



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Larbi Tébessi –Tébessa-
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : biologie appliquée



Mémoire pour l'obtention de diplôme MASTER.

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière: Sciences biologiques

Option: Biochimie Appliquée

Thème:

*Screening phytochimique d'extrait hydrométhanolique d'une plante
médicinale *Thymelaea hirsuta* et l'étude théorique de leur activité
biologique sur une espèce de moustique *Culiseta longireolata* .*

Présenté par:

Melle. Baali Bouthaina

Melle. Necib Bouthaina

Melle. Fares Djinene

Devant le jury:

Dr. Bouabida Hayette

MCA

Université de Tébessa

Présidente

Dr. Driss Djemaa

MCB

Université de Tébessa

Rapporteuse

Mme. Seghir Hanen

MAA

Université de Tébessa

Examinatrice

Année universitaire :2019-2020



Remerciements

Tout d'abord nous remercions « **ALLAH** » le tout puissant de nous avoir donné la volonté et le courage de pouvoir terminer ce modeste travail.

Nous remercions notre encadreuse « **Mme Dris. D** » même si les mots de remerciement sont très petits par apport à ses efforts

Pour nous aide et nous oriente -Vraiment Merci-

Nous tenons à remercier à la présidente de jury de notre mémoire **Dr. BOUAABIDA HAYETTE.**

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

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

Tous nos enseignants qui nous ont accompagnés tout au long de notre parcours : nos enseignants de primaire ; du moyen, du lycée et de l'université.

Merci pour tous les enseignants du notre département « département de biologie appliquée »

Merci pour tous les techniciens et les techniciennes des laboratoires de notre faculté.

Merci pour tous les gens qui nous aident de près ou de loin pour réaliser ce travail.

Dédicace

Si ce travail a été concrétisé c'est surtout grâce aux efforts prodigés par mon père. Je le remercie, pour son aide si précieuse tout au long de ses années, sa bonne humeur.

Merci pour ce que tu fais pour nous.

*Je veux remercier ma mère *houda*, qui m'a apporté un soutien. Merci pour la confiance.*

Merci pour avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui

Je veux aussi remercier ma chère sœur « samsouma & chahouda » mes belles pour m'avoir encouragé et mon frères « hamadi mon binome mon loulou » Merci d'avoir été là pour me soutenir à tout moment.

*Remerciment pour ma ghalia *moustacharati**

Exceptionnellement dédicace et remerciement pour mon frère hamdoun pour le soutien

Je terminerai en remerciant mon fiancé pour son soutien et ses encouragements.

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre	Page
Tableau 1	Quelque utilisations non-médicinales répertoriées des Thymelaeaceae	17
Tableau 2	Quelques utilisations médicinales répertoriées des Thymelaeaceae	18
Tableau 3	Composition chimique de <i>Thymelaea hirsuta</i>	18
Tableau 4	Analyse qualitative de composition phytochimique de <i>Thymelaea hirsuta</i>	22

Liste des figures

Figure N°	Titre	Page
Figure 01	<i>Culiseta longiareolata</i>	05
Figure 02	Nacelle d'oeufs de <i>Culiseta Longiareolata</i> (Gr : X40)	05
Figure 03	Dents du peigne siphonal (flèche) de <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr :X 40)	06
Figure 04	Taches d'écailles sombres sur l'aile (flèche) de <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr :X40)	06
Figure 05	Trois Bandes blanches longitudinales de (flèche) <i>Culiseta longiareolata</i> (Gr :X40)	06
Figure 06	Lobe basal du gonocoxité (flèche) de <i>longiareolata</i> (Gr : X 150)	06
Figure 07	cycle de développement de <i>Culiseta Longiareolata</i>	10
Figure 08	Répartition géographique des Thymelaea. La ligne pointillée indique la limite	12
Figure 09	<i>Thymelaea hirsuta</i> (Linné) Endlicher (Photos originales).	14
Figure 10	Photographie représentant un appareil Rotavapor (photo personnelle)	25

Liste d'abréviations :

Maculee : Cigue maculée

CI50 : Concentration létale 50

Cs longiareolata : *Culiseta longiareolata*

Cx pipiens: *Culex pipiens*

D : Dose

DI50 : Dose létale 50

G.rose : *Geranium rose*

L1, L2, L3, L4 : Stade larvaire 1, 2, 3,4

R.communis : *Ricinus communis*

R.graveolens : *Ruta graveolens*

T.vulgaris : *Thymus vulgaris*

Udd : *Urtica dioica Ldellys*

Udt : *Urtica dioica L tlemcen*

الملخص:

Thymelaea hirsuta ينتمي إلى عائلة *thymelaeaceae*، ويعتبر نباتا طبييا عطريا ، ويستخدم في العديد من المجالات مثل المبيدات الحشرية والعلاجات.

في هذا السياق ، يقوم عملنا باستخراج الجزيئات النشطة حيويًا من *Thymelaea hirsuta* وتقييم نشاطها اليرقي واستخدامها كمييد للجراثيم ضد نوع من البعوض *Culiseta longiareolata* ، وهذا الأخير هو حشرة ضارة ذات تحول كامل ، ونجدها أكثر وفرة في المناطق الحارة ، وهو جزء من عائلة *Culicidae Diptera*. خلال فترة الدراسة ، تم إجراء مستخلص كحولي مائي للجزيئات النشطة بيولوجيا من هذا النبات.

تم تحديد المكون عن طريق الفحص الكيميائي النباتي. المرودود المستخلص أكثر أو أقل أهمية، وتظهر نتائج الفحص الكيميائي النباتي تنوعا معينًا في المكونات:

(flavonoïdes, leurcoanthocyane, quinones, saponines, stéroïdes)

تشير نتائج البحث أن تأثير المستخلصات المائية المستخدمة فعال للغاية مقارنة بالمنتجات الطبيعية ذات الأصل النباتي. كل مستخلص وفعاليتته. يتم التعبير عن هذه الكفاءة من خلال الجزيئات النشطة بيولوجيا المختلفة للنبات ، وطريقة استخلاصه، وكذلك تركيز المستخلص ، يؤثر الأخير على معدل الوفيات ، أو أنه يسبب تسمم.

الكلمات المفتاحية: المشان، *culiseta longiareolata*، الفحص الكيميائي النباتي، مستخلص كحولي مائي.

Abstract:

Thymelaea hirsuta belongs to the thymelaeaceae family, it is considered an aromatic medicinal plant, their use in several fields such as that of insecticides and therapeutics.

In this context, our work brings on the extraction of the bioactive molecules of *Thymelaea hirsuta* and the evaluation of their larvicidal and pupicidal activity against a species of mosquito *Culiseta longiareolata*, the latter is a harmful insect with complete metamorphosis, more abundant in hot regions, it is part of the Culicidae family Diptera. During the study period, a hydro-alcoholic extraction of the bioactive molecules from this plant was carried out.

The components were determined by phytochemical screening. The extract yield and more or less important, and the phytochemical screening results show a certain diversity of the components give the main (flavonoids, leucoanthocyanin, quinones, saponins, steroids)

According to research results have shown that the effect of the aqueous extracts used is very effective compared to natural products of plant origin. Each extract is its effectiveness. This efficiency is expressed by the different bioactive molecules of the plant, and its method of extraction, also the concentration of l' extract, the latter influences the mortality rate, or it causes toxicity.

Key words: *Thymelaea hirsuta*, *Culiseta longiareolata*, phytochemical screening, hydro-alcoholic extract.

Résumé :

Thymelaea hirsuta appartient à la famille thymelaeaceae, elle est considérée comme plante médicinale aromatique, leur utilisation dans plusieurs domaines telle que celui des insecticides et thérapeutiques.

Dans ce contexte, notre travail apporte sur l'extraction des molécules bioactives de *Thymelaea hirsuta* et l'évaluation de leur activité larvicide et pupicide contre une espèce de moustique *Culiseta longiareolata*, ce dernier est un insecte nuisible à métamorphose complète, plus abondant dans les régions chaudes, il fait partie des diptères familles des Culicidés. Durant la période d'étude, une extraction hydro-alcoolique des molécules bioactives de cette plante a été réalisée.

