



République Algérienne Démocratique Populaire



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Echahid Cheikh Larbi Tébessi University -TEBESSA

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

Département : biologie appliqué

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la nature et de la vie.

Filière: Science Biologie.

Spécialité : Biologie moléculaire et cellulaire.

Effet toxique d'extrait hydro-méthanolique des fleurs de *Nerium oleander* sur la croissance et les compositions biochimique à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*.

Présenté par :

Mlle Salem Salsabil

Mlle Diaf Abla

Devant les jurys:

Dr. Djaleb Sihem	MCA	Université Chikh larbi Tébessi	Présidente
Pr. Bouabida Hayette	Pr	Université Chikh larbi Tébessi	Examinatrice
Dr. Dris Djemaa	MCA	Université Chikh larbi Tébessi	Prometteuse

Date de soutenance : 05/06/2023.

Remerciement

Remerciement Tout d'abord nous tenons à remercier **Dieu** de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terre notre formation de master et pouvoir réaliser ce travail de recherche.

Nous adressons le grand remerciement à notre encadrant **Dr, DRISS Djemaa** qui a proposé le thème de ce mémoire, pour ses conseils et ses dirigés du début à la fin de ce travail.

Un grand remerciement aux honorables membres du jury

Dr. DJALLAB Sihem (La Maman) d'avoir accepté la présidence du jury de notre travail, qu'elle trouve ici toutes nos expressions respectueuses.

Pr. BOUABIDA Hayette d'avoir accepté de faire partie des membres du jury.

Enfin nous remercions nos parents, nos familles et nos amis, ainsi que tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à l'achèvement de ce travail.

Merci



Dédicace

*Je dédie ce modeste travail
Aux deux êtres les plus chers au monde,*

*A mon père (Torki) Et Ma mère (Rezqallah Naoua) pour leurs aides, soutien
moral et leurs encouragements tout au long de mes années d'études, que Dieu les
protège.*

A Mes Sœurs : Meriem, Afra, Roumaissa, Lina et Tasnim.

A Mes Proche : INES, Rayen, Wilden, Nour.

A mes Lunes Oubay Aoues Abed Elberaa

Touts Mes Amis.



Salsabil

DEDICACE

*Tout au début, je tiens à remercier Allah de m'avoir donné du
courage et De patience*

Je dédie ce modeste travail à:

*L'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours
souhaité de nous voir réussir, à toi mon père **Abdelkader***

*A La femme par faite la source de mes efforts, ma vie et mon
bonheur la lumière de mes yeux; maman **Saïd tourkia** que j'adore.
Et j'espère que je puisse leur rendre le minimum de bonheur qu'ils
m'ont offert, et que Allah les protège et les garde à mes côtés*

*Mes chers frères **Abderahmen** et **Oulid** et Mes belles sœurs
Manelet Roumaïssa merci de m'avoir toujours aidé avec grand
plaisir tout le long de mes années d'études. Et les deux petites
princesses **Hibaet Ritel***

*À tous ceux qui par un mot, un sourire, m'ont donné la force de
réaliser ce modeste travail, je vous dis merci*

ABLA

Sommaire

Liste des Tableaux

Liste des Figures

ملخص

Résumé

Liste des Abréviations

Introduction

Matériels Et Méthodes

Description De Matériel Animal

1. Présentation de l'insecte

1.1_ Généralité sur les moustiques	
1.2_ Généralité sur Culcidae	
1.3_ Présentation de <i>Culex longiareolata</i>	
1.3.1_ Définition	
1.3.2_ Caractéristiques	
1.3.3_ Position Systématique	
1.3.4_ Cycle de développement	
1.3.5_ Caractères morphologique	
Œufs	
Larves	
Nymphe	
Adultes	
1.3.6_ Élevage au laboratoire.....	

Description De Matériel végétal

2_ Présentation de la plante

2.1_ Généralité sur les Apacynaceae	
1_1_ Préparation de genre <i>Nerium</i>	
1_2_ Espèce <i>Nerium oleander</i>	
1_2_1_ Classification	
1_2_2_ Description Botanique	
1_2_3_ Conditions de croissance	
1_2_4_ Répartition géographique	
1_2_5_ Composition Chimique	
1_2_6_ Utilisation Traditionnelles	

1_2_7_ Activités Biologiques
 Activité toxique
 Activité antibactérienne
 Activité fongique
 Activité insecticide

Résultats

Discussion

Conclusion

Liste des tableaux :

Tableau 1	Position systématique de <i>Culesita longiareolata</i> .
Tableau 2	Classification de <i>Nerium oleander</i> .
Tableau 3	Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.
Tableau 4	Effet de l'extrait hydro-méthanolique de <i>N. oleander</i> sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{sem}$, $n=4$).
Tableau 5	Effet de l'extrait hydro-méthanolique de <i>N. oleander</i> sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{sem}$, $n=4$).
Tableau 6	Effet de l'extrait hydro-méthanolique de <i>N. oleander</i> sur l'activité spécifique de catalase ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de <i>C. longiareolata</i> ($m \pm \text{sem}$, $n=4$).
Tableau 7	Extrait hydrométhanolique de <i>Nerium oleander</i> (CL_{25} et CL_{50}) sur le poids (mg) des larves du quatrième stade chez <i>Culiseta longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus). Comparaison des moyennes à différents stades pour une même série (lettres majuscules) et pour un même stade entre les différentes séries (lettres minuscules).
Tableau 8	Effet Extrait hydrométhanolique de <i>Nerium oleander</i> (CL_{25} et CL_{50}) sur la largeur du thorax (mm) des larves du quatrième stade chez <i>Culiseta longiareolata</i> ($m \pm \text{SD}$, $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus). Comparaison des moyennes à différents stades pour une même série (lettres majuscules) et pour un même stade entre les différentes séries (lettres minuscules).

Liste des figures :

Figure 1 : Cycle de développement.

Figure 2 : Les œufs de *Cs longiareolata*.

Figure 3 : Larve de Moustique du *Culesita longiareolata*.

Figure 4 : Aspect général de nymphe.

Figure 5 : Morphologie générale d'un Adulte.

Figure 6 : Cite délavage.

Figure 7: *Nerium oleander* (Laurier Rose).

Figure 8 : Poudre de *Nerium Oleander*.

Figure 9: Parties de *Nerium*.

Figure 10: Distribution géographique de *Nerium oleander*.

Figure 11 : Protocole d'extraction de *Nerium oleander*.

Figure 12 : Effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs.

Figure 13 : Effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase.

Figure 14 : Effet Extrait hydrométhanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur sur le poids (mg) des larves du 4^{ème} stades chez *Culiseta longiareolata*.

Figure 15 : Effet Extrait hydrométhanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur la largeur du thorax (mm) des larves du 4^{ème} stades chez *Culiseta longiareolata*.

Figure 16 : Effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en lipide (µg/individu) chez les larves 4 de *C. longiareolata*.

ملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى اختبار تأثير مستخلصات الميثانول *N.oleander* ضد نوع معين من البعوض يسمى *Culiseta longiareolata* في منطقة تيسا. تم اختبار مستخلص *hydromethanol* من *N. oleander* بتركيزات قاتلة CL50and CL25 على المرحلة الجديدة 4 يرقات *C. longiareolata* لمدة 24, 48 و 72 ساعة في ظل ظروف المختبر على النحو الذي أوصت به منظمة الصحة العالمية. تم فحص التأثيرات على البارامترات المورفومترية والتكوين الكيميائي الحيوي لليرقات L4 والمؤشرات الحيوية الإنزيمية. تظهر الدراسة المورفومترية أن مستخلص الميثانول المائي من *N.oleander* الذي تم اختباره يقلل من نمو يرقات L4.

بالإضافة إلى ذلك، أظهرت قياسات الإنزيم التي أجريت على يرقات L4 المعالجة CL50 CL25 تحفيزًا لنظام إزالة السموم كما يتضح من زيادة نشاط ضريبة السلع والخدمات والكتالاز. بشكل عام، تشير نتائجنا إلى أن مستخلص *N. oleander* للميثانول المائي لديه القدرة على تطوير منتجات مراقبة جديدة آمنة.

الكلمات الرئيسية: مستخلص هيدرو ميثانول. *C. longiareolata*، *N. oleander*، المبيدات الحشرية المؤشرات الحيوية، قياس الشكل، التركيب الكيميائي الحيوي.

Résumé :

Cette étude vise à tester l'effet des extraits méthanolique de *N.oleander* contre un type spécifique de moustique appelé *Culesita longiareolata* à la région de Tébessa. L'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* ont été testé à concentrations létales CL₅₀et CL₂₅ sur les larves de stade 4 nouvellement exuvies de *C. longiareolata* pendant 24h, 48h et 72h les conditions du laboratoire selon les recommandations de l'organisation mondiale de la santé. Les effets ont été examinés sur les paramètres morpho-métriques et la composition biochimique des larves L4 et les bio-marqueurs enzymatiques. L'étude morpho-métrique montre que l'extrait hydro-méthanolique de *N.oleander* testée diminue la croissance de développement des larves L4.

Par ailleurs, Les mesures enzymatiques réalisées sur des larves L4 traitées CL50 et CL25 ont révélé une stimulation du système de détoxification comme en témoignent une augmentation de l'activité des GSTs et de la catalase. Dans l'ensemble, nos résultats indiquent que l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* a un potentiel pour le développement de nouveaux produits de contrôle sûrs.

Mots clés: Extrait hydro-méthanolique. *C. longiareolata*, *N. oleander*, insecticides Bio-marqueurs, Morphométrie, Composition biochimique.

Abstract:

This study aims to test the effect of *N.oleander* methanol extracts against a specific type of mosquito called *Culiseta longiareolata* in the Tebessa region. The hydromethanol extract of *N. oleander* was tested at lethal concentrations CL₅₀ and CL₂₅ on the newly exuviated stage 4 larvae of *C. longiareolata* for 24, 48 and 72 hours under laboratory conditions as recommended by the World Health Organization. Effects were examined on morphometric parameters and biochemical composition of L4 larvae and enzymatic biomarkers. The morpho-metric study shows that the hydro-methanol extract of *N.oleander* tested decreases the development growth of L4 larvae.

In addition, enzyme measurements performed on L4 larvae treated with CL₅₀ and CL₂₅ showed a stimulation of the detoxification system as evidenced by an increase in the activity of GSTs and catalase. Overall, our results indicate that the *N. oleander* hydro-methanol extract has potential for the development of safe new control products.

Keywords: Hydromethanol extract. *C. longiareolata*, *N. oleander*, insecticides Bio-markers, Morphometry, Biochemical composition.

Introduction

I. INTRODUCTION

Plusieurs maladies, tropicales ou non, sont causées ou transmises par des arthropodes (**Clark et al., 2019**). Les arthropodes sont les invertébrés qui constituent le plus grand groupe du règne animal. Celles-ci les animaux peuvent être facilement reconnus et différenciés en différents types en raison de leur distincte externe apparence corporelle ou morphologie (**Sebastian et Gautam., 2021**). La grande famille des arthropodes comprend les insectes et certains invertébrés (**Clark et al., 2019**). Les insectes sont indispensables au bon fonctionnement de tous les écosystèmes, malgré que la plupart sont inoffensifs, et certains insectes ont un intérêt économique, mais d'autres tels que les diptères hématophages ont des implications sur la santé humaine et animale (**Baali et al., 2020**).

En 1878, les moustiques sont les premiers arthropodes officiellement introduits comme hôtes intermédiaires de parasites vertébrés. Cependant, ils sont maintenant reconnus comme les arthropodes les plus importants affectant la santé humaine (**Khaligh et al., 2020**).

Les moustiques enfin appartiennent à la famille des Culicidae. Cette famille regroupe actuellement environ 3500 espèces différentes, regroupées en deux sous-familles : les Anophelinae et les Culicinae (**Duvallet et Chabasse, 2020**).

Culiseta longiareolata est l'espèce commune dans la région de Tébessa puisqu'elle est présente toute l'année avec un maximum au printemps dans les hauts plateaux, alors que dans les régions sahariennes, elle est plutôt hivernale et printanière (**Tine-Djebbar et al., 2016**).

Les œufs sont pondus en touffes à la surface des plans d'eau stagnants, tels que les piscines, les fossés, les réservoirs d'eau et les vases (**Jang et al., 2020**).

Les moustiques causent des désagréments par leurs piqûres, ainsi que la transmission de maladies mortelles (**Foster et Walker, 2019**). Elles sont les ravageurs les plus importants et causent plusieurs maladies infectieuses. (**Al-Solami., 2021**).

Les infections à arbovirus transmises par les moustiques telles que le chikungunya, la dengue, la fièvre jaune et le Zika sont devenues l'un des plus grands problèmes de santé publique de ces dernières décennies, menaçant plus de la moitié de la population mondiale. (**Yen et al, 2020**).

Les maladies véhiculées par les moustiques affectent l'économie, entraînant une perte de rendement des entreprises et du travail, en particulier dans les pays aux atmosphères marine et tempérée ; cependant, n'importe où dans le monde est sujet aux infections à transmission vectorielle (**Azeem et al., 2019**).

De plus, la plupart de ces maladies, telles que la fièvre du Nil occidental, l'encéphalite de Saint-Louis et la filariose lymphocytaire, ne peuvent être prévenues par la vaccination humaine **(Rehman et al, 2019)**.

Le contrôle des maladies transmises par les moustiques repose principalement sur l'utilisation d'outils à base d'insecticides **(Cohuet, 2019)**.

La lutte anti vectorielle actuelle et leur résistance à certains composés est une méthode extrêmement pertinente pour minimiser la transmission des agents pathogènes par les moustiques. Par conséquent, limiter l'impact des maladies transmises par les moustiques est un objectif important pour les agences mondiales de santé publique. Pour le contrôle des culicidés, plusieurs méthodes ont été utilisées, qui entraînent une réduction de la densité de population, une réduction de la durée de vie ou un obstacle au contact avec l'utilisation de composés répulsifs **(Da Silva et al., 2020)**.

Les composés répulsifs contre les moustiques fonctionnent généralement en entravant la capacité de la femelle moustique à reconnaître les stimuli externes (par exemple, le dioxyde de carbone, la vapeur d'eau et la chaleur) qu'elle utilise pour repérer un hôte **(Azeem et al., 2019)**.

Cependant, l'utilisation de telles méthodes de lutte anti vectorielle réduit l'aptitude des moustiques et, en réponse, ils ont développé des mécanismes de résistance menaçant l'efficacité continue des stratégies à base d'insecticides **(Cohuet, 2019)**.

la lutte chimique est généralement considérée comme la première méthode de choix **(Fukrukxa et al.,2017)**, et dépendent de l'utilisation d'insecticides chimiques, mais l'utilisation fréquente de ces pesticides affecte négativement les organismes bénéfiques et non ciblés, et la capacité de ces produits chimiques à s'accumuler dans les chaînes alimentaires dans ce qu'on appelle la bioamplification provoque des dommages à l'environnement et la survenue de problèmes de santé graves problèmes **(Alghamdi, 2021)**.

Ainsi, le déclin documenté des insectes entraînera non seulement une perte de biodiversité, mais menacera également l'agriculture et la sécurité alimentaire. Alors que le déclin des populations d'insectes est causé par de nombreux facteurs de stress anthropiques, l'utilisation de produits agrochimiques est clairement un facteur important de ce déclin **(Siviter et Muth, 2020)**.

Tous ces facteurs ont conduit à limiter l'utilisation de ces produits chimiques et la recherche de moyens alternatifs de lutte contre les ravageurs, qui sont sans danger pour l'homme et l'environnement **(Alghamdi, 2021)**.

Les insecticides d'origine végétale ont été testés pour être spécifiques dans leur action contre les insectes cibles et sont non toxiques pour l'écosystème et l'homme par rapport aux composés chimiques et ils ont démontré de bonnes activités insecticides et répulsives contre les moustiques. Un plus grand nombre de population humaine dans ce monde d'environ 80% dépend

en grande partie des plantes pour son contrôle sanitaire des maladies infectieuses et non infectieuses (**Bukar et al., 2019**).

