolémie chez des volontaires sains. In *Annales de Biologie Clinique* (Vol. 56, No. 3, pp. 321-7).

George, S., & Vincent, S. (2005). Comparative efficacy of *Annona squamosa* Linn. and *Pongamia glabra* Vent. to *Azadirachta indica* A. Juss against mosquitoes. *Journal of vector borne diseases*, 42(4), 159.

Goldsworthy, G. J., Mordue, W., & Guthkelch, J. (1972). Studies on insect adipokinetic hormones. *General and Comparative Endocrinology*, 18(3), 545-551.

H

He, W., Cik, M., Appendino, G., Puyvelde, L. V., Leysen, J. E., & De Kimpe, N. (2002). Daphnane-type diterpene orthoesters and their biological activities. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 2(2), 185-200.

Hegnauer, R. (1973). *Chemotaxonomie der Pflanzen – Band 6.* BirkhäuserVerlag,Basel.

Heining,K.H.(1951). Studies on the floral morphology of the Thymelaeaceae. *Am.J.Bot.* 38:pp113-132

Herbada, D.G. (2006). Origin and diversification of Thymelaea (Thymelaeaceae): inferences from a phylogenetic study based on ITS (rDNA) sequences. *Plant Systematics and Evolution*, 257: 159–187.

Heywood, V.H., (1996), Les Plantes à Fleurs. *Editions Nathan*, Paris, pp. 159-160.

J

Jeanmonod, D., Gamisans, J. (2007). *Flora Corsica*, Edisud.

Jolive, T. (1980). Les insectes et l'homme. PUF, collect. Que sais-je, 128 p.

Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F. and Donoghue, E. M. J. (2002). Plant Systematics: à phylogenetic approach. Sinauer, Sunderland, Massachusetts, USA.

K

Kadi, K., Hamli, S., Zeraib, A., & Yahia, A. (2017). Effet antibactérien des extraits de *Thymelaeahirsuta* L. *Revue des Régions Arides* n, 409-419.

Karumi, Y. (2004). Identification of Active Principles of *M. balsamina* (Balsam Apple) Leaf Extract Y. Karumi," PA. Onyeyili and "VO Ogugbuaja. *Journal of Medical Sciences*, 4(3), 179-182.

Kiran, S., Kujur, A., Patel, L., Ramalakshmi, K., & Prakash, B. (2017). Assessment of toxicity and biochemical mechanisms underlying the insecticidal activity of chemically characterized *Boswellia carterii* essential oil against insect pest of legume seeds. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 139, 17-23.

Kim, B. J., Choi, C. H., Lee, C. H., Jeong, S. Y., Kim, J. S., Kim, B. Y., ... & Kang, S. O. (2005). Glutathione is required for growth and prospore cell differentiation in *Dictyostelium*. *Developmental biology*, 284(2), 387-398.

Kizek, R., Vacek, J., Trnková, L., & Jelen, F. (2004). Cyclic voltammetric study of the redox system of glutathione using the disulfide bond reductant tris (2-carboxyethyl) phosphine. *Bioelectrochemistry*, 63(1-2), 19-24.

Knight, L. (1978). Supplement to a catalogue of the mosquitoes of the world (Diptera : Culicidae). The Tomas say foundation, supplt au vol .6, publié par l'Entomologicae.

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

L

LAOUINI, S. E. (2014). *Etude phytochimique et activité biologique d'extrait de des feuilles de Phoenix dactylifera L dans la région du Sud d'Algérie (la région d'Oued Souf)* (Doctoral dissertation, Université Mohamed Khider Biskra).

Leveque Durand et Flore et Faune aquatique de l'Afrique Shelo-Soudanienne .(1981). Tome II - [s.l.] : Editions de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-mer Collection Initiations - Vol. Documentations Techniques n°45 : p. 873.

Levin, D. A. (1976). Alkaloid-bearing plants: an ecogeographic perspective. *The American Naturalist*, 110(972), 261-284.

M

Messai, N., Berchi, S., Boulknafd, F., & Louadi, K. (2010). Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera: Nematocera) dans la région de Mila (Algérie). *Entomologie Faunistique-Faunistic Entomology*.

Meister, A., & Anderson, M. E. (1983). Glutathione. *Annual review of biochemistry*, 52(1), 711-760.

Minuto, L., Casazza, G., & Profumo, P. (2004). Population decrease of *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. in Liguria: conservation problems for the North Tyrrhenian sea. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*, 138(1), 11-19.