La détermination des composants a été effectuée par le screening phytochimique. Le rendement d'extrait est plus ou moins important, et les résultats de screening phytochimique montrent une certaine diversité des composants donnent les principales (flavonoïdes, leucoanthocyanes, quinones, saponines, stéroïdes)

Selon les résultats des recherches ont montré que l'effet des extraits aqueux utilisés a une grande efficacité par rapport aux produits naturels d'origine végétale. Chaque extrait est son efficacité. Cette efficacité s'exprime par les différentes molécules bioactives de la plante, et sa méthode d'extraction, aussi la concentration de l'extrait, cette dernière influence sur le taux de la mortalité, ou il provoque de toxicité.

Mot clés : *Thymelaea hirsuta*, *Culiseta longiareolata*, screening phytochimique, extrait hydro-alcoolique.

Introduction

Introduction

Les insectes sont les premiers Arthropodes, à avoir peuplé la terre. Ils constituent le groupe d êtres vivants numériquement le plus important, puisqu'ils regroupent environ les trois quarts des espèces animales décrites à ce jour (Gourmelon&Ahtiainen, 2007). Ils sont pratiquement indispensables au bon fonctionnement de tous les écosystèmes, la plupart sont inoffensifs, certains ont un intérêt économique, par contre d'autres tels que les diptères hématophages ont un impact sur la santé humaine et animale (Maquardt, 2005). Ces diptères en raison de leur hématophagie occupent une place particulière à cause des nuisances considérables qu'ils peuvent occasionner, mais surtout à cause de leur rôle de vecteur potentiel de divers agents pathogènes (virus, bactéries, protozoaires, etc) (Takken&Knols, 2007 ; Mavoungou *et al.*, 2008). Parmi ces diptères, les Culicidae qui sont, sans doute, les plus connus et les plus redoutés en raison de leur importance médicale et vétérinaire (Harwood& James,1979; Peters, 1992; Service, 1993; Anonyme, 2005; Rueda, 2008; Manguin&Boëte, 2011; Versteirt *et al.*, 2012) et la nuisance générée par leur Prolifération particulièrement dans les régions urbaines et touristiques(Schaffner *et al.*, 2001; Becker *et al.*, 2010). Les moustiques font partie de la classe des hexapodes, de l'ordre des Diptères, et de la famille des Culicidés se sont des vecteurs de certaines maladies infectieuses arbovirus (Braks *et al.*, 2011; Coosemans *et al.*, 2011; Gouagna *et al.*, 2012; Medlock *et al.*, 2012; Jolyon *et al.*, 2012), transmettant à l'homme et aux animaux diverses maladies telles que la dengue hémorragique, la fièvre jaune et le paludisme filariose et la peste équine .

Aujourd'hui, aucun traitement spécifique mais uniquement des vaccins préventifs pour combattre certaines de ces maladies. Pour toutes ces raisons pathogéniques, l'homme a utilisé plusieurs moyens de lutte qui sont pour la plupart des insecticides chimiques (Ahmad *et al.*, 2009; Tolle, 2009; Becker *et al.*, 2010). En effet, en plus de leur coût élevé qui entrave le développements socioéconomique, ils peuvent être à l'origine de divers problèmes environnementaux tels que la pollution (Ishaaya& Horowitz, 1998; Gagne *et al.*,1999; Paoletti &Pimentel, 2000; Kielak *et al.*, 2011), l'apparition d'espèces résistantes (Rodriguez *et al.*, 2002; Konan *et al.*, 2003; Hemingway *et al.*, 2004; Díaz *et al.*,2007; Asidi *et al.*, 2012), et l'atteinte des organismes non visés ,De ce fait, des méthodes alternatives plus accessibles, sélectives et non polluantes ont été développées telles que

les poissons ,les bactéries et les larvivores ,pour la lutte biologique, l'utilisation les substances naturelles qui présentent un large spectre d'action en pharmacologie, comme bactéricides, fongicides, acaricides, etc., peuvent aussi être utilisées comme insecticides de remplacement , L'utilisation des extraits de plantes comme insecticides est déjà connus comme agents de lutte contre les insectes , certaines régions d'Afrique noire, les feuilles de tabac malaxées dans l'eau étaient utilisées pour lutter contre les moustiques.

Plus de 2000 espèces végétales dotées de propriétés insecticides ont été répertoriées (Philogène *et al.*, 2008) dont 344 espèces recensées ont un pouvoir anti Culicidien Le pouvoir insecticide des extraits de plantes varie non seulement en fonction de l'espèce végétale, de l'espèce de moustiques, de la répartition géographique, mais aussi de la technique d'extraction adoptée et du solvant utilisé lors de l'extraction (Ghosh *et al.*, 2012).

En Algérie les deux sous familles culiciane et anophelinae représentées avec six genres, Parmi les membres de ce groupe ; les moustiques du genre (*Culiseta*) attirent notre attention car ils sont distribué partout dans le monde et ils sont d'une grande importance médicale et surtout vétérinaire . En effet, le virus de plasmodium d'oiseau a été isolé à partir de *Culiseta longiareolata*. Dans ce contexte, notre travail s'intéresse Une étude de l'activité larvicide et pupicide de l'extrait hydroalcoolique de *thymeleae hirsuta* à l'égard d'une espèce de moustique *Culiseta longiareolata* la plus abondante dans la région de Tébessa.

Chapitre I :

*Présentation d'une espèce de
moustique culiseta longiareolata*

1. Présentation de *Culiseta longiareolata*

Les moustiques ont toujours été considérés comme source de nuisance pour l'homme, principalement en raison du fait qu'ils peuvent être des vecteurs de maladies.

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

2. Position systématique.

La classification a été proposée par (Aitken, 1954).comme suit:

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

3. Caractéristiques

Cs longiareolata est multivoltine, peut présenter une diapause hivernale chez les imagos femelles (régions froides) et chez les larves (régions tempérées). Les adultes sont présents toute l'année avec un max de densité au printemps et un autre en automne (Bruhnes *et al.*, 1999). Les œufs de *Culiseta* groupés en nacelle sont cylindro-coniques, porte environ 50 à 400 œufs (Boulkenaft, 2006). Les femelles sont sténogames et autogènes. Elles piquent de préférence les vertébrés surtout les oiseaux, très rarement l'humain, l'espèce est considérée comme un vecteur de Plasmodium d'oiseau. La larve est caractérisée par un peigne siphonal dont ses dents sont implantées irrégulièrement. Chez l'adulte, on remarque la présence au moins d'une tache d'écailles sombres sur l'aile, le thorax avec trois bandes blanches longitudinales et l'absence des soies longues et fortes au niveau du lobe basal du gonocoxite.



Figure 01 : *Culiseta longiareolata*



Figure 02 : Nacelle d'œufs de *Culiseta*

Longiareolata(Gr:X40).



Figure 03 : Dents du peigne siphonal (flèche) de *Culiseta longiareolata* (Gr :X 40).

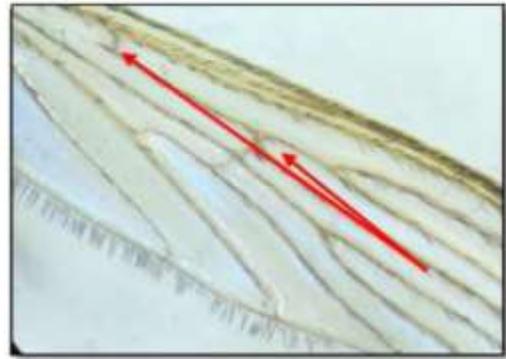


Figure 04 : Taches d'écailles sombres (flèche) sur l'aile de *Culiseta longiareolata* Gr :X40).



Figure 05 : Trois Bandes blanches gonocoxité longitudinales de (flèches) *Culiseta longiareolata* (Gr : X 40).

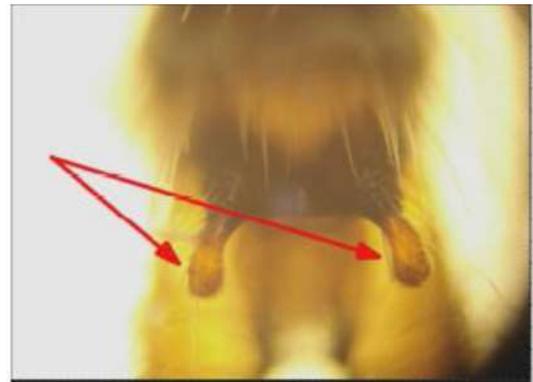


Figure 06 : Lobe basal du (flèches) de *Culiseta longiareolata* (Gr : X 150).