Les extraits de plantes sont biodégradables, non dangereux et se sont avérés actifs contre un certain nombre d'insectes nuisibles. A l'avant-garde, il se concentre également sur l'utilisation commerciale d'extraits de plantes en tant que puissants agents de lutte contre les insectes. Par la suite, les métabolites secondaires dérivés des plantes sont responsables de la défense pour survivre contre la pression de sélection des herbivores prédateurs et de différents facteurs environnementaux. Il existe un certain nombre de groupes de composés phytochimiques tels que les alcaloïdes, les terpénoïdes, les stéroïdes, les composés phytochimiques et les huiles essentielles extraites de diverses plantes ne sont pas aussi efficaces que les insecticides (**Zulhussnain et al., 2020**).

Par conséquent, les extraits de plantes sont de plus en plus acceptés pour fournir des majors alternatives dans le vecteur contrôle des maladies et des arbovirus en raison de leur non toxicité, de leur spécificité et de leur innocuité pour la l'environnement et l'écosystème et ont moins d'effets sur la flore et la faune (**Bukar et al., 2019**).

L'objectif de notre étude consiste à déterminer le mode d'action de l'extrait hydro-méthanolique de *Nerium oleander* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* par le dosage des bio-marqueurs enzymatique tel que : GST et la catalase et le dosage des métabolites primaires tel que : les protéines, les glucides et les lipides.

Matériels et méthodes

II. Matériels et méthodes

1. Présentation de l'insecte

1.1. Généralité sur les moustiques

Une vie sans moustiques, ce serait le bonheur ! Plus de bzzz agaçant. Plus de piqûres qui grattent. Et surtout, plus de dengue ou de paludisme, ces maladies transmises par les moustiques, qui tuent, chaque année, des centaines de milliers de personnes ! En été, les moustiques sont de sortie. C'est bien connu, ce sont des petits prédateurs assoiffés de sang. On connaît les raisons pour lesquelles ils nous piquent, mais beaucoup moins celles pour lesquelles ils sont attirés par notre sang. Dali Lama a dit « si vous avez l'impression d'être trop petit pour pouvoir changer quelques chose ; essayer de dormir avec un moustique et verrez lequel des deux empêche l'autre de dormir » (**Merabti 2021**).

Les moustiques sont bien connus comme des nuisibles gênants, l'agacement des moustiques vient de habitude alimentaire mordante et tonalités produites par le battement de leurs ailes. De plus, les moustiques ont été transmis de nombreux agents pathogènes mortels comme le paludisme, la filariose et les arbovirus tels que le virus Zika (**Allo et Mekhlif, 2019**).

Les maladies transmises par les moustiques représentent un problème de santé mondial croissant, menaçant plus de 40 % de la population mondiale et on s'attend à ce que près de la moitié de la population mondiale soit à risque de transmission d'arbovirus d'ici 20501 (**Baz et al., 2022**).

1.2. Généralités sur les Culicidae

Les moustiques, de la famille des Culicidae, appartiennent à l'ordre des diptères, les mouches à deux ailes (**Harbach, 2013**), cette dernière est répartie en trois sous familles: Anophelinae, Culicinae et Toxorhynchitinae, Un total de 3 588 espèces de moustiques est dénombré à travers le Monde (**Oussad, 2020**). La famille est un groupe important et abondant qui se produit dans les régions tempérées et tropicales du monde, et bien au-delà du cercle polaire arctique (**Harbach, 2013**), il existerait cinquante-trois espèces appartenant à sept genres en Algérie, répertoriées en deux sous-familles Culicinae et Anophelinae, incluant quinze espèces du genre *Aedes*, quinze espèces du genre *Anopheles*, quatorze espèces appartenant au genre *Culex*, cinq espèces du genre *Culiseta*, deux espèces pour *Coquillettidia* et une espèce chacune pour *Uranotaenia* et *Orthopodomyia* (**Merabti et al., 2021**)

Les Anophelinae se reconnaissent au niveau des œufs par des flotteurs caractéristiques, au niveau des larves par l'absence de siphon à l'extrémité abdominale, et les adultes ont des palpes maxillaires longs dans les deux sexes. Chez les Culicinae, les larves ont un siphon bien

développé à l'extrémité abdominale, et mâles et femelles ont des palpes maxillaires courts. Les entomologistes reconnaissent quarante-trois genres différents de moustiques dont quarante appartiennent à la sous-famille des Culicinae (**Duvallet et Chabasse, 2022**).

1.3. Présentation de *Culiseta longiareolata*

1.3.1. Définition

Culiseta longiareolata est une espèce de la famille des Culicidae, de la sous-famille des Culicinae. (**Khaligh et al., 2020**), largement répandu, elle est dotée d'une grande plasticité écologique. (**Oussad, 2020**), Elle est capable de se développer dans des gîtes différents). Cette Dernier multivoltine, thermophile et ornithophile est répartie en Europe, en Asie et en Afrique, ainsi qu'en mer Méditerranée, Il se développe principalement dans de petits plans d'eau, et les adultes peuvent pénétrer dans les maisons et attaquer les humains (**Khaligh et al., 2020**). Elle est le principal vecteur du paludisme aviaire et de divers arbovirus. Il peut également être le vecteur de nombreuses maladies humaines (brucellose, grippe aviaire, encéphalite du Nil occidental (**Bouabida et Dris, 2022**).

Les femelles de l'espèce de moustique *Culiseta longiareolata* évitent de pondre dans les bassins qui contiennent le rétro-nageur *Notonectamaculata*, qui se nourrit de ses larves. Confrontées à un choix entre un nombre égal de bassins avec prédateurs et sans prédateurs, ≈90% des femelles pondent dans les bassins dépourvus du prédateur (**Kiflawi et al., 2003**)

1.3.2. Caractéristiques

- ✚ Cette espèce est multivoltine et présente un large éventail de distribution dans les zones chaudes.
- ✚ *Cs. longiareolata* présente une variété de caractéristiques d'adaptation et de survie.
- ✚ Les larves du premier et du deuxième stade sont situés dans les zones peu profondes des étangs, tandis que les larves du troisième et quatrième stade, ainsi que les chrysalides, se trouvent au-dessus des zones plus profondes des étangs. (**Touahria, 2021**).
- ✚ Cette espèce présente une grande aptitude à coloniser des biotopes naturels ainsi que les gîtes artificiels, différents par leurs caractéristiques physiques (**Benhissen et al., 2018**).
- ✚ *Culiseta*, et ses caractères morphologiques comprennent des rayures blanches et des pointes sur les pattes, la tête et le thorax (**Khaligh, 2020**).
- ✚ Elle à une taille qui varie de 3 à 5 mm possède un corps mince et des pattes longues et fines avec des Ailes membraneuses, longues et étroites (**Merkhi et Maifi, 2020**).

1.3.3. Position systématique

La position systématique de *Cs. longiareolata* selon (Aitken, 1954) dans le tableau suivant :

Tableau 1

Règne	Animalia
Sous - règne	Metazoa
Embranchement	Arthropoda
Embranchement	Hexapoda
Superclasse	Protostamia
Classe	Insecta
Sous-classe	Pterygota
Ordre	Diptera
Infra-ordre:	Culicomorpha
Sous-ordre	Nematocera
Famille	Culicidae
Sous-famille	Culicinae
Genre	<i>Culiseta</i>
Sous-genre	<i>Allotheobaldia</i>
Espèce	<i>Cs. longiareolata</i> (Aitken, 1954)

1.3.4. Cycle de développement

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze (12) à vingt (20) jours et comprend quatre (4) stades : l'œuf, la larve, la nymphe (pupe) et l'adulte. Cette métamorphose se déroule en deux phases, une phase aquatique et une phase aérienne (**Matoug, 2018**). Les adultes ou imago, sont aériens alors que les œufs, les larves et les nymphes constituent les stades pré-imaginaux et vivent dans l'eau douce le plus souvent ou parfois saumâtre (**Driss, 2019**).

Après l'éclosion des œufs, quatre stades larvaires aquatiques séparés par trois mues successives ont lieu. A l'issue de ces quatre stades larvaires une nymphe est formée, lorsqu'elle arrive à maturité, son tégument se fend à une extrémité, livrant passage à un moustique adulte complètement développé. Le jeune imago émerge et reste immobile au cours des premières heures, afin que le durcissement de la cuticule et le déploiement des ailes s'opèrent (**Oussad, 2020**).

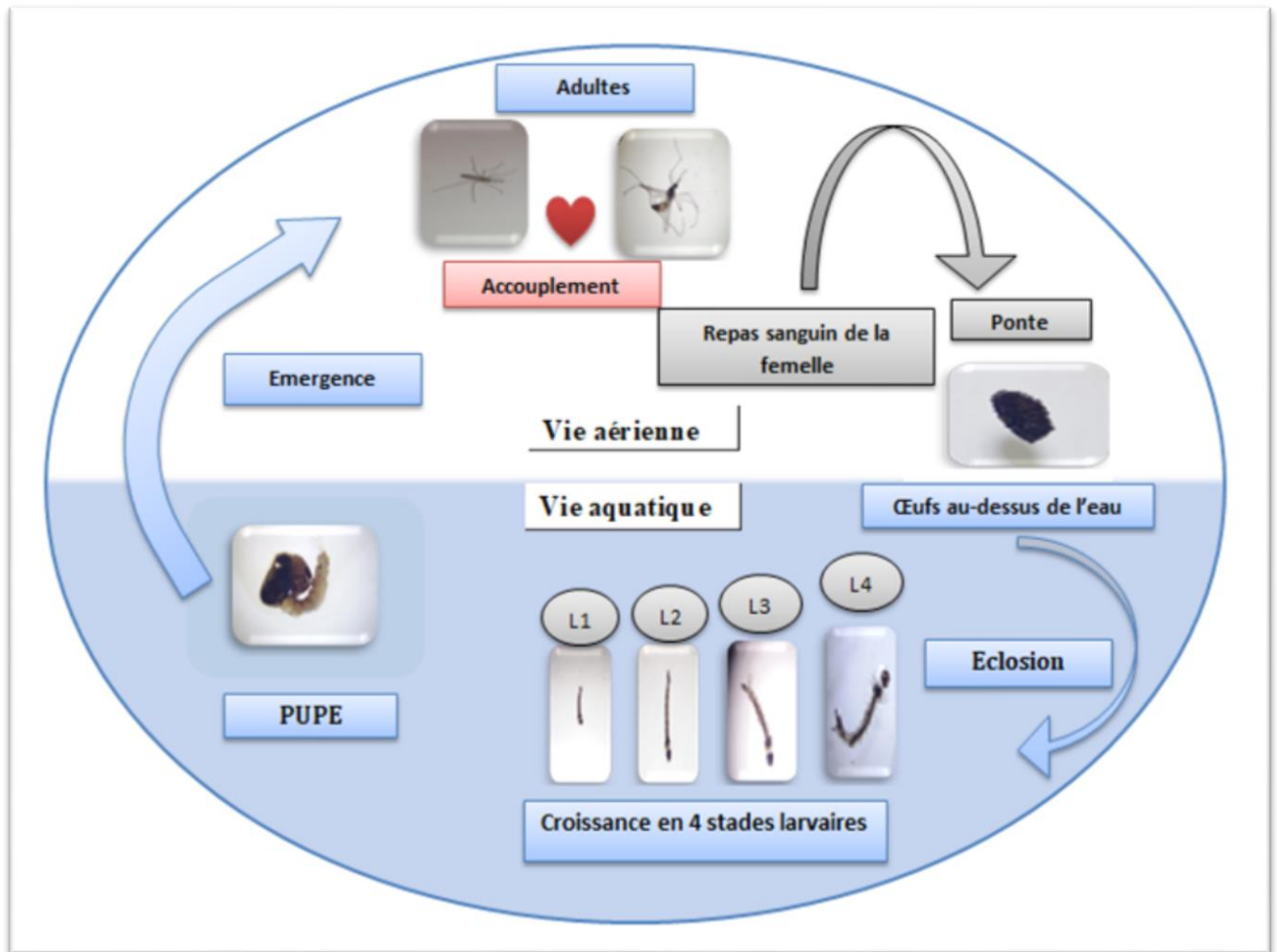


Figure 1 : Cycle de développement de *Culiseta longiareolata*. (Salsabil , Abla).

1.3.5. Caractères morphologiques

_ **Œuf (nacelle)** : Suite à l'accouplement qui a eu lieu peu de temps après l'émergence des adultes, les femelles fécondées déposent entre 200 et 400 œufs, perpendiculairement à la surface de l'eau. Les œufs, sous forme cylindrique et de couleur blanchâtre au moment de la ponte, deviennent grisâtre ou noirâtre après quelque heures. Cette coloration est due à l'oxydation de certains composants chimiques de la thèque au contact de l'eau ou l'air (Driss, 2019). L'œuf des moustiques est généralement fusiforme et mesure environ 0,5 mm (Oussad, 2022).

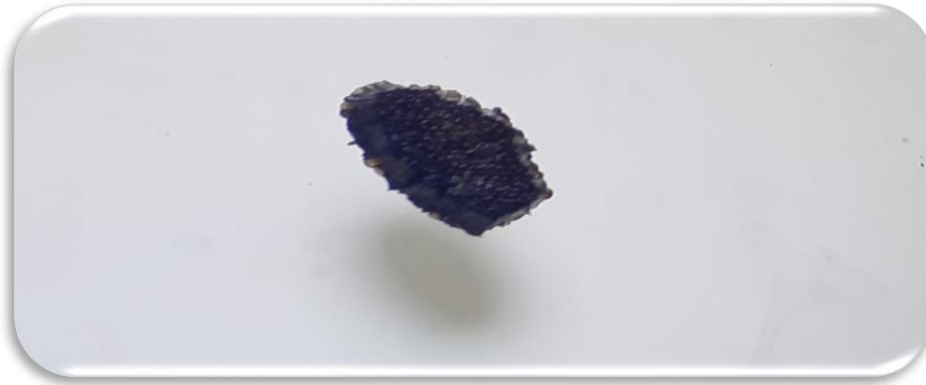


Figure 2 : Les œufs de *Cs. longiareolata*. (Salsabil , Abla).

_ **Larve :** La larve passe par 4 stades de développement : L1, L2, L3 et L4, séparés par une mue, lui permettant de passer d'environ 2 à 12 mm. Les larves sont mobiles et respirent à la surface de l'eau par l'intermédiaire d'un siphon respiratoire situé à l'extrémité de l'abdomen, Elles se déplacent par saccades et se nourrissent de divers micro-organismes (particules Matériel et méthodes 5 végétales, bactéries et levures) (**Driss, 2019**).

Le corps de la larve est apode et se divise en trois segments : tête, thorax trapus et abdomen (**Fig. 3**). Bien dégagée du thorax, la tête est capable d'effectuer une rotation de 180° autour de son axe, formée de 3 plaques chitineuses unies par des sutures, elle porte dorsalement une paire d'antennes, deux paires d'yeux et vent râlément deux palpes maxillaires ainsi que les pièces buccales (**Oussad, 2020**).

Le thorax comprenant 3 segments fusionnés et l'abdomen pourvu de 9 segments : le dernier segment abdominal est courbé vent râlément à son extrémité postérieure où se situe l'anus. Après chaque mue, la larve se fixe à proximité de l'exuvie abandonnée et au terme de cette période se métamorphose en nymphe. (**Driss, 2019**).



Figure 3: Larve de moustique du *Cs. longiareolata* (Salsabil, Abla)

_ **Nymphe** : La nymphe est une pupe mobile en forme de virgule, son corps comprend deux parties: le céphalothorax et l'abdomen (**Fig.4**). La tête et le thorax sont regroupés en céphalothorax globuleux, surmonté de deux trompettes respiratoires, leurs rebords hydrophobes dépassant la surface de l'eau, sont connectés aux spiracles méso-thoraciques des adultes en développement pour fournir de l'oxygène, sans dit que son abdomen, segmenté, se termine par deux palettes natatoires (**Oussad, 2020**)

Le stade nymphal est un stade de transition au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de très profondes transformations morphologiques et physiologiques qui l'amènent du stade larvaire, aquatique et saprophyte, à la forme adulte, aérienne et habituellement hématophage chez les femelles. A la fin de ce stade, le tégument se dessèche alors au contact de l'air et il se forme une déchirure en T sur sa face dorsale sous l'effet de l'augmentation de la pression interne. Par cette ouverture, le moustique adulte dégagera successivement son thorax, sa tête, ses pattes, son abdomen, abandonnant dans l'eau l'exuvie nymphal. Ce phénomène de l'émergence dure environ 15 minutes durant lequel l'insecte se trouve exposé sans défenses à de nombreux prédateurs de surface (**Driss, 2019**).