Miyamae, Y., Villareal, M. O., Abdrabbah, M. B., Isoda, H., & Shigemori, H. (2009). Hirseins A and B, daphnane diterpenoids from *Thymelaea hirsuta* that inhibit melanogenesis in B16 melanoma cells. *Journal of natural products*, 72(5), 938-941.

Mohammed Bouzouina, Nesrine Ouda Amari, Abdellah Berkani, Brahim Lotmani. (2016) Total Phenolics Contents, Flavonoïds Contents, and Fatty Acids Compositions in *Thymelaea hirsuta* L. Aerial Parts, Grown in Western Algeria.

Morel, S. (2011). *Etude phytochimique et évaluation biologique de Derrisferruginea Benth. (Fabaceae)* (Doctoral dissertation, Université d'Angers).

N

Nesrine Ouda Amari, Mohamed Bouzouina, Abdellah Berkani, Brahim Lotmani, (2014). Phytochemical screening and antioxidant capacity of the aerial parts of *Thymelaea hirsuta* L. the Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 4(2): 104-109.

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2007). Natural products as sources of new drugs over the last 25 years. *Journal of natural products*, 70(3), 461-477.

Noctor, G., Arisi, A. C. M., Jouanin, L., Kunert, K. J., Rennenberg, H., & Foyer, C. H. (1998). Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *Journal of Experimental Botany*, 49(321), 623-647.

O

OMS. (1995) -Lutte contre les vecteurs du paludisme et autres maladies transmises par les moustiques. Rapport d'un groupe d'étude de l'OMS, Genève, OMS, Série de Rapports techniques N0 .857

Oyedemi, S. O., & Afolayan, A. J. (2011). Antibacterial and antioxidant activities of hydroalcoholic stem bark extract of *Schotia latifolia* Jacq. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 4(12), 952-958.

P

Paul, R. (2009). Généralités sur les moustiques du littoral méditerranéen français. *Méditerranée*.

Pausas, J. G., Bonet, A., Maestre, F. T., & Climent, A. (2006). The role of the perch effect on the nucleation process in Mediterranean semi-arid oldfields. *Acta Oecologica*, 29(3), 346-352.

Pavan, M. (1986). Un revolutione. Cultural. Europea .La carte sugli invertebrate .Univ. Pavia

Peterson, E. L. (1980). A limit cycle interpretation of a mosquito circadian oscillator. *Journal of theoretical biology*, 84(2), 281-310.

Poupardin, R. (2011). *Interactions gènes-environnement chez les moustiques et leur impact sur la résistance aux insecticides* (Doctoral dissertation, Université de Grenoble).

Q

Quezel, P., & Santa, S. (1963). *Nouvelle flore de l'Algérie et des régions désertiques méridionales* (No. 581.965 Q8).

R

Renner, S. S. (2001). How common is heterodichogamy?. *Trends in Ecology & Evolution*, 16(11), 595-597.

Rizk, A. M., & Rimpler, H. (1972). Isolation of daphnoretin and β -sitosterol- β -d-glucoside from *Thymelea hirsuta*. *Phytochemistry*, 11(1), 473-475.

Rizk, A. M., AM, R., FM, H., & SI, I. (1974). Phytochemical investigation of *Thymelea hirsuta*. II. Lipid fraction.

Rizk, A. M., AM, R., FM, H., & SI, I. (1975). PHYTOCHEMICAL INVESTIGATION OF THYMELEA HIRSUTA. III. COUMARINS.

Rizk, A. M., Hammouda, F. M., Ismail, S. E., El-Missiry, M. M., & Evans, F. J. (1984). Irritant resiniferonol derivatives from Egyptian *Thymelaea hirsuta* L. *Experientia*, 40(8), 808-809.

S

Sánchez-Moreno, C. (2002). Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. *Food science and technology international*, 8(3), 121-137.

Séguy, E. (1955). Introduction à l'étude biologique et morphologique des insectes diptères.

Shaltout, K. H. (1987). Pattern, phenology and sex ratio of Egyptian *Thymelaea hirsuta* populations. *Vegetatio*, 67-73.

Shaltout, K. H., & El-Keblawy, A. A. (1992). Sex expression in Egyptian *Thymelaea hirsuta* (*Thymelaeaceae*) populations. *Plant systematics and evolution*, 181(3), 133-141.

Shenbrot, G. (2004). Habitat selection in a seasonally variable environment: test of the isodar theory with the fat sand rat, *Psammomys obesus*, in the Negev Desert, Israel. *Oikos*, 106(2), 359-365.