4. Morphologie des larves Culicidae

1/**Tête :** La capsule céphalique est formée d'une plaque chitineuse médiane, le frontoclypéus et de deux plaques latérales épicroâniennes. Au frontoclypéus est rattachée une plaque antérieure étroite (préclypéus) portant les brosses buccales. Les pièces buccales sont broyeuses, et principalement composées par des mandibules épaisses à pointes aiguës, et d'une plaque mentonnière triangulaire et dentelée appelée mentum (Seguy, 1955 ; Rodhain et Perez, 1985). Préclypéus et frontoclypéus portent 18 paires des soies

symétriques codées de 0-C à 17-C (la lettre C désigne les soies qui se trouvent sur les plaques de la tête). La forme et le nombre des branches de ces soies présentent un grand intérêt taxonomique notamment les soies péclypéales, clypéales, frontales et occipitales. Deux paires d'yeux sont situées sur la partie médio-latérale des plaques épicroâniennes. Les deux yeux antérieurs en forme de taches noirâtres, constituent les yeux composés primordiaux du futur adulte. Derrière ceux-ci, se trouvent les deux petits yeux des larves ou stemmata. Les antennes qui se posent dans les angles antéro-latéraux de la tête, sont plus ou moins minces et légèrement effilées. Elles peuvent être plus courtes que la tête et droites ou légèrement incurvées ou aussi longues voire plus longues que la tête et prendre la forme d'une courbe régulière. Le tégument des antennes est souvent couvert des poils et des spicules. Les soies antennaires, nommées de 1-A à 6-A, sont très utiles pour la reconnaissance des genres et certaines espèces appartenant au genre.

2/Thorax : Le thorax est large et trois séries successives de soies plus ou moins ramifiées en marquant les trois régions autrement indistinctes. Les paires de soies symétriques sont numérotées 0-P à 14-P sur le prothorax, 1-M à 14-M sur le mésothorax et 1-T à 13-T sur le métathorax (Becker *et al.*, 2003). Signalent que seules les soies pro-thoraciques présentent un intérêt taxonomique. Chez les *Uranotaenia*, quelques soies méso-thoraciques et métathoraciques peuvent aussi être modifiées et participer à la distinction des espèces.

3/ Abdomen : Caractérisé par une forme allongée et sub-cylindrique, l'abdomen des larves de Culicidés est composé de dix segments individualisés. Les sept premiers se ressemblent entre eux, où chaque segment est orné de 15 paires de soies (excepté le segment I où se trouvent seulement 13 paires de soies). La majorité de ces soies sont très peu utilisées en taxinomie, hormis chez les anophèles où l'abdomen est recouvert par certains caractères spécifiques, notamment, les soies palmées et les plaques tergaux. Sur le huitième segment abdominal qui possède un intérêt majeur en taxinomie, deux structures très importantes sont annexées. La première, c'est le peigne qui est constitué par un ensemble d'épines ou d'écailles, variables dans leur forme, leur nombre et leur disposition. Le nombre d'écailles varie de 5 à plus de 100 et peuvent être arrangées en une seule ligne,

en double lignes, en forme irrégulière ou encore en forme triangulaire. Celles-ci, s'insèrent sur le bord postérieur d'une plaque chitineuse chez les *Uranotaenia* et les Anophèles. La deuxième structure correspond aux deux ouvertures spiraculaires qui s'ouvrent soit directement au niveau du tégument (comme c'est le cas chez les Anophelinae) soit à l'extrémité apicale d'un organe chitinisé de forme troconique, appelé le siphon respiratoire, principal caractère des Culicinae. Il s'agit d'un des caractères les plus utilisés pour l'identification des espèces constituant les Culicinae. Plus ou moins long, ce siphon porte de part et d'autre une rangée d'épines (peigne de siphon) et selon les genres et les espèces, une ou plusieurs touffes de soies. Le dernier segment ou segment anal projeté ventralement, ne se trouve pas dans le prolongement du corps, mais forme avec celui-ci un angle de 130°. Il est entouré sur la partie dorso-latérale, d'un renforcement chitineux qui constitue la selle. Cette dernière est ornée d'épines et d'une paire de soies (1-X), de paires de longues soies disposées en une brosse dorsale, d'une ligne de soie et d'une brosse disposée ventralement. Au niveau du bord postérieur de la selle, quatre papilles anales saillantes entourent l'anus, qui est terminal.

5. Cycle de développement : Les moustiques sont des insectes holométaboles. Leur développement passe par une phase larvaire aquatique avant le stade adulte aérien entrecoupé d'une courte phase nymphale (Figure 7).

a-Oeufs : les femelles pondent les œufs sur la surface des gîtes différents (bassins, puits abandonnés, trous des rochers, mers, étangs, canaux, citernes, eau de pluie...), dont l'état de l'eau est toujours stagnant et riche en matières organiques. Ces gîtes sont permanents ou temporaires, ombragés ou ensoleillés, remplis d'eau douce ou saumâtre, propre ou polluée (Paul, 2009). Les œufs sont fusiformes, ils ont une taille de 0.5 à 1mm. Au moment de la ponte ils sont blanchâtres et prennent rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la chitine ; une couleur noire (Peterson, 1980).

b-Larves : le développement des larves à ce stade est exclusivement aquatique, leur déplacement est assuré par des mouvements frétilants caractéristiques, et leur évolution comporte quatre stades, de taille variant de 2mm à 12mm (Boulkenafat, 2006). Les larves

vivent environ 10 jours. La rapidité du développement des larves dépend de la quantité de nourriture contenue dans l'eau du gîte (Peterson, 1980).

c-Nymphes : la nymphe ou pupe est en forme de virgule, mobile, présente un céphalothorax fortement renflé avec deux trompettes respiratoires (Boulkenafat, 2006). La nymphe, également aquatique, éphémère (de 1 à 5 jours), ne se nourrit pas. Il s'agit d'un stade de transition, au métabolisme extrêmement actif, au cours duquel l'insecte subit de profondes transformations morphologiques et physiologiques préparant le stade adulte (Peterson, 1980).

d-Adultes (ou l'imago) : une déchirure ouvre la face dorsale de la nymphe et l'adulte se dégage lentement. L'adulte qui vient d'émerger est plutôt mou en général, avant de s'envoler, il reste à la surface jusqu'à ce que ses ailes et son corps sèchent et durcissent. L'adulte pourra enfin voler de ses propres ailes, et leur corps est rigide grâce à la membrane chitineuse mince, il est composé de trois parties la tête, le thorax et l'abdomen bien différencié (Boulkenafat, 2006).