Figure 4: Aspect général de Nymphe (Salsabil , Abla).

_ **Adulte** : L'adulte, une fois métamorphosé, provoque une cassure au niveau de la tête nymphale et émerge à la surface de l'eau. Les mâles atteignent leur maturité sexuelle au bout d'un jour alors que les femelles l'atteignent au bout de 1 à 2 jours, et elles sont plus grandes que les mâles issus d'une même émergence (**Djabri, 2021**). Ils sont des insectes minces et relativement petits, qui mesurent habituellement environ 3-6 mm de longueur (**Messai, 2017**). Les adultes comme tous les diptères, possèdent une seule paire d'ailes membraneuses longues et étroites pourvues d'écaillés le long de ses nervures, repliées horizontalement au repos. La deuxième paire est réduite à une paire de balanciers. Ils possèdent un corps mince qui se divise en trois parties : la tête, le thorax, et l'abdomen. Au niveau de la tête, l'imago se

différencie des autres familles de diptères par des antennes longues, fines et articulées. (Dris, 2019).



Figure 5 : Morphologie générale d'un adulte (Abla, Salsabil).

1.3.6. Elevage au laboratoire :

Les larves de moustiques *Culiseta* ont été récoltées au cours du mois (avril) 2023 à différents régions de la ville de Tébessa, Hammamet, Boulahaf El Deir et Ain Zarrouk.



Figure 6 : Cite Délavage (Abla, Salsabil).

Les larves sont élevées au laboratoire dans des gobelets en plastique contenant 150 ml d'eau déchlorurée et nourries avec 0,04 g du mélange préparé par 75% biscuit et de 25% levure, à température ambiante, avec le renouvellement de l'eau chaque deux jours.

Le régime alimentaire joue un grand rôle dans la fécondité car les protéines permettent à la femelle de pondre plus d'œufs par rapport aux femelles nourries de sucre seulement (Dris, 2019).

2. Présentation de la plante (*Nerium oleander*)

Le matériel végétal utilisé dans cette étude est constitué des fleurs des plantes « *Nerium oleander* » a été récolté l'octobre 2023 de la région de Tébessa (fig. 7).



Figure 7: *Nerium oleander* (laurier rose). (Salsabil ,Abla).

Les fleurs ont été séchées à température ambiante pendant 15 jours et broyées dans un moulin à poudre électrique. La poudre est conservée dans une boîte à l'abri de l'humidité pour l'extraction (fig. 8)



Figure 8 : Poudre de *Nerium oleander* (Abla, Salsabil).

2.1. Généralité sur Apocynaceae

Apocynaceae est l'une des plus grandes familles du règne végétal (**Bhadane et al., 2018**).

Famille Apocynaceae, qui est connu comme la famille des chiens est composés d'arbres, d'arbustes ou de vignes, et rarement d'arbres herbes, avec du latex ou rarement du jus aqueux. Cette famille qui appartient à l'ordre Gentianales, comprend historiquement sur 155 genres et 2000 espèces répartis principalement sous les tropiques et subtropicaux, et existent rarement dans les régions tempérées (**Madani, 2017**).

Les espèces d'apocynacées allaient des arbustes aux arbres. Les traits caractéristiques de ces plantes comprennent des fleurs colorées et des feuilles opposées. Traditionnellement, les espèces de cette famille ont été utilisées pour le traitement de la fièvre, du paludisme, des affections gastro-intestinales, du diabète et de la douleur. De plus, certaines espèces ont montré des activités antiplasmodiales et anticancéreuses (**Mohammed et al., 2021**).

2.2. Définition de *Nerium* :

Le genre *Nerium* regroupe dans le monde deux espèces :

- *Nerium oleander* L.
- *Nerium indicum* Mill.

Nerium est un genre de plante de la famille des Apocynaceae . Ce genre ne comprend qu'une espèce: le Laurier-rose (*Nerium oleander*). Ses nombreuses fleurs rougeâtres en font un vrai atout décoratif. Néanmoins, il faut faire attention, car toutes les parties de cette plante sont toxiques voire fatales si ingérées, même en petite quantité (<https://www.picturethisai.com/fr/city>).

2.3. Espèce *Nerium oleander* :

Nerium oleander est une plante qui est fréquemment cultivé dans les jardins et les espaces publics. Distribué à l'origine en Asie subtropicale, mais est maintenant en croissance dans de nombreuses régions du monde, comme les États-Unis, États, Australie, Chine et pays du Moyen-Orient (**Farkhondeh et al., 2020**). Elle est l'une des plantes les plus toxiques connues dans le monde. Les plus importantes de ces toxines sont l'oléandrine et la narine, qui sont des glycosides cardiaques. L'ingestion de cette plante peut affecter le système gastro-intestinal, le cœur et le système nerveux central. (**Farooqui et al., 2018**).

Cette herbe est populaire avec des fleurs de différentes couleurs et est idéale pour les zones sèches.

Le large éventail d'activités biologiques de divers constituants extraits de différentes parties de la plante a été documenté dans un rapport traditionnel sur l'activité antimicrobienne

de ses constituants et produits, notamment l'écorce, le jus des feuilles, les fleurs, le latex et les feuilles (Abdou, 2019).

Cette plante est connue sous de nombreux noms dans le monde, notamment :

Adelfa, Baladre, Cascabela thevetia, Cerbera thevetia, Common Oleander, Exile Tree, Huang Hua Jia, Jia Zhu Tao, Kaner, Karvir, Karvira, Laurel Rosa, Laurier-Rose, Laurier Rose, Laurose, Nérier à Feuilles de Laurier, Nérion, Nerium indicum, Nerium Oleander, Nerium odorum, Oleander blatter, Oleandre, Oleandri folium, Rose Bay, Rose Laurel, Sweet Scented Oleander, Thevetia neriifolia, Thevetia peruviana, Yellow Oleander (Farooqui *et al.*, 2018).

2.3.1. Description botanique

Les lauriers-roses sont des arbustes ou des petits arbres à fleurs, à port dressé, au feuillage persistant en forme de fer de lance, allongé.

Nerium est une plante tolérante à la sécheresse et appartient à la famille des apocynacées. Les feuilles sont de 5 à 20 cm de long, acuminées ou aiguës, rapidement pétiolées, étroite, avec une lame coriace vert foncé. Les fleurs sont produites en grappe terminale d'environ 5 cm de diamètre avec cinq pétales et différentes couleurs varient de lilas, saumon, carmin, rose foncé à rose pâle, pourpre, cuivre, abricot, orange, blanc et jaune. Ses fleurs sont parfumées, en forme d'entonnoir et disposés en grappes au Pointe des rameaux (Sinha *et al.*, 2016), Le fruit est une gousse étroite contenant de nombreuses graines à poil soyeux (Abdou *et al.*, 2019) se compose d'un follicule étroit de 7,5 à 17,5 cm de long et s'ouvre pour disperser graines pelucheuses (Sinha *et al.*, 2016).



(Fig. 9) Parties de *Nerium*

2.3.2. Classification

(Al-Snafi, 2020)

Tableau 2

Règne	Plantae
Sous-règne	Viridiplantae
Infra-règne	Streptophyta
Superdivision	Embryophyta
Division	Tracheophyta
Subdivision	Spermatophytina
Classe	Magnoliopsida
Superorder	Asteranae
Ordre	Gentianales
Famille	Apocynaceae
Genre	<i>Nerium</i>
Espèce	<i>Nerium oleander</i>

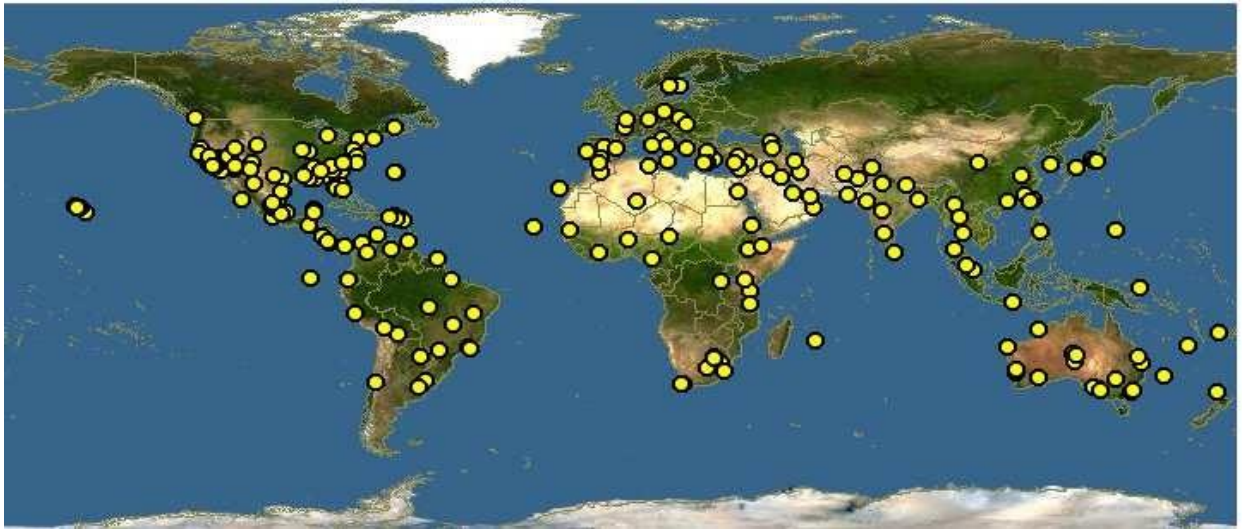
2.3.3. Conditions de croissance

Nerium oleander est un arbre ou arbuste sclérophylle qui subsiste jusqu'à 6 m de hauteur. Selon les conditions locales. Il est distribué dans des lieux géographiques très différents dans Bassin méditerranéen (Semiz, G. 2017). S'épanouissent de fin juin à début septembre (Zitouni, 2019). Aussi :

- Le laurier-rose préfère une exposition ensoleillée pour ses branches et fleurs.
- Son sol doit être fertile : prévoir un apport d'engrais complet toutes les deux semaines durant toute sa période de floraison.
- Arroser régulièrement les jeunes sujets en période de croissance. Les arrosages réguliers sont primordiaux.
- Stimuler sa floraison en supprimant régulièrement les fleurs fanées. (<https://www.rustica.fr/arbres-et-arbustes/laurier-rose,3005.html>).

2.3.4. Répartition géographique

Serait originaire de l'Asie du Sud-est et Est, très répandu en Arabie, Pakistan, Chine, Iran, Inde, Japon et est cultivé sur la côte atlantique. Il s'est répandu dans des pays du pourtour du bassin méditerranéen dans les lieux humides le long des rivières jusqu'à 2000 m d'altitude et dans des régions au climat méditerranéen ou Subtropical. En Algérie, *N. oléandre* se trouve sur les alluvions et les terrains rocailloux, le long des oueds, dans le Sahara du Nord et dans les montagnes du Tassili et du Hoggar (ZAID, 2021).



(Figure 10) : Distribution géographique de *Nerium oleander* dans le monde (<https://www.discoverlife.org/>).

2.3.5. Composition chimique

Le laurier-rose est une plante toxique dont toutes les parties sont très toxiques (présence d'hétérosides cardiotoniques).

Les études phytochimiques effectuées sur le *N. oléandre* ont permis d'isoler un grand nombre de métabolites secondaires tels que les cardénolides, tritèrènes, prégnanes, flavonoïdes, coumarines et des dérivés stéroïdiques. Une trentaine de cardénolides ont été séparés ou caractérisés, majoritairement représentés par l'oléandrine, les odorosides et l'adigoside (Guerdouh *et al.*, 2017).

Les feuilles renferment environ 1,5% de cardénolides, dont 0.1% d'oléandrine ou 3- α -Loléadrosyl-16- acétylgitoxigénine. Les graines renferment de l'oléandrine et des composés voisins : odorosides, adigoside, gluco-strospéside, etc (Khoulood *et al.*, 2017).

2.3.6. Utilisation traditionnelles

Le Laurier rose est un arbuste très répandu dans le monde qui pousse au niveau des zones humides. Ces principes actifs sont les hétérosides stéroïdiques cardénolides, dont l'Oléandrine qui constitue le principal hétéroside responsable de ses propriétés toxiques. Son utilisation en application locale est courante en médecine alternative, pour de nombreuses affections, notamment la gale, les hémorroïdes, les furoncles et la chute de cheveux. Chez notre patient, l'indication de l'utilisation de cette plante était pour des lésions d'acné du visage. L'anamnèse n'a pas révélé la notion d'exposition à un autre allergène (Daflaoui *et al.*, 2021).

Aussi elle a des propriétés thérapeutiques : antidiabétique, diurétique et cardiotonique. Son latex est utilisé contre les verrues. Les fruits, les rameaux, les feuilles et les fleurs étaient employés contre les maladies de l'utérus et les hémorroïdes. Comme toutes les parties de la plante sont toxiques, elle peut être utilisée comme insecticide (Zitouni Meriem, 2019).

2.3.7. Les activités biologiques

Malgré sa grande toxicité, *Nerium Oleander* a montré une activité antibactérienne, antimicrobienne, anti-inflammatoire, antinociceptive et anti-tumorale il est utilisée même contre les problèmes cardiaques, l'asthme, l'épilepsie, le cancer, les menstruations douloureuses, la lèpre, le paludisme, la teigne, l'indigestion et les maladies vénériennes, ainsi que les médicaments dérivés de cette plante sont utilisés dans le traitement du cancer (Farooqui *et al.*, 2016).

_ **Activités toxique :** *Nerium oléandre* a historiquement été mesurée une plante toxique depuis certains de ses composés peuvent présenter une toxicité, en particulier dans animaux, lorsqu'ils sont consommés en grandes quantités. Parmi ces composés sont Oléandrine et oleandrigénin, connu sous le nom glycosides cardiaques, qui sont connus pour avoir une étroite indice thérapeutique et peut être toxique lors de l'ingestion (Bamola *et al.*, 2018).

L'empoisonnement peut être causé par l'ingestion d'une seule feuille verte ou séchée qui peut s'avérer mortelle pour un adulte. Les premiers signes de l'intoxication : inconscience, irritation de muqueuses, nausées, vomissement, douleurs abdominales, diarrhée, polypnée, troubles cardiaques graves, brûlure de la peau parfois signalée chez les sujets sensibles (Khoulood *et al.*, 2017).

_ **Activités antibactérienne** : En 2016, Minnata montré que le traitement local de plaie par l'extrait aqueux de *N.Oleander* a induit une guérison complète et sans complication au bout de 6 à 7 jours par rapport à l'antibiotique local fuscine en pommade.

Ainsi, les extraits aqueux des feuilles de *N. Oleander* ont une activité inhibitrice contre les bactéries gram-positives et gram-négatives, qui indique la présence de composés antimicrobiens (Minnat, 2016).

_ **Activités Fongique** : Ont rapporté que l'extrait chloroformique de racine de *Nerium* a réduit la croissance du champignon à son maximum, suivi par l'extrait cétonique. L'extrait chloroformique de feuilles a montré la meilleure activité antifongique suivi par les extraits méthanolique, acétonique et éthanolique. En comparant l'activité de feuilles et de racines, les racines se sont avérées être les plus efficaces pour réduire la croissance du champignon (Siddiqui *et al.*, 2016).

_ **Activité insecticide** : L'utilisation des insecticides de synthèse, de plus en plus réglementée pour la protection de l'environnement, est à l'origine de nombreux cas de résistance chez les insectes (Tchoumboungang *et al* (2009).

3_Préparation de l'extrait méthanolique de *Nerium oleander*

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

La macération consiste à laisser les plantes dans un solvant approprié à température ambiante pendant un certain temps. Le résidu après décantation est appelé marc et le produit est appelé macéré.