Singh, K. D., Labala, R. K., Devi, T. B., Singh, N. I., Chanu, H. D., Sougrakpam, S., ... & Rajashekar, Y. (2017). Biochemical efficacy, molecular docking and inhibitory effect of 2, 3-dimethylmaleic anhydride on insect acetylcholinesterase. *Scientific reports*, 7(1), 1-11.

Stone, A., & Knight, K. L. (1977). A Catalog of The Mosquitoes of World.(Diptera: Culicidae). Thomas Say Foundation. College Park, Maryland. *Entomol. Soc. Am*, 6, 611

T

Tahraoui, C. (2012). Abondance saisonnière des Culicidae dans l'écosystème humide du parc national d'El-Kala: Identification et lutte.

Tine-Djebar, F., & Soltani, N. (2008). Activité biologique d'un agoniste non stéroïdien de l'hormone de mue sur *Culiseta longiareolata*: analyses morphométrique, biochimique et énergétique. *Synthèse: Revue des Sciences et de la Technologie*, 18, 23-34.

TINE-DJEBBAR, F., BOUABIDA, H., & SOLTANI, N. (2011). Caractérisation morphométrique et biochimique de certaines espèces de moustiques inventoriées dans la région de Tebessa. *Bull. Soc. zool. Fr*, 136(1-4), 177-185.

Touati, D. (1985). *Contribution à la connaissance du profil biochimique des dicotylédones buissonnantes et arbustives de Méditerranée* (Doctoral dissertation, Lyon 1).

Toppo, S., Vanin, S., Bosello, V., & Tosatto, S. C. (2008). Evolutionary and structural insights into the multifaceted glutathione peroxidase (Gpx) superfamily. *Antioxidants & redox signaling*, 10(9), 1501-1514.

Trease, G. E., & Evans, W. C. (1983). Textbook of Pharmacognosy. (Balliere. Tindall, London, 57-59.

Tsimogiannis, D. I., & Oreopoulou, V. (2004). Free radical scavenging and antioxidant activity of 5, 7, 3', 4'-hydroxy-substituted flavonoids. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 5(4), 523-528.

V

Van der Bank, M., Fay, M. F., & Chase, M. W. (2002). Molecular phylogenetics of Thymelaeaceae with particular reference to African and Australian genera. *Taxon*, 51(2), 329-339.

Van Heudsen H; Candlaw JH. (1989)- An Insect transform particle promote lipid loading from fat body to lipoprotein J. Biad. CHEM. 264: 17287 -17292.

Vickery, J. R. (1980). The fatty acid composition of seed oils from ten plant families with particular reference to cyclopropene and dihydrosterculic acids. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 57(2), 87-91.

Vickery, J. R. (1981). The occurrence of dihydromalvalic acid in some seed oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 58(6), 731-732.

Villars, D.

(1807). Catalogue méthodique des plantes. F.G. Levrault, éditeur. Strasbourg. p103.

4.7.1.1 **Vernon, H., Heywood, R. K., Brummitt, A. C. and Seberg, O. (2007).** Flowering Plant Families of the World. Firefly Books: Ontario, Canada.

4.7.1.2

W

Weckbecker, G., & Cory, J. G. (1988). Ribonucleotide reductase activity and growth of glutathione-depleted mouse leukemia L1210 cells in vitro. *Cancer letters*, 40(3), 257-264.

Wilson, O. (1988). Biodiversité Washington D C National Academy press. Parasitologie. Ornithologia, Entomologia. Institute of ecology, Vilnius. ISSN 13926 .2.P3-18.

Y

Yanz, L. et Chunru, J. I. (1987). Chemical constituents and pharmacological actions of Thymelaeaceous plants. *Zhongcaoyao*, 18 (2) :80-89.

Yi-Zhong Cai , Mei Sun , Jie Xing , Qiong Luo , Harold Corke., (2006) .Structure–radical scavenging activity relationships of phenolic compounds from traditional Chinese medicinal plants. *Life Sciences* 78 (2006) 2872 – 2888

Yu, B. P. (1994). Cellular defenses against damage from reactive oxygen species. *Physiological reviews*, 74(1), 139-162.

Z

Zehnalek, J., Adam, V., & Kizek, R. (2004). Influence of heavy metals on production of protecting compounds in agriculture plants. *Listy Cukrovarnicke a Reparske*, 120(7-8), 222-224.

(Web) <https://www.preservons-la-nature.fr/flore/taxon/3774.html>