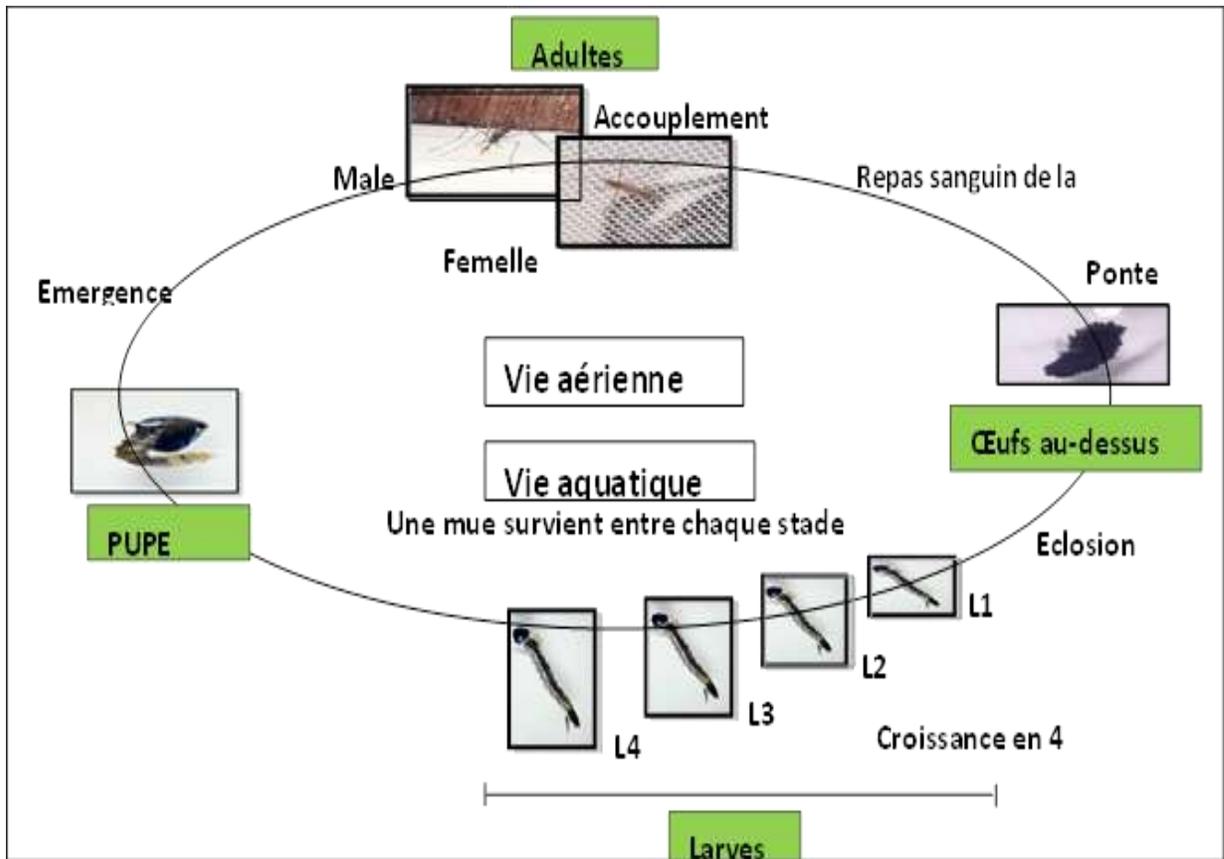


Figure 7 : Cycle de développement de *Culiseta Longiareolata*.

Chapitre 2 :

*Présentation d'une plante
médicinale Algérienne :*

Thymelaea hirsuta

II.1. Généralité

Le choix des Thymelaeaceae comme sujet général du présent travail a été guidé par les nombreuses utilisations traditionnelles qui en sont répertoriées, mais aussi par le fait qu'il s'agit d'une famille relativement méconnue, comme le démontrent les difficultés rencontrées dans leur classification botanique.

Les Thymelaeaceae sont une petite famille de dicotylédones composée de quelque 1200 espèces réparties en 67 genres, bien que certains auteurs n'en répertorient qu'une cinquantaine. Les membres de cette famille sont répandus dans les zones tropicales et tempérées de la planète, particulièrement en Afrique, et sont absents seulement dans les régions aux climats les plus froids (Borris *et al.*, 1988) (Figure 8)



Figure 8 : Répartition géographique des *Thymelaea*. La ligne pointillée indique la limite approximative de l'espèce annuelle *Thymelaea hirsuta*.

II.2. Description botanique

Thymelaea hirsuta est une plante vivace ne mesurant pas plus d'un mètre de hauteur (Batanouny, 2005). Sa souche est ligneuse, forte et porte de nombreux rameaux tombants (Pausas *et al.*, 2006) garnis de nombreuses petites feuilles de 6mm environ, ovales presque imbriquées, épaisses, luisantes au-dessus et cotonneuses en dessous (Jeanmonod & Gamisans, 2007) (Figure 2).

Dans les conditions climatiques favorables, la floraison débute à partir du mois d'octobre et s'étale jusqu'en avril (Jeanmonod & Gamisans, 2007). La plante porte sur

des pieds différents, soit des fleurs unisexuées, soit des fleurs hermaphrodites (Jeanmonod & Gamisans, 2007 ; Shaltout & El keblawy, 1992 ; Dommée *et al.*, 1995, 1990 ; Renner, 2001). Selon (Dommée *et al.*, 1984), les pieds bisexués sont d'abord mâles, deviennent femelles ultérieurement. L'abondance de cette catégorie pourrait indiquer l'importance de la monoecie d'une espèce considérée jusqu'à présent comme essentiellement dioïque. Les fleurs de cette plante sont groupées entre 2 et 5 périanthes jaunâtres à l'intérieure, blanches, soyeuses et pubescentes à l'extérieur (Beniston, 1984 ; Somon, 1987). Les petites fleurs de 5mm polygames et sans bractées se trouvent sur les rameaux ou sur les ramifications naissantes, sub-sessiles et insérées les unes à côté des autres par l'intermédiaire d'un court pédicelle sur l'extrémité renflée de l'axe de l'inflorescence ; le pédicelle avec ses longs poils recouvrent la base de la fleur. Le calice pétaloïde, poilu à l'extérieur, glabre à l'intérieure, se divise à la partie supérieure en quatre sépales étalées et huit étamines soudées (Cuvier, 1825). Le style filiforme et latéral (Villars, 1807) est terminé par un stigmate légèrement velu (Cuvier, 1825). Deux types de fleurs peuvent être distingués, mâles et femelles. Les fleurs mâles verdâtres ont un calice cylindrique (Figure 2 B), alors que celles femelles sont jaunâtres à calice renflé (Figure 2 C).

Les fruits sont des baies glabres, consommés par les animaux assurent la dispersion des graines (dispersion zoochore) (Jeanmonod & gamisans, 2007). Ces dernières présentent un tégument extérieur rugueux et assez dur. L'embryon est droit dans un albumen peu abondant (Beniston, 1984).

Les Thymelaeaceae sont principalement des arbustes et leurs caractères morphologiques principaux sont les suivants (Heywood, 1996) :

- feuilles : alternes (rarement opposées).
- fleurs : régulières, bisexuées, pièces florales normalement par 4 ou 5 regroupées en racèmes, en capitules ou en fascicules. en forme de coupe, le réceptacle creux formant un tube profond dont le bord porte généralement les pièces florales, sépales pétaloïdes, apparaissant comme une continuité du tube, étamines insérées dans le tube et corolle insignifiante ou absente, ovaire supère à style simple, fixé à la base du réceptacle, possédant 1 ou 2 (rarement 3 à 8) carpelles

soudés, avec autant de loges renfermant chacune 1 ovule pendant axile ou pariétal ;

- fruit : akène, baie, drupe ou parfois capsule, graine possédant peu ou pas d'albumen, embryon droit.