L'extrait méthanolique de plant« *Nerium oleander* a été préparé comme suit :

- ❖ Nous avons trempé 50 grammes de poudre des fleurs dans un solvant hydro_methanolique (350ml méthanol plus 150ml d'eau distillée).
- ❖ Puis, agitation le mélange pendant 24h à température ambiante, Les macéras sont récupérés puis filtrés à l'aide d'un entonnoir muni d'un papier filtre.
- ❖ Ensuite, Les filtrats sont évaporés par rotavapor pour séparer totalement le solvant de l'extrait
- ❖ À la fin, la quantité de l'extrait sec obtenu est pesée pour le calcul du rendement. Puis stocké dans un flacon stérile en verre jusqu'à son utilisation.

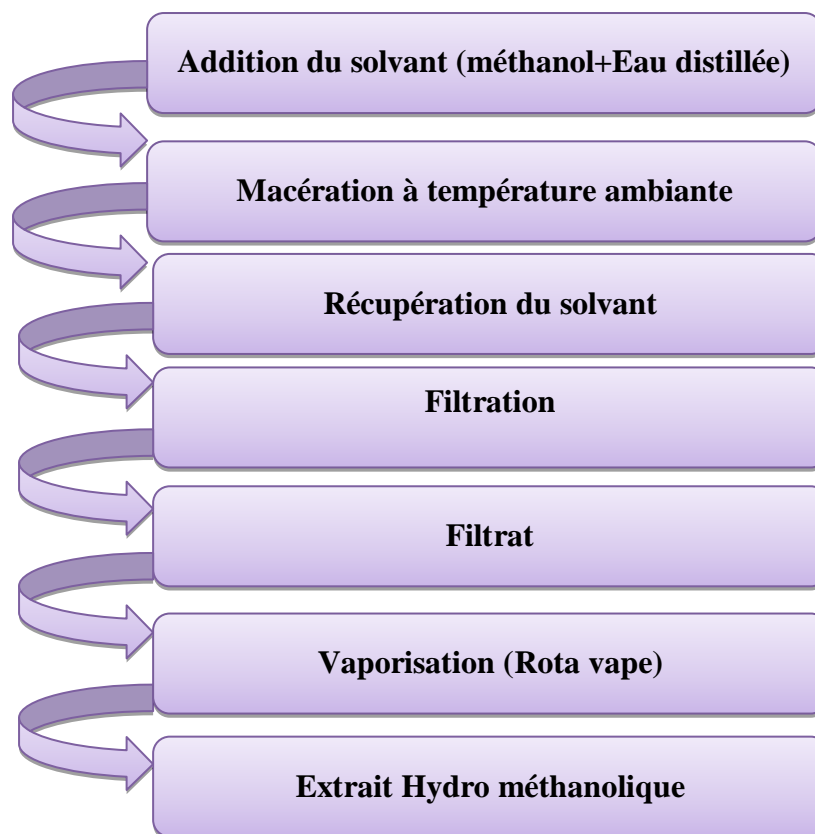


Figure 11 : Protocole d'extraction de *Nerium oleander* par le solvant hydro Méthanolique (Markhan, 1982).

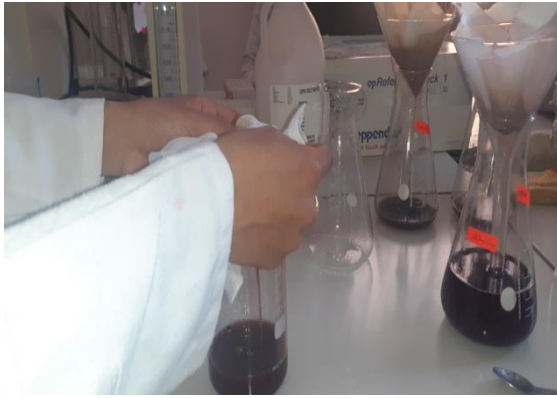
Les **figures** représentent les différentes étapes de préparation de l'extrait méthanolique.



50 g de la poudre -1-



350 ml méthanol + 150 eau distillée -2-



Filtration sur un papier filtre-4-



Agitation pendant 24h -3-



L'extrait méthanolique -5-



Rota vape -4-

4. Détermination du rendement

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après le séchage, et exprimé en pourcentage(%). Il est calculé suivant la formule présentée ci-dessous (Aberrane, 2019)

$$R(\%) = [M/M_0] \times 100$$

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

$R(\%)$: rendement en (%)

M : masse en gramme de l'extrait brut

M_0 : masse en gramme de la poudre végétale utilisée.

5. Etude morpho-métrique

L'étude morpho-métrique est basée sur deux paramètres le poids et le volume corporel des individus, calculé à partir de la valeur cubique de la largeur du thorax des larves (Timmermann & Briegel, 1999).

Les paramètres morpho-métriques ont été pris en considération pour les larves *Culiseta longiareolata* du quatrième stade témoins et traitées à CL₂₅ et CL₅₀ pendant 24, 48 h et 72 h. (Nombre de répétition 4 et nombre des individus 10) :

- Poids des individus.
- Largeur du thorax.

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

6. Dosage des bio-marqueurs

Les larves témoins et traitées de aux l'extrait méthanolique du *Nerium oleander* (CL₂₅, CL₅₀) ont fait l'objet du dosage d'un bio-marqueur de neurotoxicose, (GST) et la catalase (CAT) à différentes périodes après traitement : 24, 48 et 72 heures.

6.1. Dosage de glutathion S-transférase

La mesure de l'activité de glutathion S-transférase (GST) est déterminée selon la méthode de Habig *et al.*, (1974). Elle est basée sur la réaction de conjugaison entre la GST et un substrat, le CDNB (1-chloro 2, 4 di nitrobenzène) en présence d'un cofacteur le glutathion (GSH) et mesurée à une longueur d'onde de 340 nm dans un spectrophotomètre.

Les larves de *C.s* et traitées par l'extrait méthanolique à deux concentrations, correspondant à la CL₂₅ et la CL₅₀, sont homogénéisés dans 1 ml de tampon phosphate (0,1 M ; pH7.4).

L'homogénat est centrifugé à 13000 trs/ mn pendant 30 mn et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme.

Le dosage consiste à faire réagir 200 µl du surnageant avec 1,2 ml du mélange CDNB (1mM)/GSH (5mM) [20,26 mg CDNB, 153,65 mg GSH, 1 ml éthanol, 100 ml tampon phosphate (0,1 M, pH7.4)].

L'essai est conduit avec 4 répétitions comportant chacune 10 individus avec des séries témoins. La lecture des absorbances est effectuée toutes les minutes pendant 5 minutes à une

longueur d'onde de 340 nm contre un blanc contenant 200 μl d'eau distillée remplaçant la quantité de surnageant.

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

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

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

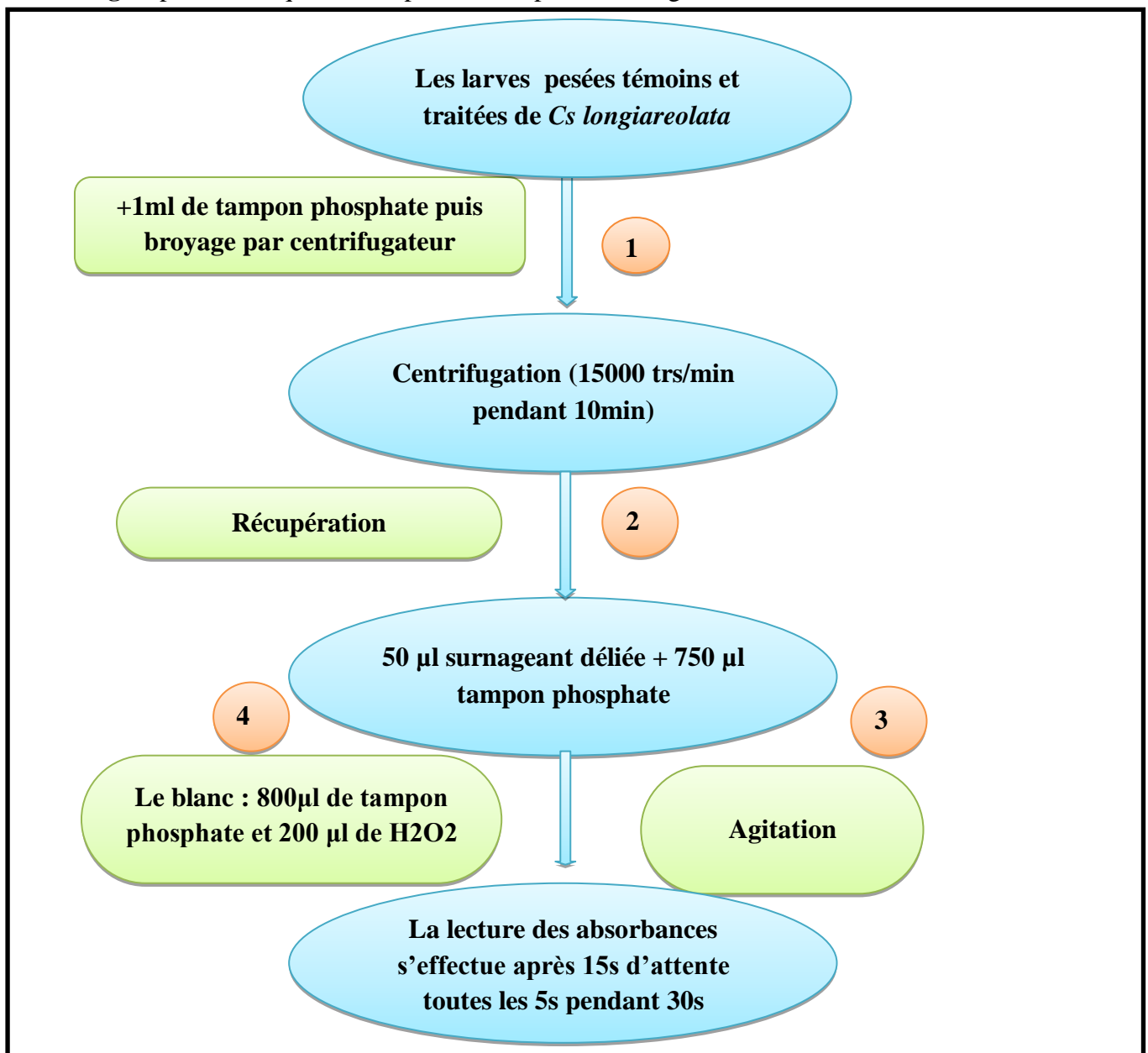
ΔDo : pente de la droite de régression obtenue après hydrolyse du substrat en fonction du temps.

9,6 : coefficient d'extinction molaire du CDNB ($\text{mM}^{-1} \text{cm}^{-1}$).

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

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

Mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.



6.2. Dosage de la catalase

Le dosage de la catalase (CAT) est réalisé selon la technique de Claiborne (1985). Cette technique est basée sur la mesure spectrophotométrique de la réduction de l'eau oxygénée (H_2O_2) en une molécule d'oxygène (O_2) et deux molécules d'eau (H_2O) en présence de la CAT à une longueur d'onde UV de 240 nm, selon la réaction suivante :



Les larves témoins et traitées de *Culiseta longiareolata*, sont prélevées à différentes périodes (24, 48 et 72 heures), L'essai est conduit avec 4 répétitions comportant 10 individus.

Les larves sont homogénéisées dans 1 ml de tampon phosphate (100 Mm, pH 7,4), Puis centrifugées à 15000 trs/mn, pendant 10 mn. Et le surnageant récupéré servira comme source d'enzyme. Le dosage de l'activité de la catalase s'effectue dans une cuve de spectrophotomètre en quartz à 250°C, sur une fraction aliquote de 50 μl du surnageant dilué de façon à se situer entre 1 et 1,5 mg de protéines/ml, soit 0,05 à 0,75 mg dans la cuve, à laquelle on ajoute 750 μl de tampon phosphate (100 Mm, pH 7,4). Après agitation, la lecture est effectuée au spectrophotomètre. L'activité décroît rapidement, il est donc important de mettre toujours le même temps entre le pipetage du surnagent et le moment où on place la cuve dans le spectrophotomètre. La lecture des absorbances s'effectue après 15 secondes d'attente toutes les 5 secondes pendant 30 secondes à une longueur d'onde de 240 nm contre un blanc avec 800 μl de tampon phosphate (100Mm, pH 7,4), et 200 μl de H_2O_2 . L'activité spécifique est calculée selon la formule suivante :

$$X = \frac{D_{\text{max}} - D_{\text{min}}}{0.04} \text{ mg de protéines}$$

X : micromole de substrat réduit par minute et par mg de protéines ($\mu\text{M}/\text{mn}/\text{mg}$ de protéines).

Do max : densité optique maximum obtenue.

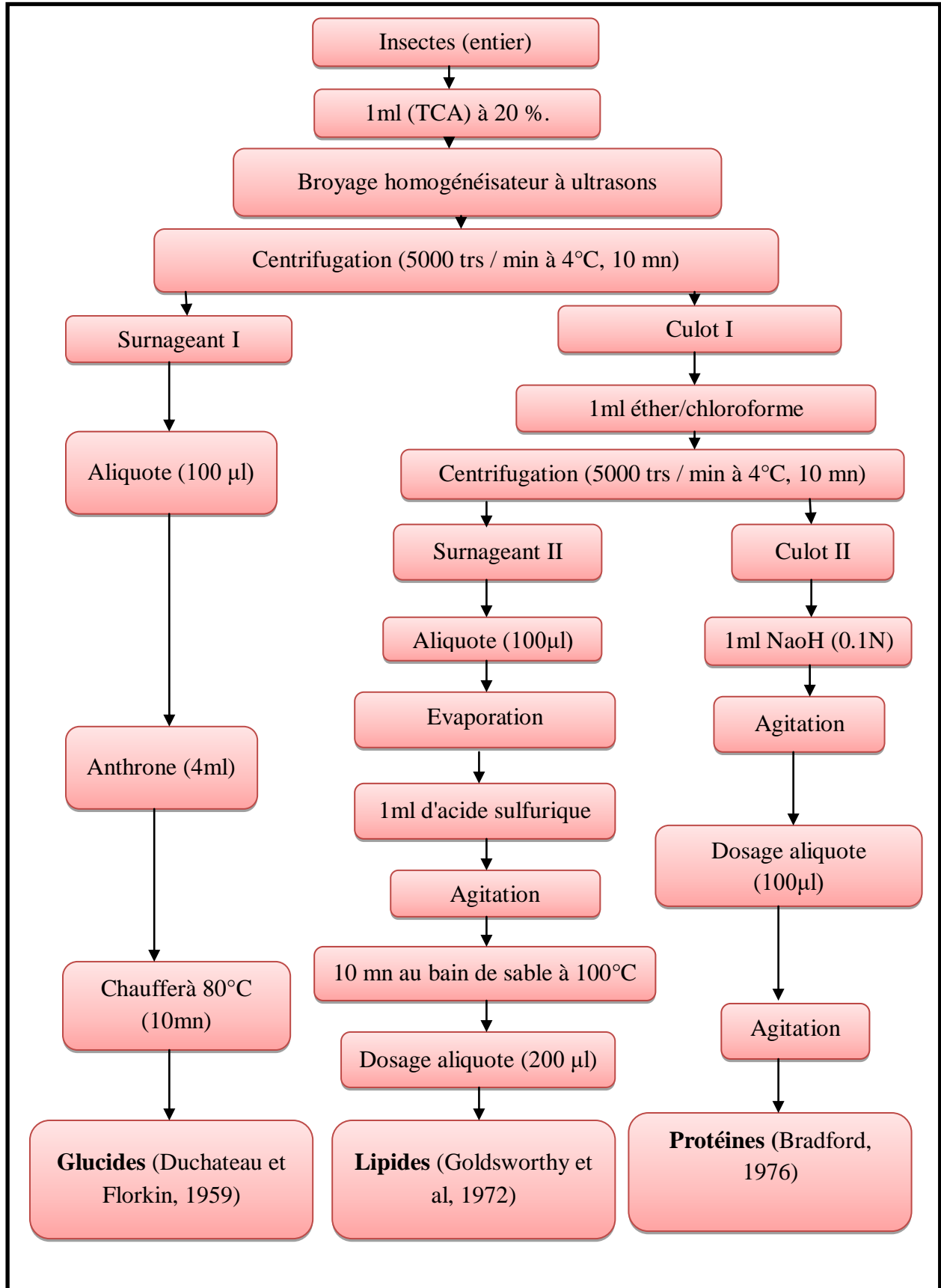
Do min : densité optique minimum obtenue

0,04 : coefficient d'extinction molaire du H_2O_2 ($\text{cm}^{-1} \cdot \text{mM}^{-1}$).

Mg de protéines : quantité de protéines exprimée en mg.

7. Dosage des métabolites

L'analyse biochimique des différents métabolites (protéines, glucides et lipides) a été réalisée selon la méthode de (Shibko *et al.*, 1966) à l'égard du quatrième stade larvaire de *Culiseta longiareolata* des séries témoins et traitées à la (CL₅₀et CL₂₅) la méthode résumée dans le schéma suivant :



Les larves ont été conservées dans 1 ml d'acide trichloracétique (TCA) à 20 %.

Ensuite, nous broyons les échantillons à l'aide d'un homogénéisateur à ultrasons le surnageant I obtenu après une première centrifugation (5000 trs / min à 4°C, 10 mn) est utilisé pour le dosage des glucides totaux selon la méthode de (**Duchateau ,Florkin, 1959**).

Après, on ajoute 1 ml de mélange éther/chloroforme (1V/1V) Au culot I on obtient le surnageant II après une seconde centrifugation (5000 trs/min, 10 mn). qui sera utilisé pour le dosage des lipides (**Goldsworthy et al., 1972**).

Le culot II, est dissout dans NaOH (0,1 N), servira au dosage des protéines selon (**Bradford, 1976**).

7.1. Dosage des glucides totaux

Le dosage des glucides a été réalisé selon (**Duchateau et Florkin, 1959**). Cette méthode utilise l'anthrone comme réactif (150mg d'anthrone, 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).

Elle consiste à additionner 100 µl du surnageant contenu dans un tube à essai, 4 ml du réactif d'anthrone et de chauffer le mélange au bain marie à 80 °C pendant 10 mn ; une coloration verte se développe dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de glucide présente dans l'échantillon.

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.

7.2. Dosage des lipides totaux

Les lipides totaux ont été déterminés selon la méthode de (**Goldsworthy et al., 1972**). Utilisant le réactif sulfo-phospho-vanillinique. Le dosage des lipides se fait sur des aliquotes de 100 µl des extraits lipidiques ou de gamme étalon auxquelles on évapore totalement le solvant puis on ajoute 1ml d'acide sulfurique concentré, les tubes sont agités, et mis pendant 10 mn dans un bain de sable à 100°C. Après refroidissement, on prend 200 µl de ce mélange au quel on ajoute 2,5 ml de réactif sulfo-phospho-vanillinique. Après 30 mn à l'obscurité, la densité optique est lue dans un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 530 nm.

Les lipides forment à chaud avec l'acide Sulfurique, en présence de la vanilline et d'acide ortho phosphorique, des complexes roses.

La solution mère des lipides est préparée comme suit : on prend 2,5 mg d'huile de table (tournesol 99% triglycérides) dans un tube eppendorf et on ajoute 1 ml d'éther chloroforme (1V/1V).

Tableau 3 : Dosage des lipides totaux chez les moustiques : réalisation de la gamme d'étalonnage.

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

7.3. 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 ortho phosphorique + H₂O distillée q.s.p. 1000ml) et l'albumine de sérum de bœuf (BSA) comme standard.

Dans une fraction aliquote de 100 µl à laquelle on ajoute 4 ml de réactif du bleu brillant de coomassie (BBC) G 250 (Merck). Celui-ci révèle la présence des protéines en les colorants en bleu. 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.

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

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

Résultats

III. Résultats

III.1. Détermination du rendement d'extraction

L'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* a été appliqué sur le stade larvaire L4 nouvellement exuvies de *C. longiareolata* à deux concentrations létales 25 et 50 (CL₂₅ =1.5 ml et CL₅₀ =2 ml) selon les études de l'année précédente avec des séries témoins. L'effet de cet extrait a été évalué à différentes périodes (24, 48 et 72 heures après traitement).

Il a été testé sur un bio-marqueur de détoxification, les glutathion S-transférases (GSTs) et un bio-marqueur de stress oxydatif, la catalase. Les résultats ont été exprimés par rapport à la quantité de protéines (mg) obtenue à partir d'une courbe de référence.

III.2. Effet d'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* sur les biomarqueurs enzymatiques

Les rendements d'extrait sont définis comme étant les rapports de la quantité des substances végétales extraites sur la quantité de la matière végétale utilisée.

L'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* a été appliqué sur le stade larvaire L4 nouvellement exuvies de *C. longiareolata* à deux concentrations létales 25 et 50 (CL₂₅=1.5 et CL₅₀=2) selon les études de l'année précédente avec des séries témoins. L'effet de cet extrait a été évalué à différentes périodes (24, 48 et 72 heures après traitement).

Il a été testé sur un bio-marqueur de détoxification, les glutathion S-transférases (GSTs) et un bio-marqueur de stress oxydatif, la catalase. Les résultats ont été exprimés par rapport à la quantité de protéines (mg) obtenue à partir d'une courbe de référence.

III.2.1. Effet sur l'activité spécifique des glutathion S-transférases

L'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves L4 de *C. longiareolata* témoins et traitées (CL₂₅ et CL₅₀) est enregistrée à 24, 48 et 72 heures après traitement (tableau 5).

La comparaison multiple des moyennes par le test de Dunette montre une différence très hautement significative ($p=0,000$) entre les séries témoins et les séries traitées (CL₂₅ et CL₅₀) de l'activité spécifique des GSTs à différentes périodes de traitement (Figure 12)

Tableau 5 : Effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* sur l'activité spécifique des GSTs ($\mu\text{M}/\text{min}/\text{mg}$ de protéines) chez les larves du quatrième stade de *C. longiareolata* ($m \pm \text{sem}$, $n=4$).

Temps (heures)	Témoin	CL ₂₅	CL ₅₀
24	0,37±0,04 a	0,34±0,08 a	0,56±0,09 b
48	0,50±0,04 a	0,21±0,012 b	0,29±0,01 b
72	0,57±0,03 a	0,20±0,04 b	0,18±0,05 b

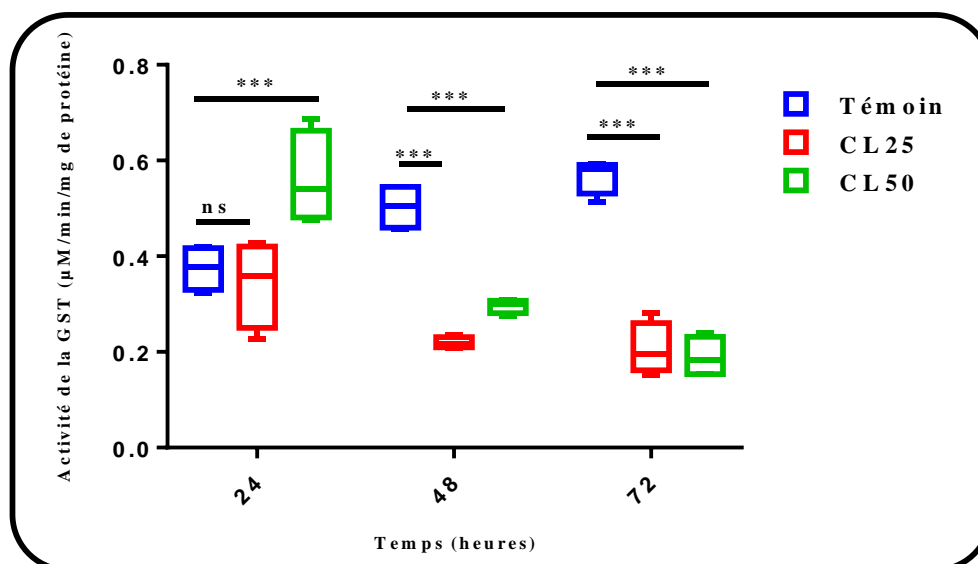


Figure 12 : Effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique des GSTs (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* ($m \pm SD$, n=4). (***) Différence très hautement significative ($p < 0,001$) entre les séries témoins et traitées).

III.2.2. Effet sur l'activité spécifique de la catalase

L'activité spécifique de la catalase a été estimée chez les séries témoins et traitées. Les résultats obtenus marquent une perturbation non significative après 24 et 48H de traitement à la CL₂₅ et une diminution après 72h. Cependant le traitement par la CL₅₀ induit une augmentation très hautement significative ($p=0,000$) de l'activité de catalase après 24h et une réduction significative ($p=0,021$ et $p=0,000$) après 48h et 72h comparativement aux séries témoins.

Tableau 6 : Effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* sur l'activité spécifique de catalase (µM/min/mg de protéines) chez les larves du quatrième stade de *C. longiareolata* ($m \pm sem$, n=4).

Temps (heures)	Témoin	CL ₂₅	CL ₅₀
24	1,33±0,17 a	1,58±0,31 b	1,94±0,09 b

48	1,01±0,46 a	0,66±0,08 b	0,48±0,20 b
72	1,90±0,43 a	0,44±0,28 b	0,40±0,18 b

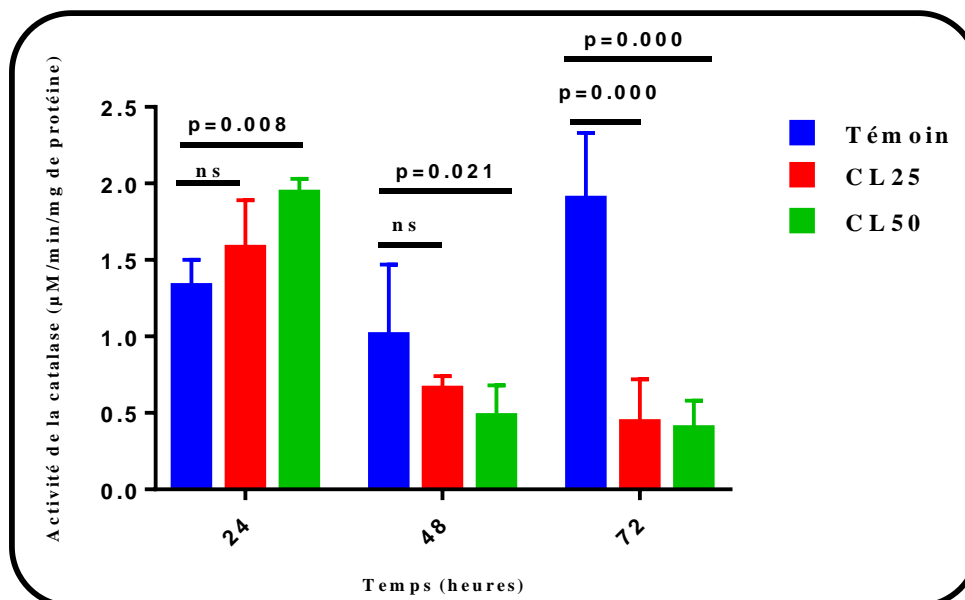


Figure 13 : Effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur l'activité spécifique de la catalase (µM/min/mg de protéines) chez les larves 4 de *C. longiareolata* (m ± SD, n=4).

III.3. Effet d'extrait sur la croissance de *Culiseta longiareolata*

III.3.1. Croissance pondérale

L'effet d'extrait hydro-méthanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) a été testé sur les larves du quatrième stade nouvellement exuvies de *Culiseta longiareolata*.

Les résultats de l'évolution du poids corporel des individus au cours du quatrième stade larvaire étudié sont mentionnés dans le tableau (7) et la figure (14). Pour les séries témoins et traitée a la CL₅₀ on remarque une augmentation significative du poids corporel du 24 h jusqu'à 72h.

La comparaison des moyennes entre les séries témoins et traitées montre que l'extrait hydro-méthanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) affectent le poids corporel des larves L4 d'une manière significative à 24 h (p= 0,019 ; p=0,011), 48 h (p= 0,017 ; (p=0,012) et 72 h (p= 0,026 ; p=0,02) avec les deux concentrations respectivement.

Tableau 7: Extrait hydro-méthanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le poids (mg) des larves du quatrième stade chez *Culiseta longiareolata* ($m \pm SD$, $n = 4$ répétitions comportant chacune 10 individus). Comparaison des moyennes à différents stades pour une même série (lettres majuscules) et pour un même stade entre les différentes séries (lettres minuscules).

Temps (heures)	Témoins	CL25	CL50e
24	33,10 ± 2,12 a A	29,26 ± 2,95 b A	25,57 ± 4,99c A
48	36,26 ± 3,76 a B	32,61 ± 3,92 b B	28,21 ± 4,11 c B
72	37,55 ± 4,72 a C	33,94 ± 4,12 b C	30,28 ± 3,25 c C

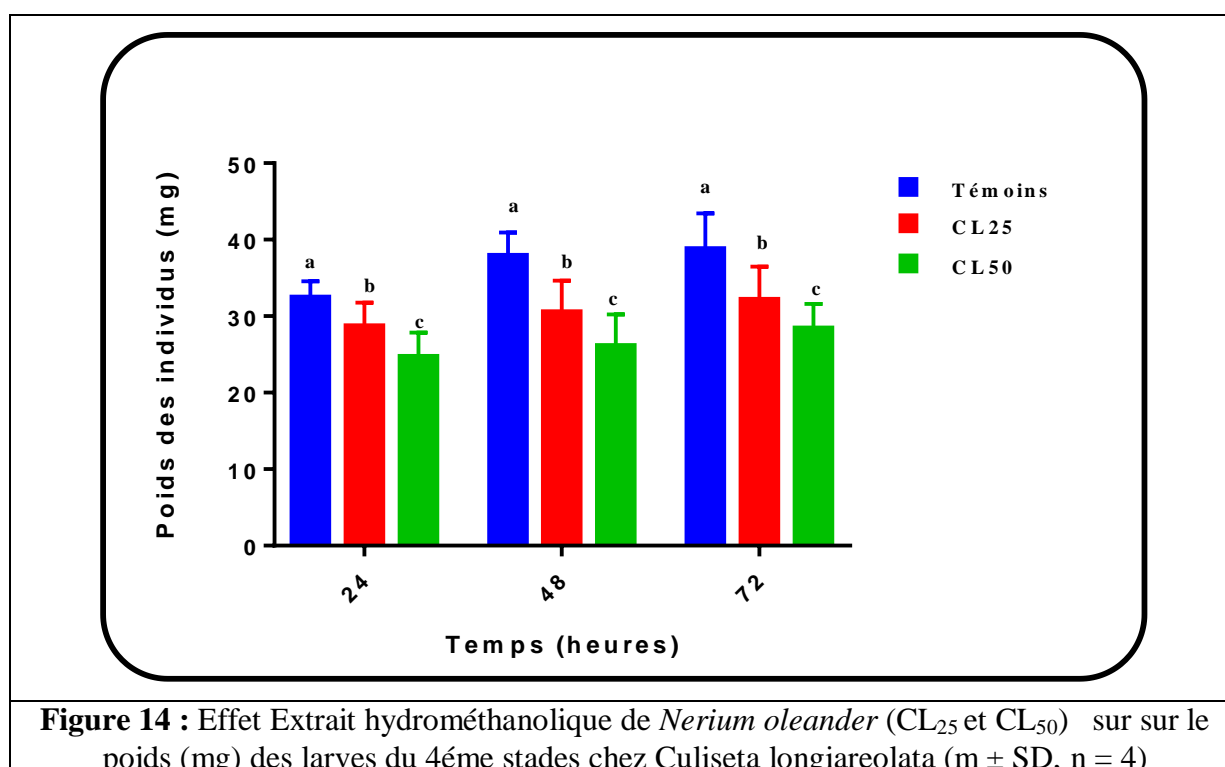


Figure 14 : Effet Extrait hydrométhanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur sur le poids (mg) des larves du 4éme stades chez *Culiseta longiareolata* ($m \pm SD$, $n = 4$)

III.3.2. Croissance linéaire

L'effet de extrait hydro-méthanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) a été évalué sur certains paramètres morphométriques : la largeur du thorax des larves 4 et le volume corporel (V) des individus témoins et traités.

Les résultats de l'évolution de la largeur du thorax des individus du *Culiseta longiareolata* au cours du quatrième stade larvaire étudiés sont mentionnés dans le tableau (8) et la figure (15), les résultats montre une augmentation significative pour la séries témoin ($p=0,025$) et une augmentation hautement significative pour les séries traitées ($p= 0,009$ et

p=0,007) pour l'extrait hydrométhanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) respectivement.