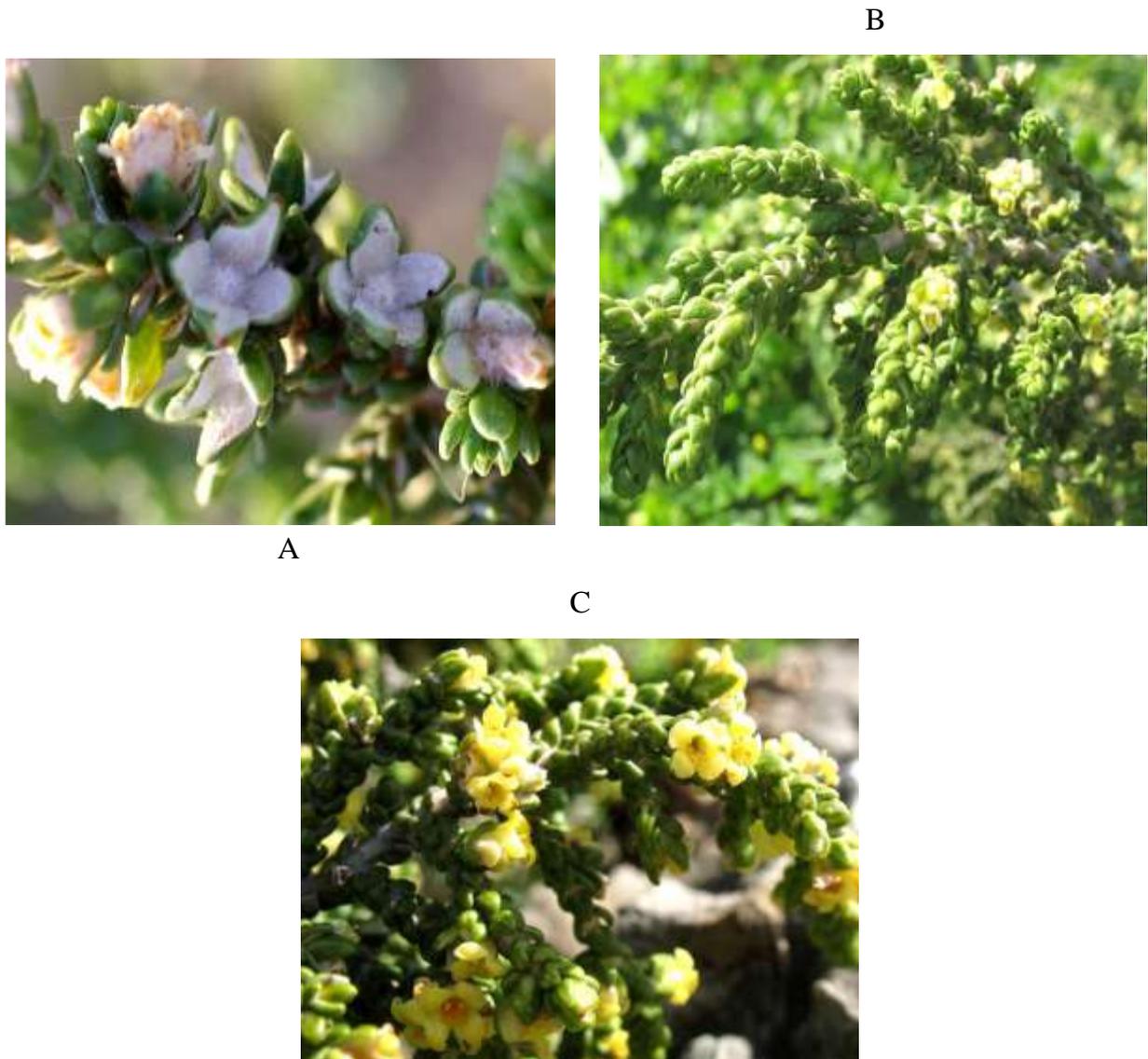


Figure 9 : *Thymelaea hirsuta* (Linné) Endlicher (Photos originales). **A-** feuilles cotonneuses. **B-** fleurs mâles. **C-** fleurs femelles.

II.3. Classification de la famille des Thymelaeaceae

La position taxonomique des Thymelaeaceae a toujours été sujette à caution, comme l'ont relevé Borris *et al.*, (1988), avant même l'avènement des classifications phylogénétiques moléculaires. Engler et Gilg (1924) ont d'abord placé cette famille dans le sous-ordre des Thymelaeineae, de l'ordre des Myrtiflorae, ensemble avec les Geissolomataceae, les Penaeaceae, les Oliniaceae et les Elaeagnaceae. Melchior (1964) et Wagenitz (1964), dans la 12^{ème} édition du *Syllabus der Pflanzenfamilien* d'Engler, ont déplacé les Oliniaceae dans le sous-ordre des Myrtinae et élevé le reste des Thymelaeineae au rang d'ordre, sous l'appellation de Thymelaeales. Cet ordre a été validé par la suite par Gundersen (1950), avec cependant la ré-introduction des Oliniaceae, considérant également les Geissolomataceae comme faisant partie des Penaeaceae. Hutchinson (1967) supprime les Oliniaceae des Thymelaeales, mais y introduit les Nyctaginaceae et divise les Thymelaeaceae d'Engler en trois familles : Thymelaeaceae, Gonystylaceae et Aquilariaceae. Quant à Cronquist (1968), il inclut les Thymelaeaceae, les Penaeaceae, les Oliniaceae et dix autres familles dans l'ordre des Myrtales de la sous-classe des Rosidae.

L'étude de la morphologie florale des Thymelaeaceae a mis en évidence la confusion régnant dans les relations taxonomiques au sein de cette famille (Heining, 1951). Il a été affirmé que les Thymelaeaceae peuvent être apparentées aux Tiliaceae ou aux Flacourtiaceae. Alors que les caractéristiques de morphologie pollinique ont amené à justifier que les Thymelaeaceae peuvent être très fortement apparentées aux membres crotonoïdes des Euphorbiaceae et aux Buxaceae, mais pas aux familles des Celastraceae, Combretaceae, Dichapetalaceae, Elaeagnaceae, Flacourtiaceae, Penaeaceae, Proteaceae et Tiliaceae (Erdtman, 1952).

II.3. Classification phylogénétique

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

Alverson et al. (1998), reprise par l'APG (1998) (Angiosperm Phylogeny Group), où s'y trouve les Thymelaeaceae, qui étaient jusque-là souvent associées aux Myrtales. La classification des Thymelaeaceae dans l'ordre des Malvales « étendu » est d'ailleurs confortée par d'autres caractères, comme par exemple la présence d'acides gras cyclopropaniques (Vickery, 1980 ; 1981), de cellules mucilagineuses et d'écorces fibreuses robustes dans cette famille (Dahlgren et Thorne, 1984).

Classification phylogénétique (Anonyme, 2005) :

Classe : Rosopsida
Sous classe : Rosidae
Ordre : Malvales
Famille : Thymelaeaceae

II.4. Domaines d'utilisation des Thymelaeaceae

II.4.1. Utilisations non-médicinales

Le bois de certains genres de la famille est, quant à lui, utilisé pour la production de matériaux de construction et d'objets ornementaux. De plus, de nombreuses espèces possèdent une écorce fibreuse qui sert à la fabrication de papier et de corde. En Inde, en Chine et en Indonésie, le bois de certaines espèces d'*Aquilaria* infecté par un champignon est vendu comme bois odorant et on en tire également de l'encens.

Tableau 01 : Quelques utilisations non-médicinales répertoriées des Thymelaeaceae (Borris et al., 1988 ; Gelfand et al., 1985).

Plante	Partie	Utilisation	Région
<i>G. macrophyllus</i> (Miq.) Airy Shaw	Bois	bois odorant	Indonésie
<i>Lagetta linearia</i> Lam.	Ecorce	décoration	Antilles

II.4.2. Utilisations médicinales

Les médecines traditionnelles d'un grand nombre de cultures utilisent des Thymelaeaceae pour la préparation de traitements d'une gamme très étendue de troubles. Les emplois comme émétique, purgatif, vésicant et pour le traitement de maladies de la peau, sont des exemples de l'utilisation des effets toxiques de ces remèdes traditionnels. Dans ces applications, les doses sont cependant faibles, afin de favoriser l'effet bénéfique par rapport aux effets secondaires. Les bases de l'utilisation de ces plantes dans le traitement d'autres maux, tels que morsures de serpents, piqûres de scorpions, malaria et affections ophtalmiques, ne sont pas claires (Borris *et al.*, 1988).

Thymelaea hirsuta, plante utilisée en médecine traditionnelle arabe pour traiter :

- ✓ les ascaris,
- ✓ les oxyures,
- ✓ feuilles séchées broyées ont été utilisés pour traiter les infections de la peau et de l'écorce de contribuer à la guérison des plaies,
- ✓ la suppression des dents pourries où bouillir les feuilles dans l'eau et le rinçage de la bouche sont ensuite lui crachait avec des dents pourries,
- ✓ prévenir les avortements chez les chameaux,
- ✓ les chercheurs disent qu'ils ont été en mesure de séparer le matériau de *Thymelaea hirsuta* et le stigmasterol est un stéroïde utilisé pour la fabrication de la progestérone, une hormone utilisée dans le traitement des fausses couches à répétition chez la femme (Rizk, 1974).

Tableau 02 : Quelques utilisations médicinales répertoriées des Thymelaeaceae (Gelfand *et al.*, 1985 ; Borris *et al.*, 1988 ; Iwu, 1993 ; Kokwaro, 1993).

Plante	Partie	Utilisation	Région
<i>Aquilaria agallocha</i> Roxb	bois	aphrodisiaque, stimulant, etc.	Inde, Chine
<i>Arthrosolen chrsyanthus</i> Solms-Laub	racine	décoctions contre la malaria et les rhumatismes.	Tanzanie
	feuille	bain contre la malaria.	Tanzanie

II.5. Composition de *Thymelaea hirsuta*

Tableau 03 : Composition chimique de *Thymelaea hirsuta*

Organes étudiés	Molécules extraites	Références
Feuilles	Thyméol ((C ₃ H ₂ O) _n)	Saleh <i>et al.</i> , 1965
	Stigmasterol, β-Sitosterol, Alcool aliphatique C ₁₂ H ₂₂ O, Lactone C ₁₉ H ₁₈ O ₆	Gharbo <i>et al.</i> , 1970
	Alcanes en C ₂₇ à 31, alcanols en C ₂₂ et 28, β- Sitostérol et Campesterol	Rizk <i>et al.</i> , 1974
	Daphnorine, Daphnorétine, Daphnine, Daphnéline, Daphnéline-glucoside, Ombelliférone, Scopolétine et Esculétine (coumarines)	Rizk <i>et al.</i> , 1975
	2-vicénine (C-flavone)	Nawwar <i>et al.</i> , 1977
	Tiliroside (3- <i>p</i> - coumaroylglucosylkaempférol) (flavanol)	Ismail, 1978
	Lupéol, β-Sitostérol, Phytol, β-amyrine, Bétuline, Erythrodiol, Cholestérol et Lanostérol	Garcia-Granados et Saenz de Buruaga, 1980
	Tanins	El-Beheiry, 2000
feuilles et brindilles	5,12-dihydroxy-6,7-époxy- résiniféronol	Rizk <i>et al.</i> , 1984

	Gnidicine, Gniditrine, Genkwadaphnine, 12- <i>O</i> heptadécenoyl-5-hydroxy-6,7 époxyrésiniféronol-9,13,14-orthobenzoate et 12- <i>O</i> butényl-5-hydroxy-6,7 époxyrésiniféronol-9,13,14-orthobenzoate (diterpènes daphnane)	Brooks <i>et al.</i> , 1990
racines	Daphnorétine (éther de dicoumaryl)	Abou-Karam <i>et al.</i> , 1998

II.6. Screening phytochimique

II.6.1. Recherche des flavonoïdes et des leucoanthocyanes

En présence d'hydroxyde de sodium (NaOH) 1N, de l'acide chlorhydrique (HCl) concentré et des copeaux de Magnésium (Mg), les flavonoïdes donnent les réactions de coloration caractéristique.

La même réaction effectuée au bain marie en absence de copeaux de Magnésium, l'apparition de la coloration rouge confirme la présence des leucoanthocyanes.

Mode opératoire :

- 5 g de matériel végétal placés dans un Erlen meyer sont infusés dans 50 ml d'eau distillée pendant 30 minutes.
- Après filtration, prélever 6 ml d'infusé et les introduire dans 3 tubes à essai à raison de 2 ml par tube.
- Additionner respectivement à l'infusé contenu dans les 3 tubes à essai, 1 ml de NaOH, 1ml d'eau distillée et 1ml de HCl concentré et de copeaux de Magnésium.

En présence des flavonoïdes, les colorations suivantes : rouge, jaune-rougeâtre, rouge à rouge-violacé, rouge-foncé au violet ou bleu, jaune et rose peuvent être observées.

Ces couleurs correspondent respectivement aux anthocyanes, flavones, flavonols, flavonones, isoflavones et leucoanthocyanes.

II.6.2. Recherches des quinones

En présence de NaOH à 10 %, les solutions des quinones présentent une coloration caractéristique virant du rouge au violet.

Mode opératoire :

- 5 g de matériel végétal et les humecter de quelques gouttes de HCl.
- Mettre à macération ce matériel végétal pendant une heure ou 24 heures dans un Erlen Meyer fermé et contenant 10 ml d'éther de pétrole.
- Après filtration, 2 ml de filtrat sont agités avec 2 ml de NaOH à 10 %. La coloration rouge virant au violet apparaît en présence des quinones.

II.6.3. Recherche de saponines

Par agitation, une mousse persistante dont la hauteur est mesurable apparaît dans les solutions de saponines.

Mode opératoire :

- 5 g de matériel végétal trituré sont mis dans un Erlen Meyer dans lequel on y ajoute 50 ml d'eau distillée pour réaliser une décoction pendant 30 minutes.
- Après refroidissement, filtrer et prélever 5 ml du décocté et les introduire dans un tube à essai de 16 mm de diamètre et 160 mm de hauteur après agitation.

L'apparition d'une mousse persistante indique la présence des saponines. Cependant, en cas d'une faible mousse, le décocté est testé avec un mélange à volume égal d'acide sulfurique (H_2SO_4) 1N et chrome de potassium (K_2CrO_3) à 10 %

II.6.4. Recherche des tanins

En présence de Chlorure ferrique à 1% ; les extraits aqueux tanniques donnent des colorations bleu-vert, bleu-sombre et verte ou des précipités.

Mode opératoire :

- 5 g de matériel végétal sont infusés dans 50 ml d'eau bouillante contenue dans un Erlen Meyer pendant 30 minutes.
- 2 ml de l'infusé sont prélevés et mis dans un tube à essai dans lequel on ajoute quelques gouttes de chlorure ferrique à 1%.

L'apparition d'une coloration ou la formation d'un précipité indique la présence des tanins catéchiqques.

- Prendre encore 2 ml de l'infusé et les placer dans un tube à essai saturé en acétate de sodium et y ajouter quelques gouttes de FeCl₃.

La formation d'un précipité indique la présence des tanins galliques.

II.6.5. Recherche des terpénoïdes et des stéroïdes

En présence de l'acide acétique anhydre et de l'acide sulfurique concentré (réactif de LIEBERMAN-BURCHARD), l'extrait organique éthéré contenant les stéroïdes donne des colorations mauves et vertes. L'identification des terpénoïdes suit le même schéma en plus de l'ajout du réactif de Hirschson (acide trichloracétique). La couleur jaune virant au rouge indique la présence de terpénoïdes.

Mode opératoire :

- Prendre 1g de matériel végétal qu'on met à macération pendant 24 heures dans l'éther de pétrole ou dans le benzène.
- Après filtration et introduction dans un Erlen Meyer de 100 ml, le solvant est évaporé au bain de sable.
- Le résidu est récupéré par 1 ml de chloroforme, 1 ml d'anhydride acétique et 3 gouttes d'acide sulfurique concentré.

Il se produit une coloration violette devenant progressivement verte. La coloration verte se stabilise au bout de 30 minutes et indique la présence des stéroïdes.

Par ailleurs, 2 ml de la solution acidifiée sont traités par quelques gouttes de réactif de HIRSCHSON. L'apparition d'une coloration rouge indique la présence des terpénoïdes.

II.6.6. Recherche des alcaloïdes

La mise en évidence des alcaloïdes consiste à les précipiter à l'aide de six réactifs de précipitation à savoir : - réactif de Dragendorff, - réactif de Mayer, - réactif de Hager, - réactif de Bertrand, -réactif de Wagner et -le réactif de Sonnenschein.

Mode opératoire :

- 1 g de poudre de matière végétale sèche a été soumis à une macération dans 10 ml de méthanol à la température ambiante pendant 24 heures, puis à l'étuve à 50 °C pendant 4 heures.

- La solution obtenue est filtrée, lavée avec des portions de méthanol chaud. Ensuite, on évapore à sec la solution obtenue à l'étuve à 50°C. Le résidu est recueilli deux fois par 2 ml de solution chaude d'acide chlorhydrique 1% et est filtré.
- La solution acide obtenue est basifiée par l'ammoniaque concentrée dans une ampoule à décanter. On y ajoute 15 ml de Chloroforme qui sera évaporé à sec à l'air libre et le résidu obtenu, est repris par 0,5 ml de HCl 1% et agiter.
- Ainsi, les alcaloïdes ayant été protonés sont supposés être passés en phases aqueuses. La phase aqueuse au-dessus est prélevée à l'aide d'une pipette Pasteur. Six gouttes sont déposées sur une lame porte-objet. (Voir annexe 1)

II.7. Screening phytochimique de *T. hirsuta*

Les tests phytochimiques consistent à détecter les différentes familles de composés existants au niveau de la partie aérienne de *T. hirsuta* sur le plan qualitatif. Cette détection est basée sur des réactions de précipitation et de coloration. Les résultats sont présentés dans le tableau 4.

Le dépistage phytochimique a révélé la présence de flavonoïde, de leucoanthocyane, de tanin catéchique, des quinones, des saponines et des stéroïdes et l'absence de tanin galliques, d'alcaloïde et Terpène.

Tableau 04 : Analyse qualitative de composition phytochimique de *Thymelaea hirsuta*.

Composition phytochimiques	présence	absence	<i>T. hirsuta</i>
Les flavonoïdes :			+
leucoanthocyane			
tanins catéchique			+
Les tanins			
tanins galliques			-
Les quinones			+
Les terpènes			-
Les saponines			+
Les stéroïdes			+
Les alcaloïdes			-

II.8. Préparation de l'extrait hydrométhanolique de *T. hirsuta*

La matière végétale est récoltée au moins février de région de Tébessa 2020, et séchée à l'air libre pendant (07-15 jours). A l'issue de cette étape, puis broyées avec un mixeur électrique jusqu'à obtenir une poudre.