La comparaison des moyennes entre les séries témoins et traitées montre que l'extrait hydrométhanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) affecte la largeur du thorax des larves L4 d'une manière significative avec CL₂₅ à 24 h (p=0,046 ; 0,026), 48 h (p=0,025 ; 0,017) et 72 h (p=0,035 ; 0,021) pour la CL₂₅ et CL₅₀ respectivement

Tableau 8 : Effet l'extrait hydrométhanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur la largeur du thorax (mm) des larves du quatrième stade chez *Culiseta longiareolata* (m ± SD, n = 4 répétitions comportant chacune 10 individus). Comparaison des moyennes à différents stades pour une même série (lettres majuscules) et pour un même stade entre les différentes séries (lettres minuscules)

Temps (heures)	Témoins	CL 25	CL 50
24	2,63 ± 0,044 a A	2,57 ± 0,025 b A	2,48 ± 0,015 c A
48	2,72 ± 0,033 a B	2,64 ± 0,015 b B	2,52 ± 0,020 c B
72	2,75 ± 0,014 a C	2,68 ± 0,045 b C	2,57 ± 0,018 c C

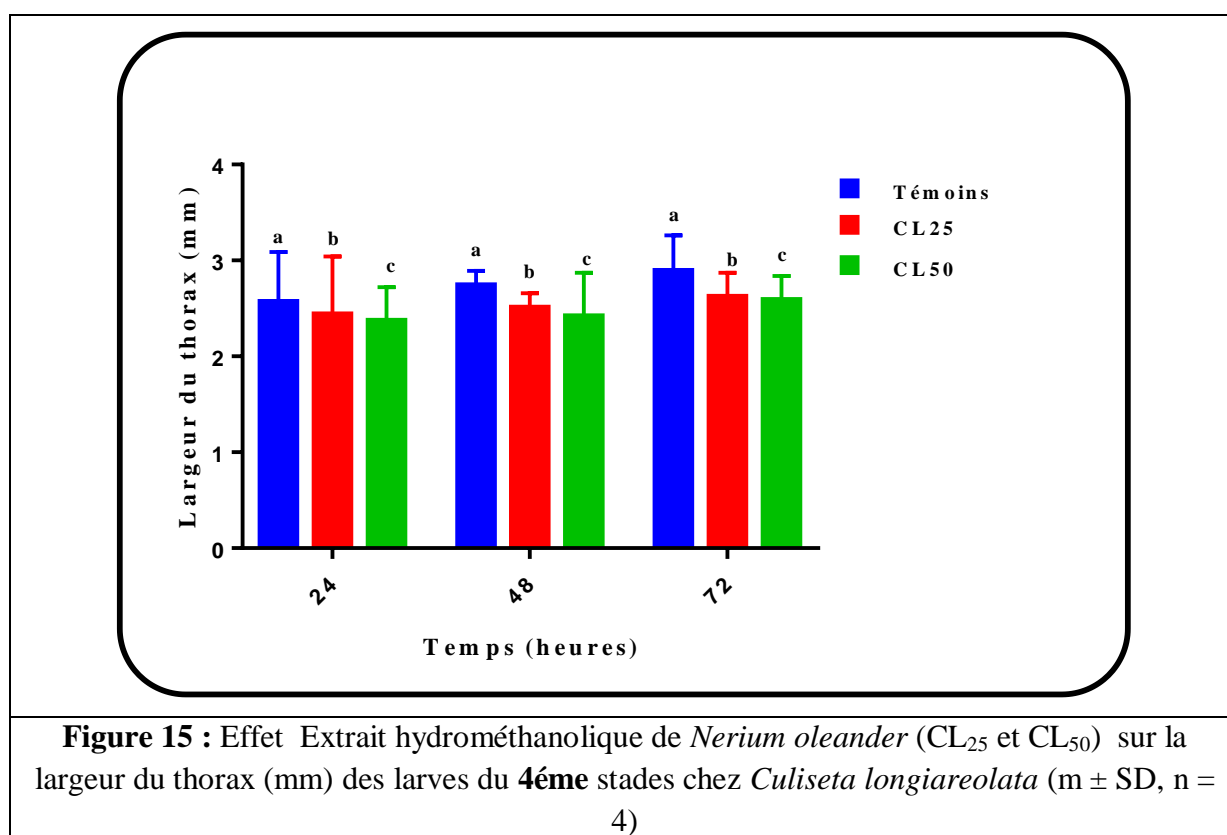


Figure 15 : Effet l'extrait hydrométhanolique de *Nerium oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur la largeur du thorax (mm) des larves du 4^{ème} stades chez *Culiseta longiareolata* (m ± SD, n = 4)

III.4. Impact d'extrait sur la composition biochimique des moustiques

L'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) a été appliquée sur les larves 4 nouvellement exuvies de *C. longiareolata* et leur effet a été évalué sur la composition biochimique (protéines, glucides et lipides) à différentes périodes (24, 48 et 72 heures après traitement).

III.4.1. Effet sur le contenu en protéines totales

Le contenu en protéines totales a été déterminé chez les larves 4 témoins et traités de *C. longiareolata* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures après traitement).

La comparaison des valeurs moyennes par le test de Dunnett montre que l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) induisent une diminution très hautement significative du contenu en protéines totales des larves 4 ($p=0,000$) (Figure 14).

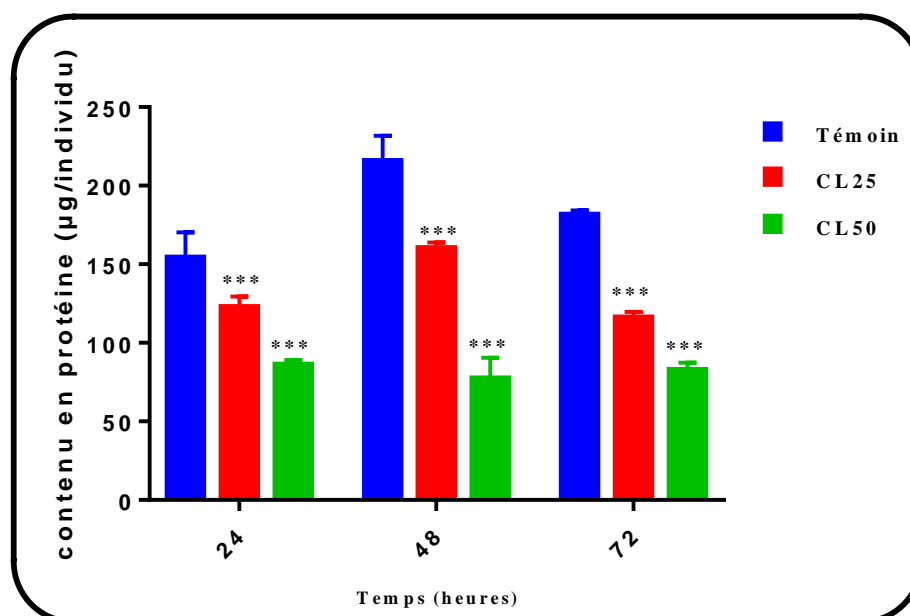


Figure 14 : Effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en protéine (µg/individu) chez les larves 4 de *C. longiareolata* ($m \pm SD$, $n=4$). (***) Différence très hautement significative ($p<0,001$) entre les séries témoins et traitées).

III.4.2. Effet sur le contenu en glucides totaux

Le contenu en glucides totaux a été déterminé chez les larves 4 témoins et traités de *C. longiareolata* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures après traitement).

La comparaison des valeurs moyennes par le test de Dunnett montre que l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) induisent une diminution très hautement significative du contenu en protéines totales des larves 4 ($p=0,000$) (Figure 15).

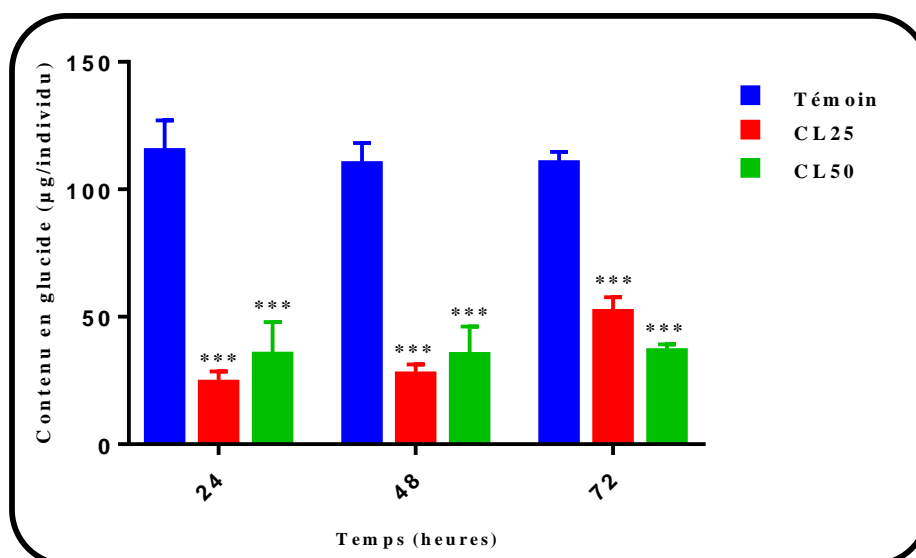


Figure 15 : Effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en glucide (µg/individu) chez les larves 4 de *C. longiareolata* (m ± SD, n=4). (***) Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

III.4.3. Effet sur le contenu en lipides totaux

Le contenu en lipides totaux a été déterminé chez les larves 4 témoins et traités de *C. longiareolata* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures après traitement).

La comparaison des valeurs moyennes par le test de Dunnett montre que l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) induisent une diminution très hautement significative du contenu en protéines totales des larves 4 (p=0,000) à 24H et 48H de traitement. Cette réduction est significative pour les séries traitées à la CL₂₅ (p=0.011) et très hautement significative (p=0.000) pour les séries traitées à la CL₅₀ après 72H de traitement par rapport les séries témoins (Figure 16).

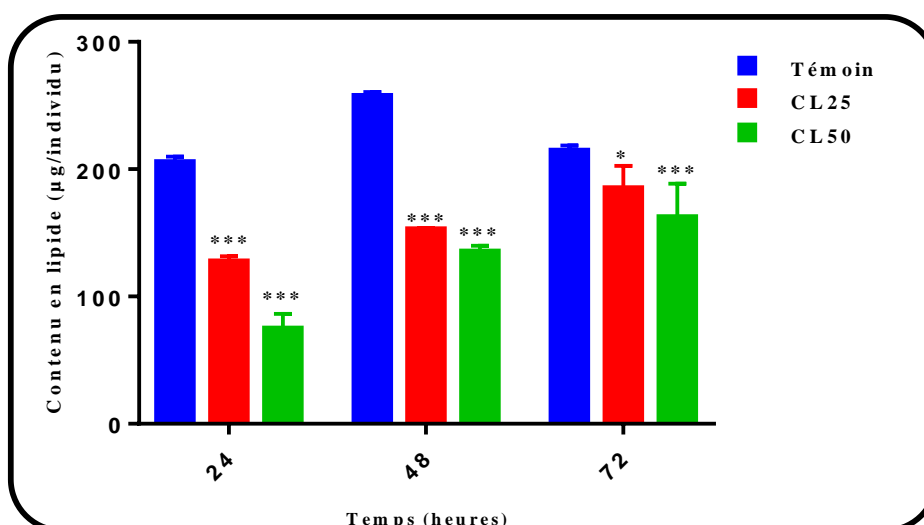


Figure 16 : Effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) sur le contenu en lipide (µg/individu) chez les larves 4 de *C. longiareolata* (m ± SD, n=4). (* Différence significative (p<0,05) ; *** Différence très hautement significative (p<0,001) entre les séries témoins et traitées).

Discussion

IV. Discussion

1. Rendement de l'extraction

Les rendements d'extrait sont définis comme étant les rapports de la quantité des substances végétales extraites sur la quantité de la matière végétale utilisée.

Nous notons que le rendement en extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* est égale 16,05% de la matière sèche de la plante (fleurs). Notre rendement est relativement augmenté à celui obtenus l'année passée (15%) (**Gharbi et al., 2022**) et également supérieure comparativement à celui obtenus par le travail de (**Bouziane et al, 2021**) rapporte un rendement de 11% pour l'extrait aqueux de feuilles de *Nerium oleander*. Il est également supérieur à ceux trouvés par (**Boulghiti et al., 2021**) sur (tiges avec feuilles) 14,33%.

Notre rendements sont plus élevées par rapport les travaux de (**Keddar et al., 2018**) qui a été de l'ordre de 8,9% pour les poly phénols et de 5,56% pour les caroténoïdes. D'après (**Nia, 2018**) est 6,41%. Par contre, notre rendement est inférieur à celui obtenu par le travail de (**Ben Hamza et al., 2020**) sur les feuilles fraîches de *N. oleander* ce qui a signalé un taux de 35%. Sur la base de ces résultats issus de nombreux travaux antérieurs, on peut dire qu'ils varient considérablement en fonction de la plante utilisée et la méthode d'extraction adoptée.

Cette différence serait liée au fait que l'extraction a été faite sur des fleurs sèches alors que les autres études l'ont faite sur des feuilles, tige , racine ou bien huile. Cette variabilité de rendement pourrait également être lié au l'espèce de plante, en plus de processus de tarissement, période de récolte, aux facteurs édaphiques et climatiques ou alors à l'état physiopathologique de la plante, aussi elle peut être liée au type de la technique d'extraction et aux étapes de la récupération (**Asma et al., 2022**).

2. Effet d'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* sur les bio marqueurs enzymatiques

Le terme bio-marqueur se réfère à tous les paramètres biochimiques, cellulaires, physiologiques ou comportementaux qui peuvent être mesurés dans les tissus ou les fluides d'un organisme ou sur l'organisme entier, pour mettre en évidence l'exposition à, ou les effets, d'un ou plusieurs contaminants (**Zeghib, 2020**).

Au niveau biochimique, il existe différents types de bio-marqueurs regroupés selon leur fonction au niveau cellulaire. Les principaux bio-marqueurs utilisés sont des marqueurs enzymatiques comme la catalase, la glutathionne peroxydase, les glutathion S-transférases et l'acétylcholinestérase. (**Dris , 2019**).

Nous avons évalué l'effet de l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* sur l'activité d'un bio-marqueur de détoxification, les glutathion S-transférases (GSTs) et un bio-marqueur

de stress oxydatif, la catalase chez une espèce de moustiques, *C. longiareolata* à différentes périodes après traitement, 24, 48 et 72 heures.

2. Effet d'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* sur l'activité spécifique des GSTs

Les systèmes antioxydants GSH/GST ont été impliqués dans la détoxification de xénobiotiques, de cancérigènes, de radicaux libres et de peroxydes, Le GSH est un tripeptide composé de glutamate, de cystéine et de glycine, qui est principalement crucial pour protéger les mitochondries de la toxicité des xénobiotiques et des ROS, régule la prolifération cellulaire, le métabolisme et l'apoptose (Zhang *et al.*, 2021).

Les GSTs sont des enzymes de détoxification de phase II présentes dans la plupart des formes de vie et vitales pour le maintien de l'homéostasie cellulaire. (Singh *et al.*, 2021). La GSTs est une enzyme multifonctionnelle qui catalyse la conjugaison du groupe sulfhydryle du GSH à une grande variété d'électrophiles (potentiellement toxiques). Pendant ce temps, la plupart des conjugués résultant en des molécules plus hydrophiles et moins toxiques, excrétées dans la bile ou l'urine plus tard. (Zhang *et al.*, 2021), Plus de leurs rôles de détoxification, les GSTs sont connues pour leurs fonctions dans la signalisation cellulaire, la modification post-traductionnelle (Singh *et al.*, 2021), Et aussi permettent le développement de la résistance envers les agents chimiothérapeutiques, les insecticides, les herbicides et les antibiotiques microbiens. Elles jouent un rôle important dans la physiologie du stress, le transport intracellulaire et dans les différentes voies de biosynthèse. (Oppenoorth *et al.*, 1977).