L'extrait hydrométhanolique est obtenu par solubilisation des fractions actives dans la solution aqueuse de méthanol (600 de méthanol, et 150 d'eau distillée) et divisé cette solvant en deux. Dans la 1^{ère} macération on ajoute 80 grammes de la poudre végétale est misent dans un Bucher de 1L capacité avec suffisamment de la solution aqueuse de méthanol 600 ml, Le mélange est agité pendant 40 minute par un agitateur magnétique ; puis filtrés sur du papier filtre standard de type FIORONI R0122A00010, et obtient le filtrat.

Et dans la 2^{ème} macération on prend la poudre est misent avec 600 ml de solvant pendant 24 heures, après 2^{ème} filtration on mélange les deux filtrats.

Pour éliminer le méthanol, le filtrat est soumis à une évaporation Sous vide à l'aide d'un Rotavapor de type IKA-WERKE GMBH et CO KG référence D-79921 RV06-ML (Fig.03), pendant 10 à 20 minute. Le produit obtenu, est un extrait hydrométhanolique conservé dans un bocal hermétiquement fermé ,et couvert par du papier aluminium à une température avoisinant à 4 C° est utilisé par la suite aux tests biologiques.(Kemassi *et al.*, 2015)



Figure 10 : Photographie représentant un appareil Rotavapor (photo personnelle).

Chapitre 3 :

*Toxicité des extraits des plantes
à l'égard des moustiques*

L'effet toxique des extraits des plantes sur les moustiques:

La toxicologie est l'étude des effets nocifs d'une substance chimique naturelle ou synthétique sur les organismes vivants. Les tests toxicologiques sont adoptés pour tester la sensibilité des larves, vis-à-vis des insecticides utilisés en campagnes de lutte (Organisation Mondiale de Santé, 1963), ils sont nécessaires d'évaluer les concentrations létales (CL₂₅, CL₅₀ et CL₉₀).

On considère que les biopesticides à base des extraits de plante peuvent être des outils de choix dans les programmes de gestion de la résistance des insectes aux pesticides. La toxicité évaluée à partir du taux de mortalité enregistrée après traitement, dépend des doses administrées.

D'après les résultats de (Dahchar, 2016), les stades les plus jeunes (L1, L2) de l'espèce *Cs. longiareolata* sont les plus sensibles aux extraits aqueux de *Daphne gnidum*, avec des faibles concentrations létales CL₅₀ (0,15 et 0,16g/l) après 24h que les stades les plus âgés (0,18 et 0,21g/l) pour L3 et L4 respectivement. D'après leur résultat de la toxicité Selon des extraits aqueux des cinq plantes *Ricinus communis*, *Thymus vulgaris*, *Geranium rose*, *Ciguë maculee* et *Ruta graveolens* ont révélé une activité insecticide vis-à-vis les quatre stades larvaires de *Cx. pipiens* et *Cs. longiareolata*. La plante toxique est *R. graveollens* qui présente la toxicité la plus élevée avec des faibles doses létales, à l'égard des différents stades larvaires des deux espèces de Culicidae étudiées. D'après ces résultats, les stades les plus jeunes (L1, L2) sont les plus sensibles aux extraits aqueux des cinq plantes, avec de faibles concentrations létales (CL₅₀) après 24h que les stades les plus âgés. Le classement des plantes selon leurs toxicités est successivement : *R. graveollens*, *T. vulgaris*, *C. maculee*, *G. rose* et dernièrement la plante *R. communis*.

D'après l'étude de Merabti *et al.*, (2015), le traitement par l'extrait aqueux de *Citrullus colocynthis* a conduit à la mortalité de 50% des larves de *Culex pipiens* par une faible concentration de l'ordre de 2,89 mg/l après 72h, et 4,29 mg/l chez *Culiseta longiareolata*. Une autre étude réalisée par Aouinty *et al.*, (2016) confirme des effets toxiques des extraits aqueux des feuilles du ricin *Ricinus communis* L. sur des larves de moustiques culicidés. Dans ce travail, l'activité insecticide de ces extraits a été étudiée sur les larves des stades 2 et 4 de *Culex pipiens*, *Aedescaspius*, *Culiseta longiareolata* et *Anophele smaculipennis*. Les tests de toxicité ont révélé au bout de 24

heures d'exposition des concentrations létales CL_{50} très faibles. Dans le cadre de lutte anti-moustique, les extraits de cette plante peuvent être utilisés comme des biocides naturels. Par contre, les résultats de Sayah (2011) montrent une activité larvicide faible ne dépassant pas les 17% des extraits aqueux de *Pistacia lentiscus*, *Citrus aurantium*, *Citrus sinensis*, *Citrus limon*, *Cymbopogon citrute* et *Argania spinosa* sur les larves de *Culex pipiens*.

Des larves du 3^{ème} et 4^{ème} stade larvaire du moustique *Culex pipiens L.* ont été exposées aux extraits aqueux de huit plantes : *Eucalyptus globulus*, *Nicotiana tabacum*, *Ocimum basilicum*, *Myrtus communis*, *Origanum majorana*, *Nerium oleander*, *Salvia officinalis* et *Jasmin umpolyanthum* à différentes doses afin d'évaluer leur effet larvicide. Les résultats montrent une sensibilité variable des larves, qui est encore plus élevée avec l'augmentation de la concentration de l'extrait. Par ailleurs, la toxicité est bien marquée lorsque la durée d'exposition des larves est plus longue.

Selon l'étude de kemassi *et al.*, (2015) porte sur l'évaluation des extraits aqueux d'*Euphorbia guyoniana* sur la mortalité des larves de *Culex pipiens*. L'extrait à forte concentration (100%, 75%, 50%, 25%) engendre un pourcentage de mortalité larvaire de 100%. Bien que des pourcentages de mortalité de 86,67%, 73% et 63% sont noté au niveau des lots traités par l'extrait à moyenne concentration (15%, 10% 5%), alors que pour l'extrait à faible concentration (1%) engendre un taux de mortalité de 56.67%. Les valeurs de dose létales 50 et 90 rapportées sont de 0,0015mg/ml et 0,0094 mg/ml respectivement.

Selon l'étude de azzouz et halib (2017) des extrais aqueux de quatre plantes: deux plante des régions sahariennes (*Nicotiana glauca* et *Cléome arabica*) et deux plante des régions littorales (*Ruta chalepensis* et *Anagyris foetida*) à l'évaluation de leur potentiel larvicide sur les larves de quatrième stade de *Culiseta longiareolata*, trois doses administrer (33 g/l ; 18 g/l ; 8 g/l). Les résultats montrent que *Ruta chalepensis* entraîne une mortalité variable selon la concentration utilisée et le temps de traitement. Au bout de 3 jours de traitement, les taux de mortalité des larves augmentent et peuvent atteindre 100% lors d'utilisation la plus forte concentration 33 g/l et la CL_{50} est équivalente à 5,75 g/l, alors que CL_{90} est égale 11,48 g/l. *Anagyris foetida* a montré une bonne activité larvicide sur les larves de L4 de *C. longiareolata* étudiées et les résultats

indiquent des taux de mortalités allant jusqu'à 100%. Les résultats indiquent également des CL50% pour le 2^{ème} jour et 4^{ème} jours sont 5,25 g/l et 7,38 g/l respectivement.

Nicotiana glauca montre que la mortalité des larves du 4^{ème} stade de *C. longiareolata* donne des résultats significatifs utilisés au cours de l'exposition, les CL50 après 1 jour du traitement est 26,87g/l alors que la CL90 %est de 55,14g/l, et que l'effet après 2 jours s'est traduit par un CL50de 21,98 g/l, alors que la CL90 est de 41,77g/l. après 3 jours s'est traduit par un CL50 de 17,13g/l, alors que la CL90 est de 27,16g/l. La nicotine à également des propriétés toxiques à l'égard des insectes.

L'effet direct de *Cleome arabica* sur les larves de *Cs. Longiareolata* se traduit par un CL50 après 1 jour de traitement de 2,45 g/l alors que la CL90est de 7,25 g/l et que l'effet retardé pendant 3 jours s'est traduit par un CL50 de 34,16 g/l, alors que la CL90% est de 14,99 g/l. L'extrait aqueux de *Cléome arabica* possède des effets toxiques sur les larves de premier stade d'*Ectomye loisceratoniae*, surtout après traitement par la plus haute concentration (15%) (Korichi *et al.*, 2016).