Dans la présente étude, l'activité spécifique des GSTs chez les larves 4 de *C. longiareolata* traitées aux L'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander*, a augmenté d'une manière très hautement significative à différentes périodes, par rapport aux témoins. L'augmentation de l'activité des GSTs se traduit par une mise en place du processus de détoxification. Par ailleurs, la surproduction d'enzymes peut être due à une modification d'un gène régulateur contrôlant le degré d'expression de l'enzyme, et à une augmentation du nombre de copies du gène qui code pour ces enzymes (Cédric, 2008). Le processus de détoxification est incapable d'empêcher l'effet insecticide de ces extraits de plantes.

Certaines études antérieures ont montré des résultats similaires à ceux obtenus dans notre étude : Une augmentation de l'activité des GSTs est signalée chez *Drosophila melanogaster* exposée à l'HE de *Psidium guajava* (Pinho *et al.*, 2014), et chez *Zonocerus variegatus* exposé à l'extrait d'*Ocimum gratissimum* (Adeyi *et al.*, 2014). Et De plus, (Shojaei *et al.*, 2017) montrent une augmentation de l'activité des GSTs chez les larves de *Tribolium castaneum* traitées à la CL₃₀, CL₅₀ et CL₇₀ de l'HE d'*Artemisia dracunculoides*

avec une relation dose-réponse. Chez les larves L4 de *Cx pipiens* traitées à l'huile essentielle de feuilles de *Thymus vulgaris* (Bouguerra et al., 2018). Chez les larves L4 de *Cx. pipiens* et par *P. crispum* chez les larves d'*Ae. Aegypti* (Intirach et al., 2019). Chez les larves de différents stades de *C. longiareolata* traitées à l'extrait méthanolique de *R. graveolens*, (Lassoued et al., 2019). De plus (Dris, 2019) montrent une augmentation d'une manière significative de l'activité des GSTs chez deux espèces de moustiques, *C. longiareolata* et *C. pipiens* traitées par les HEs de *L. dentata*, de *M. piperita* et d'*O. Basilicum* à différentes périodes. En outre, il a été constaté que les composés purs augmentaient l'activité des GSTs telle l'Ar-Turmérone extraite de *Curcuma longa* chez les larves de *Cx. Pipiens* (Liu et al., 2020).

Par contre, une réduction de l'activité des GSTs a été notée chez les larves de *T. castaneum* traitées aux HEs de six plantes : (*Allium sativum*, *Menthapiperita*, *Ocimum basilicum*, *Thymus vulgaris*, *SesamumIndicume* et *Chamaemelumnobile*) (Abd El-Aziz et El Sayed., 2009). Chez les larves de *Triboliumcastaneum* traitées à l'huile de *Agastachefoeniculum* (Ebadoallahi et al., 2013). Chez les larves du troisième stade de *T. castaneum* et *C. maculatus* traitées aux HEs de cardamome, la cannelle et la muscade (Tarigan et al., 2016).les larves de *Culex* Discussion 98 quinquefasciatus traitées à l'HE de *Citrus grandis* (Mahanta et al., 2017) Ce faible niveau de détoxification qui se traduit par une diminution de l'activité des GSTs, peut être à l'origine du pouvoir insecticide.

3. Effet d'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* sur l'activité spécifique de la catalase :

Les catalases sont des enzymes dont la fonction principale est la décomposition du peroxyde d'hydrogène en oxygène moléculaire et en eau. Ces enzymes, présentes dans pratiquement tous les organismes aérobies, se trouve principalement dans les peroxysomes, mais aussi dans le cytoplasme (Brahmi et al, 2021).

Les résultats obtenus chez les larves 4 de *C. longiareolata* révèle une augmentation hautement significative de l'activité de la catalase chez les traités comparativement aux témoins. Cette augmentation de l'activité traduit une mise en place du processus de détoxification qui est une forme de défense de l'insecte contre le pesticide (Dris, 2019).

On constate en comparant les résultats obtenus avec les résultats obtenus d'après (Bouabida et al, 2016), qui a montré une augmentation significative de l'activité de la catalase des séries traitées comparativement aux témoins chez les larves de quatrièmes stade de 2 espèces de moustique *Cs longiareolata* et *Cx pipiens* traités par le spiromesifène a deux doses létales : DL₅₀ et DL₉₀.

Une augmentation significative comparativement aux témoins du taux de CAT Chez les larves du quatrième stade (L4) de *Cx pipiens*, traitées par les HE de *M. piperita* et de *L. dentata* à une dose létale : CL₅₀ à différents temps 24, 48 et 72 heures (**Cherietet Kouchkouch, 2016**), De plus les résultats obtenus chez les larves 4 de *C. longiareolata* et *C. pipiens* traitées par les HEs de *L. dentata*, de *M. piperita* et d'*O. Basilicum* à différentes périodes (**Dris, 2019**). En outre L'analyse des résultats obtenus chez les pupes de *Culiseta longiareolata* traitées à l'HE de Lavanduladentata (CL₅₀) révèle une augmentation significative comparativement aux témoins. (**Brahmi et Snoussi, 2021**).

Par contre, une diminution de l'activité de CAT a été observée chez *S. oryzae* et *R. dominica* traités à l'HE de *Gaultheria procumbens* (**Kiran et Prakash, 2015**). Chez les pupes de *Culisetalongiariolata* traitées par l'HE d'*O. basilicum* à une dose létale (CL₅₀) après 24h, 48h et 72h comparativement aux séries témoins (**Djabri et Lahmidi, 2021**). Cette diminution de l'activité de CAT induit une accumulation de H₂O₂ toxique à la cellule, conduisant à la peroxydation des lipides membranaires (**Sharma et al., 2012**).

4. Effet d'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* sur les paramètres biochimiques

Le dosage des principaux constituants réalisé sur le corps entier des Larves témoins et traités de *Cs longiareolata* révèle une modification des composants biochimiques comme les protéines les glucides et les lipides après traitement par l'extrait hydro-méthanolique de *nerium oleander* à différents temps 24, 48 et 72 heures.

Les protéines et les acides aminés jouent un rôle principal durant les différentes phases de la vie des insectes car ils sont caractérisés par des niveaux très élevés. 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 (**Briegel, 1985**).

Les protéines jouent un rôle fondamental dans l'organisme de toutes les espèces vivantes connues (**Malher & Cordes, 1968**).

On trouve que La comparaison des valeurs moyennes par le test de Dunnett montre que l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* (CL₂₅ et CL₅₀) induit une diminution très hautement significative du contenu en protéines totales des larves 4. Par contre, (**Madaci et al. 2008**) indiquent que les extraits hydroalcooliques des feuilles de *Nerium oleander* (Apocynacées) provoquent une augmentation du taux de protéines chez les larves du vers blanc rhizotrogini. (**Ebadollahi et al., 2013**) ont signalé que la teneur en glucides, protéines et lipides totaux a diminué chez les larves de *T. castaneum* soumises à la fumigation avec *A. foeniculum* à la synthèse réduite des protéines, la faible assimilation des aliments et la faible absorption des

acides aminés pendant la synthèse des protéines après exposition aux insecticides (**Askar et al., 2016**).

Les glucides forment un groupe de composés très importants. Certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose), soit sous forme de réserves (glycogène) ; d'autres ont un rôle structural (cellulose, chitine, acide hyaluronique) .Il joue un rôle métabolique de premier plan dans le cycle de développement (**Dris, 2019**).

Les glucides forment un groupe de composés très importants. Certains représentent une source d'énergie pour les organismes vivants, soit immédiatement utilisable (tréhalose), soit sous forme de réserves (glycogène).

Le contenu en glucides totaux a été déterminé chez les larves 4 témoins et traités de *C. longiareolata* à différentes périodes (24, 48 et 72 heures après traitement). Et le résultat a été une diminution très hautement significative du contenu en protéines totales des larves 4.

Concernant le résultat de (**Kouider & Attia 2016**) en glucides, leurs résultats montrent que le traitement par *Laurus nobilis* avec la CL₂₅ et la CL₅₀ chez *Cx pipiens*, n'a aucun effet au cours de la même période testée.

Des travaux antérieurs réalisés dans notre laboratoire ont montré des résultats différents, avec une réduction de ce contenu chez la même espèce après traitement par l'*Eucalyptus globulus* (**Khaled et Dib, 2015**), *Lavandula dentata* (**Sahbi et Aouni, 2015**) et chez *Cs longiareolata* traitée par l'*Ocimum basilicum* (**Bouzidi et Ziani, 2015**). Par contre, une augmentation de ce composé biochimique a été signalée chez *Cx pipiens* après traitement par l'*Ocimum basilicum* (**Khamene, 2014**) et par *Laurusnobilis* (**Kouider et Attia, 2016**).

Les lipides représentent la principale source d'énergie chez les insectes (**Beenakers et al., 1985**), transportés aux corps gras, site de leurs synthèse et stockage (**Keely, 1985; Van Hensdan & Law, 1989**) vers les organes utilisateurs, notamment les ovaires (**Kilby, 1963; Chino et al., 1981**), via l'hémolymphe pour être utilisés lors de la vitellogénèse (**Downer, 1985 ; Keely, 1985**). Plusieurs Discussion 37 études ont démontrées que les triglycérides, dont le corps gras est le site majeur de stockage chez les insectes, sont une réserve métabolique importante. On trouve une diminution très hautement significative du contenu en protéines totales des larves 4 (p=0,000) à 24H et 48H de traitement. Cette réduction est significative pour les séries traitées à la CL₂₅ (p=0.011) et très hautement significative (p=0.000) pour les séries traitées à la CL₅₀ après 72H de traitement par rapport les séries témoins.

Concernait *Blatta orientalis* traitée à l'*azadirachtine* présente une diminution du contenu en lipides (**Bouhouhou & Chorfi, 2016 ; Tine et al., 2016**). Et l'application des HES

de *Ocimum basilicum* sur la même espèce provoque une diminution de ce composé chez les stades testés (larvaire, nymphale et adulte mâle et femelle (**Bouzidi & Ziani, 2015 ; Dris et al., 2017**)).



Conclusion

Conclusion

La lutte contre les moustiques est essentielle pour prévenir la propagation des maladies à transmission vectorielle et améliorer la santé publique et la qualité de l'environnement. Actuellement, le moyen le plus important de contrôler les moustiques est l'utilisation d'insecticides synthétiques. Cependant, son utilisation est largement inacceptable en raison de ses effets néfastes sur la santé des humains, des animaux et d'autres organismes non ciblés.

Le travail réalisé, nous a permis d'évaluer l'impact l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* sur la morphométrie, la composition biochimique (protéines, glucides et lipides), et aux plus l'activité spécifique de deux bio-marqueurs ; Catalase (CAT), Glutathion S-transférases (GSTs) chez *Culiseta longiareolata* (Diptera : Culicidae), l'espèce de moustique la plus abondante dans la région de Tébessa.

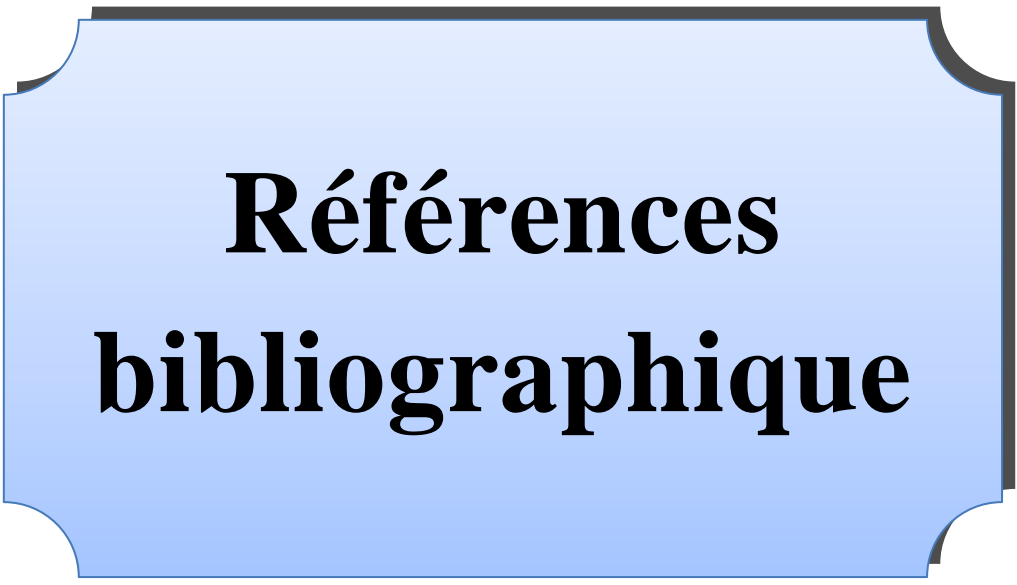
L'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* obtenue par macération et avec un rendement de 16,05% de la matière sèche respectivement.

L'étude morphométrique montre que l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* perturbe la croissance linéaire et pondérale des individus, en réduisant le volume et le poids corporel des larves 4, de *C. longiareolata*.

L'évaluation des bio-marqueurs indique que l'extrait hydro-méthanolique de *N. oleander* présente une augmentation du taux de la Catalase et l'activité des GSTs comparativement aux témoins, cette augmentation suggérant ainsi, une induction du processus de détoxification.

D'autre part, les réserves énergétiques des individus sont également perturbées sous l'effet de cet extrait. Les résultats révèlent une diminution significative du contenu en protéines, glucides et lipides chez les individus étudiés.

Enfin, l'utilisation de nos extraits de plantes étudiés permettra de préserver l'environnement et la santé publique, et d'autre part, de réduire l'utilisation des insecticides synthétique coûteux et nocifs.



**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques :

- 1_ Al-Snafi, A. E. (2020). Bioactive ingredients and pharmacological effects of Nerium oleander. *IOSR Journal of Pharmacy*, 10(9), 19-32.
- 2_ Al-Solami, H. M. (2021). Larvicidal activity of plant extracts by inhibition of detoxificationenzymes in Culex pipiens. *Journal of King Saud University-Science*, 33(3), 101371
- 3_ Abdou, R. H., Basha, W. A., & Khalil, W. F. (2019). Subacute toxicity of Nerium oleander ethanolic extract in mice. *Toxicological research*, 35, 233-239.
- 4_ Alghamdi, A. G. (2021). Toxicological and biological effects of some plant extracts on thehouse mosquito Culex pipiens, the dominant species in Jeddah governorate. *Entomologicalresearch*, 51(8), 403-412.
- 5_ Azeem M, Zaman T, Tahir M, Haris A, Iqbal Z et al (2019) Chemical composition and Repellent activity of native plants essential oils against dengue mosquito, Aedes aegypti. *Ind Crops Prod* 140:111609.
- 6_ Adeyi, A.O., Akozi1, G.O., Adeleke, M.A., Agbaogun, B.K.O. & Idowu A.B. (2014).Induction and activity of glutathione S-transferases extracted from Zonocerus variegates (Orthoptera: Pyrgomorphidae) exposed to insecticides. *International Journal of tropicalinsect Science* 1-7.
- 7_ Aitken T.H.G., (1954).The culicidae of Sardinia and Corsica (Diptera). *Bulletin of Entomological research* 45(3): 437-494.
- 8_ Abd El-Aziz, M.F. & El-Sayed Y.A. (2009). Toxicity and biochemical efficacy of sixessential oils against Tribolium confusum (du val) (Coleoptera: Tenebrionidae). *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences* 2 (2): 1 – 11.
- 9_ Bamola, N., Verma, P., & Negi, C. (2018). A review on some traditional medicinal plants. *International Journal of Life-Sciences Scientific Research*, 4(1), 1550-1556.
- 10_ Bukar, A., & Tukur, Z. (2019). Plant extracts as a source of bio-insecticide for mosquitocontrol, review. *International Journal of Mosquito Research*, 6(6), 81-84.
- 11_ Baz, M. M., Selim, A., Radwan, I. T., Alkhaibari, A. M., & Khater, H. F). Larvicidal andadulticidal effects of some Egyptian oils against Culex pipiens. *Scientific Reports*, 12(1), 4406.

- 12_ Bouabida, H., & Dris, D. (2022). Biological toxicity of Ruta graveolens essential oil against three species of diptera *Drosophila melanogaster*, *Culex pipiens* and *Culiseta longiareolata*. *Journal of Vector Borne Diseases*, 59(4), 320.
- 13_ Benhissen, S., Habbachi, W., Rebbas, K., & Maska, F. (2018). Études entomologique et typologique des gîtes larvaires des moustiques (Diptera: Culicidae) dans la région de Bousaâda (Algérie) Entomological and typological studies of larval breeding sites of mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Bousaâda area (Algeria). *Bulletin de la Société Royale des sciences de Liège*. P 112-120.
- 14_ BOUZIANE, N., & FASSOULI, Y. Effet insecticide des extraits hydro-méthanolique de deux plantes médicinales sur les imagos de *Tribolium castaneum* (Coleoptera, Tenebrionidae) (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH–OUARGLA).
- 15_ Ben Hamza Hakima, L. A. (2020). Etude de l'activité insecticide de *Nerium oleander* L. Contre *Aphis fabae* (Scopoli, 1763, Hemiptera, Aphididae) (Doctoral dissertation).
- 16_ Keddar Nassima, Belayachi Kheira (2018) - Etude de l'effet insecticide des extraits Polyphénols et caroténoïdes de *Nerium oleander* sur *Aphis spiraeicola*- mémoire de master - Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.
- 17_ BOULGHITI, A., & CHEBIR, H. Effet insecticide des deux plantes *Nerium oleander* et *Capparis spinosa* sur la mouche blanche des serres *Bemisia tabaci* dans la région d'Ouargla (Doctoral dissertation, UNIVERSITE KASDI MERBAH–OUARGLA).
- 18_ Bouguerra, N., Tine-Djebbar, F. & Soltani, N. (2018). Effect of *Thymus vulgaris* L. (Lamiales: Lamiaceae) Essential oil on energy reserves and biomarkers in *Culex pipiens* L. (Diptera: Culicidae) from Tebessa (Algeria). *Journal of Essential Oil Bearing Plants*. 21: 1082–1095
- 19_ Bouabida, H., Djebbar, F., Soltani, N. (2016). Bioactivité du spiromesifène sur deux espèces des moustiques. pfa.1-74
- 20_ Brahmi, G., Snoussi, A. (2021). Effet pupicide de l'huile essentielle de *Lavandula dentata* chez *Culiseta longiareolata* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).
- 21_ Clark, E., Peel, A. D., & Akam, M. (2019). Arthropod segmentation. *Development*, 146(18), dev170480.
- 22_ Cohuet, A. (2019). Behavioural adaptations of mosquito vectors to insecticide Control. *Current opinion in insect science*, 34, 48-54.
- 23_ Cédric, P. (2008). Interactions entre insecticides non pyréthrinoïdes et répulsifs pour la lutte contre *Anopheles gambiae* : Mécanismes, efficacité et impact sur la sélection de la

résistance. Thèse pour l'obtention du Diplôme de Doctorat, Université de Montpellier I, Formation doctorale : Parasitologie, 65 p.

24_ Cheriet, S., Kouchkouch, H. (2016). Effet des huiles essentielles extraites de deux plantes : *Mentha piperita* et *Lavandula dentata* sur les biomarqueurs biochimiques des larves de *Culex pipiens*. Mémoire de master. Biologie appliquée. Université de Larbi Tébessi Tébessa. p54 *pipiens* (Doctoral dissertation, Université laarbi tebessi tebessa).

25_ Daflaoui, H., Ragragui, H., Aburabie, H., Dikhaye, S., & Zizi, N. (2021). Dermite de contact secondaire à l'application du laurier rose (*Nerium oleander*). *Revue Française d'Allergologie*, 61(2), 123-125.

26_ Duvallet, G., & Chabasse, D. (2020). Moustiques et pathogènes. *Revue Francophone des laboratoires*, 2020(524), 34-43.

27_ Da Silva, W. J., Pilz-Júnior, H. L., Heermann, R., & da Silva, O. S. (2020). The great potential of entomopathogenic bacteria *Xenorhabdus* and *Photorhabdus* for mosquito control: a review. *Parasites & vectors*, 13, 1-14.

28_ DJABRI, C., & LAHMIDI, S. (2021). Effet pupicide et ovicide de huile Essentielle *D'Ocimum basilicum* chez *Culiseta longiareolata* (Doctoral dissertation, Université laarbi Tébessi tebessa).

29_ DRIS, D. (2019). Etude de l'activité larvicide des extraits de trois plantes : *Mentha piperita*, *Lavandula dentata* et *Ocimum basilicum* sur les larves de deux espèces de moustiques *Culex pipiens* (Linné) et *Culiseta longiareolata* (Aitken). Thèse de doctorat. Biologie animale. Université Badji Mokhtar – Annaba. P 181

30_ Ebadollahi, A., Khosravi, R., Sendi, J.J., Honarmand, P. & Amini, R.M. (2013). Toxicity and Physiological Effects of Essential Oil from *Agastache foeniculum* (Pursh) Kuntze against *Tribolium castaneum* Herbst (Coleoptera: Tenebrionidae) Larvae. *Annual Review & Research in Biology* 3(4): 649-658.

31_ Farkhondeh, T., Kianmehr, M., Kazemi, T., Samarghandian, S., & Khazdair, M. R. (2020). Toxicity effects of *Nerium oleander*, basic and clinical evidence: A comprehensive review. *Human & experimental toxicology*, 39(6), 773-784.

32_ Farooqui, S., & Tyagi, T. (2018). *Nerium oleander*: It's application in basic and applied science: A Review. *Int J Pharm Pharm Sci*, 10(3), 1-4

33_ Farkhondeh, T., Kianmehr, M., Kazemi, T., Samarghandian, S., & Khazdair, M. R. (2020). Toxicity effects of *Nerium oleander*, basic and clinical evidence: A comprehensive review. *Human & experimental toxicology*, 39(6), 773-784.

34_ Fukruksa, C., Yimthin, T., Suwannaroj, M., Muangpat, P., Tandhavanant, S., Thanwisai, A., & Vitta, A. (2017). Isolation and identification of *Xenorhabdus* and

- Photorhabdus bacteria associated with entomopathogenic nematodes and their larvicidal Activity against Aedes aegypti. Parasites & vectors, 10(1), 1-10.
- 35_ Foster WA, Walker ED (2019) Chapter 15—mosquitoes (Culicidae). Medical and veterinary entomology, 3rd edn. Academic Press, Cambridge, pp 261–32
- 36_ Foster W.A., and Walker E.D. (2019). Mosquitoes (Culicidae). Medical and Veterinary Entomology. Doi.org/10.1016/B978-0-12-814043-7.00015-7.
- 37_ Guerdouh, G., & Benabdekader, M. E. (2017). *Propriétés physico-chimiques et antifongiques des extraits de deux espèces médicinales: Laurier noble (Laurus nobilis L) et laurier rose (Nerium oleander L)* (Doctoral dissertation, université de jijel).
- 38_GHERBI, A., TAYEB, L., & GOUBI, L. (2022). Évaluation de l'effet toxique des extraits des fleurs de deux plantes de la région de Tébessa à l'égard d'une espèce de moustique culiseta longiareolata (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébessi-Tébessa
- 39_ Jang, E. K., Jung, B. K., Park, G. S., Khan, A. R., Hong, S. J., Park, Y. J., ... & Ullah, I. (2020). Cloning and expression of the insecticidal toxin gene “tccb” from Photorhabdus temperata M1021 in Escherichia coli expression system. Journal of Asia-pacific entomology, 23(1), 172-176
- 40_ Jabeen, F. (2020). Insecticidal and Genotoxic effects of some indigenous plant extracts in Culex quinquefasciatus Say Mosquitoes. Scientific reports, 10(1), 6826 Yen, P. S., & Failloux, A. B. (2020). A review: Wolbachia-based population replacement for mosquito control shares common points with genetically modified control approaches. Pathogens, 9(5), 404.
- 41_ KHOULOU, B., & DERARDJA ASMA, L. I. (2017). *Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait de Nerium oleander (Laurier rose) de la région de Bordj Ghedir (Bordj Bou Arreridj)* (Doctoral dissertation).
- 42_ KHOULOU, B., & DERARDJA ASMA, L. I. (2017). *Evaluation de l'activité antifongique de l'extrait de Nerium oleander (Laurier rose) de la région de Bordj Ghedir (Bordj Bou Arreridj)* (Doctoral dissertation).
- 43_ Khaligh, F. G., Naghian, A., Soltanbeiglou, S., & Gholizadeh, S. (2020). Autogeny in culiseta longiareolata (Culicidae: Diptera) mosquitoes in laboratory conditions in Iran. Bmcresearch Notes, 13, 1-5.
- 44_ Kiflawi, M., Blaustein, L., & Mangel, M. (2003). Oviposition habitat selection by the mosquito Culiseta longiareolata in response to risk of predation and conspecific larval Density. Ecological Entomology, 28(2), 168-173.
- 45_ Kiran, S. & Prakash, B. (2015). Assessment of Toxicity, Antifeedant Activity, and

- Biochemical Responses in Stored-Grain Insects Exposed to Lethal and Sublethal Doses of *Gaultheria procumbens* L. Essential Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 63 (48): 10518–10524.
- 46_ Liu, J., Fernandez, D., Gao, Y., Silvie, P., Gao, Y. & Dai, G. (2020). Enzymology, Histological and Ultrastructural Effects of Ar-Turmerone on *Culex pipiens pallens* Larvae. *Insects*. 11:336.
- 47_ Lassoued, F. (2019). Effet de l'extrait méthanolique de *Ruta graveolens* sur les biomarqueurs à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* (Doctoral dissertation, Université Larbi Tébéssi Tébéssa)
- 48_ LICIR, N. E. H., METALI, W., ZERROUG, A., & DIF, S. (2021). *Activité insecticide des extraits aqueux de quelques plantes médicinales* (Doctoral dissertation).
- 49_ Madani, I. K. R. A. M., Ali, L. I., & Nur, E. E. (2017). Evidences from morphological investigations supporting APGIII and APGIV classification of the family Apocynaceae Juss., nom. Cons. *European Academic Journal of Biological Diversity*, 11(4), 187-193.
- 50_ Minnat, T. R. (2016). In vivo and in vitro antibacterial assessment of *Nerium oleander* aqueous leaf extract against bacterial pathogens and its effect in treatment of wounds. *Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences*, 15(2), 31-39.
- 51_ Merkhi, N et Maifi, k. (2020). Rendement d'huile essentielle d'une plante médicinale *Artemisia absinthium* et étude théorique de leur toxicité sur une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*. Mémoire de master. Université de Larbi Tébéssi Tébéssa. P 21
- 52_ Matoug, H. (2018). Inventaire de la faune Culicidienne de la région de Skikda et étude du Comportement sexuel et alimentaire des Culicidae. Thèse de doctorat. Neurociences. Université Badji Mokhtar – Annaba. P167
- 53_ Messai Nassima (2017) - étude de la bioécologie et de la structure du peuplement des Moustiques (diptera : culicidae) dans les zones humides des hautes plaines du sud Constantinois - diplôme de doctorat- Université des Frères Mentouri – Constantine. 11p, 13p.
- 54_ Mahanta, S., Khanikor, B. & Sarma, R. (2017). Potentiality of essential oil from *Citrus grandis* (Sapindales: Rutaceae) against *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Journal of Entomology and Zoology Studies* 5(3): 803-809.
- 55_ Oppenoorth, F.J, Smissaert, H.R, Welling, W., Van Der Pas, L.J.T. & Hitman, K.T. (1977). Insensitive acetylcholinesterase, high glutathione-S-transferase, and hydrolytic Activity as resistance factors in a tetrachlorvinphos-resistant strain of house fly. *Pesticides Biochemistry and Physiology* 7: 34-47.
- 56_ Oussad, N. (2022). Biodiversité des moustiques (Diptera, Culicidae) dans la région de Tizi-Ouzou, et essais de lutte (Doctoral dissertation, Université Mouloud MAMMERRI Tizi-

Ouzou).

- 57_ Pinho, A.I., Wallau, G.L., Nunes, M.E.M., Leite, N.F., Tintino, S.R., Cruz, L.C., Cunha, F.A.B., Costa, J.G.M., Coutinho, H.D., Posser, T. & Franco, J.L. (2014). Fumigant Activity of Means of Oxidative Stress. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 1-8.
- 58_ Rehman, M. U., & Rather, I. A. (2019). Myricetin abrogates cisplatin-induced oxidativestress, inflammatory response, and goblet cell disintegration in colon of wistar Rats. *Plants*, 9(1), 28.
- 59_ (Rubini, S., Rossi, S. S., Mestria, S., Odoardi, S., Chendi, S., Poli, A., ... & Locatelli, C. A. 1(2019)
- 60_ Sinha, S. N., & Biswas, K. (2016). A concise review on *Nerium oleander* L.—an important medicinal plant. *Trop. Plant Res*, 3, 408-412.
- 61_ Semiz, G. (2017). Larvicidal activity of *Nerium oleander* L. Leaf extract against Pine Processionary Moth (*Thaumetopoea wilkinsoni* Tams.). *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 5(6), 79-81.
- 62_ Siddiqui, I., Bokhari, N. A., & Perveen, K. (2016). Antifungal ability of *Nerium oleander* against *Fusarium oxysporum*, *Sclerotium rolfsii* and *Macrophomina phaseolina*. *JAPS: Journal of Animal & Plant Sciences*, 26(1).
- 63_ Siviter, H., & Muth, F. (2020). Do novel insecticides pose a threat to beneficial Insects?. *Proceedings of the Royal Society B*, 287(1935), 20201265.
- 64_ Zulhussnain, M., Zahoor, M. K., Rizvi, H., Zahoor, M. A., Rasul, A., Ahmad, A., ... &
- 65_ Sebastian, S., & Gautam, A. (2021). *Arthropod Morphology*.
- 66_ Shojaei, A., Talebi, K., Sharifian, I. & Ahsae, S.M. (2017). Evaluation of detoxifying Enzymes of *Tribolium castaneum* and *Tribolium confusum* (Col.: Tenebrionidae) exposed to Essential oil of *Artemisia dracunculus* L. *Biharean Biologist* 11 (1):5-9.
- Tarigan, S. I., & Harahap, I. S. (2016). Toxicological and physiological effects of essential oils against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) and *Callosobruchus maculatus* (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Biopesticides*, 9(2), 135-147.
- 67_ Singh, R. R., & Reindl, K. M. (2021). Glutathione S-transferases incancer. *Antioxidants*, 10(5), 701.
- 68_ Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany* 1-26.
- 69_ Tine-Djebbar, F., Bouabida, H & Soltani, N. (2016) .Répartition spatio temporelle desculicidés dans la région de tebessa. Editions universitaires européennes. Tebessa, P 105

- 70_ Tchoumboungang, F., Dongmo, P. M. J., Sameza, M. L., Mbanjo, E. G. N., Fotso, G. B.
- 71_ Zitouni Meriem, B. A. (2019). *Etude ethnobotanique sur l'utilisation de cinq plantes toxiques dans la région de Bordj Bou Arréridj* (Doctoral dissertation).
- 72_ ZAID, R. (2021). *Etude et évaluation, en conditions semi contrôlées et naturelles, de l'activité insecticide de trois extraits de plantes sur le genre Chaitophorus (Homoptera-Aphididae) dans le sahel algérois* (Doctoral dissertation).
- 73_ Zollo, P. H. A., & Menut, C. (2009). Activité larvicide sur *Anopheles gambiae* Giles et composition chimique des huiles essentielles extraites de quatre plantes cultivées au Cameroun. *Base*.
- 74_ Zhang, W., Gao, J., Lu, L., Bold, T., Li, X., Wang, S., & Tang, J. (2021). Intracellular gsh/GST antioxidants system change as an earlier biomarker for toxicity evaluation of ironoxide nanoparticles. *Nanoimpact*, 23, 100338.
- 75_ ZEGHIB, F. (2022). Efficacité comparée des extraits de quelques plantes médicinales sur une espèce de moustique *Culex pipiens* : Aspect toxicologique, biochimique et biomarqueurs. (Doctoral dissertation, Université Badji Mokhtar Annaba).

Annexes

Annexes :

- 1_ <https://www.planeteanimal.com/reproduction-du-moustique-4031.html>
- 2_ <https://lemondedescros.forumactif.com/t310-cycle-de-vie-du-moustique#24714>
- 3_ <https://www.rustica.fr/arbres-et-arbustes/laurier-rose,3005.html>
- 4_ <https://www.picturethisai.com/fr/city>