Mansouri et messabhia (2018) utilisent l'extrait hydroéthanolique de la partie aérienne de *Rosmarinus officinalis* pour évaluer l'activité larvicide d'une espèce de moustiques *Culex pipiens*, par deux différentes concentrations (151mg/ml et 604mg/ml). Mais cet extrait ne révèle pas une activité larvicide importante par l'utilisation d'éthanol comme solvant.

Selon l'étude de Issoufou *et al.*, (2019) l'activité larvicide des extraits aqueux et méthanoliques de vingt-six (26) plantes a été évalué sur les larves d'*Anopheles gambiae*. Il ressort de l'étude que, onze (11) plantes ont présenté une excellente activité larvicide vis-à-vis des larves d'*Anopheles gambiae* après 48h d'exposition. Il s'agit de *Senna occidentalis*, *Momordica balsamina*, *Ocimum basilicum*, *Citrus sinensis*, *Striga hermontheca*, *Xeromphis nilotica*, *Crotalaria podocarpa*, *Diospyros mespiliformis*, *Cymbopogon citratus*, *Cleome viscosa* et *Combretum micrantum*. Parmi ces plantes, seules *Crotalaria podocarpa* *Momordica balsamina*, *Senna occidentalis*, *Ocimum basilicum* et *Xeromphis nilotica* ont montré une mortalité totale (100%) après 24h d'exposition.

Selon l'étude d'Acheuk *et al.*, (2017) des propriétés insecticides d'une plante spontanée collectée du Sahara Algérien (région de Tamanraset): *Artemisia judaica*. L'extrait éthanolique brut a été préparé par macération. Les bio-essais ont été effectués

sur les œufs et les larves du I, II et III stade du moustique commun *Culiseta longiareolata*. Une série de trois doses pour les œufs et 4 doses pour les larves a été testée. Les résultats obtenus montrent qu'à forte dose, l'extrait inhibe complètement l'éclosion des œufs. Sur les larves, l'extrait testé présente une bonne activité insecticide. La dose létale médiane (La DL50) a été atteinte après deux heures du début du traitement, ce qui traduit l'excellent effet insecticide de cet extrait.

Les travaux de Macedo *et al.*, (1997) sur l'activité larvicide des extraits brut de *Tagetes minuta*, recueillie du Brésil, contre les larves du quatrième stade du moustique *Aedes ochlerotatus fluviatilis* (Diptera: Culicidae) ont montré une CL₉₀ et une CL₅₀ respectivement de 1,5 et de 1,0 mg/L. Cette plante a entraîné une mortalité de 100 % à 10 mg/L après 48h d'exposition. Cette plante se montre très toxique, son effet insecticide est lié à la présence d'un composé : le 5- E-ociménone qui a été décrit comme le principe actif de la plante *Tagetes minuta*.

Les travaux d'Arivoli *et al.* (2011) ayant évalué les effets de différents extraits de *Vernonia cinerea* collectées en Inde contre les L3 de *Culex quinquefasciatus*, ont mis en évidence une bonne activité insecticide des extraits testés avec une relation mortalité-concentration. Parmi les quatre extraits testés, l'extrait d'acétate d'éthyle a été le plus efficace suivi par l'extrait chloroformique et acétonique. La CL50 et 90 pour l'extrait d'acétate d'éthyle étaient évaluées respectivement à 1,63 et 4,25 mg/ml après 24h de contact.

Selon l'étude d'Aouati (2016) d'extraits aqueux d'une dizaine de plantes, à savoir ; *Artemisia herba alba*, *Marrubium vulgare*, *Laurus nobilis*, *Eucalyptus globulus*, *Menthaspicata*, *Rosmarinus officinalis*, *Ruta montana*, *Thymus vulgaris*, *Lavandula officinalis* Et , *Origanum compactum* sur les larves du quatrième stade de *Culex pipiens L* et ceci afin de déterminer leurs degrés d'action sur ces dernières. Les résultats obtenus révèlent une sensibilité variable des larves traduite par des taux de mortalité faible à très élevé en passant d'une concentration à l'autre, mais surtout d'une plante à l'autre. Les résultats révèlent également que l'activité insecticide est progressive puisque il a été enregistré une augmentation de la mortalité au fur et à mesure qu'on avance dans le temps d'exposition pour atteindre parfois un taux de mortalité maximal de 100% pour les doses les plus élevés et pour certaines plantes seulement ; ce qui montre que la mortalité est corrélée aux doses utilisées et est

d'autant plus accrue que l'exposition des larves aux insecticides est prolongée dans le temps. Des tous les extraits utilisés ; *Artemisia herba-alba* est celle qui engendre le plus grand taux de mortalité mais également celle qui agit à des concentrations relativement faibles. Suivi par 3 extraits de plantes qui ont engendrés une mortalité de plus de 50% sur les larves testées au bout de 72h d'exposition ; *Marrubium vulgare*, *Thymus vulgaris* et *Origanum compactum*. Les extraits de plante qui ont engendrés une mortalité de moins de 50% sur les larves testées mais toujours au bout de 72h d'exposition sont *Laurusnobilis*, *Eucalyptus globulus*, *Mentha spicata* et *Ruta montana* pour qu'enfin arrive les deux extraits de *Rosmarinus officinalis* et *Lavandula officinalis* engendrant le plus faible effet.

Cette diversité d'action des extraits de plantes utilisés pourrait en fait être due à la diversification des molécules bioactives qui composent ces plantes pouvant réaliser une action singulière d'un des composants, ou un effet synergique entre plusieurs composés vis à vis des larves de moustiques qui y sont exposées .

(Toubal,2018) applique le traitement des larves L4 de *C. pipiens* par les alcaloïdes d'*Urtica dioica* de dellys à différentes doses (10 mg/ml, 7 mg/ml, 5 mg/ml, 2,5 mg/ml et 1 mg/ml) a été effectué. Le taux de mortalité des larves du 4^{ème} stade de *C. pipiens* est proportionnel avec l'augmentation des doses utilisées et du temps de contact. La DL50 obtenue pour les alcaloïdes d'*UDD* est de 6,91 mg/ml après 48h. Les alcaloïdes extraits à partir des feuilles de la Grande ortie possèdent une activité insecticide modérée.

Les résultats du traitement des larves L2 et L4 de *C. pipiens* par l'extrait aqueux des deux plants *Urtica dioica* de delly et *Urtica dioica* de tlemcen pour les différentes doses 10%, 5%, 4%, 3%, 2% et 1% obtenus après 2h, 4h, 24h et 48h. Le 100% de mortalité est atteint au bout de 48h de traitement (D10%=27 mg/ml et D5%=13,5mg/ml). Les larves présentant une sensibilité aux extraits d'*U. dioica* L. sont devenues plus clair, et ont subi une régression de la taille. L'extrait aqueux d'*UDT* possède une activité larvicide meilleure par rapport à celui d'*UDD*.

Il est nécessaire de tester d'autres plantes et d'autres méthodes d'extractions qui peuvent éventuellement donner de meilleurs résultats, ainsi que sur d'autres stades de développement de l'insecte et cela pour développer des bio-insecticides dans le cadre de programmes de lutte intégrée.

Conclusion

Conclusion :

Les Culicidae, sont sans doute les insectes les plus connus et les plus redoutés tant pour le désagrément et nuisance que constitue leur présence, que par les maladies parasitaires qu'ils peuvent inoculer pendant leur repas sanguin tel que la filariose, la fièvre jaune, la fièvre du virus du Nile Occidental. Face à ces menaces, et afin de contrer la propagation des insectes et des épidémies y découlant, plusieurs méthodes ont été envisagées et adoptées ; ces stratégies de lutte se sont appuyées dans les premiers temps sur l'utilisation d'insecticides chimiques. Très vite la résistance de ces insectes aux pesticides chimique utilisés et la bioaccumulation des composés toxiques dans l'environnement à inciter les chercheurs à trouver de nouvelles méthodes alternatives biologiques, sélectives et surtout biodégradable, afin de préserver le milieu naturel. Plusieurs méthodes de contrôle sont élaborées dans ce contexte et d'avantages encouragées, notamment celle relative à l'utilisation des extraits de plantes comme insecticides.

L'objectif de notre travail consiste à faire un screening phytochimique d'extrait hydro méthanolique d'une plante médicinale *Thymelaea hirsuta* et l'étude théorique de leur activité biologique sur une espèce de moustique *Culiseta longireolata*. Au cours de ce travail nous avons opté pour l'extraction des polyphénols totaux et des flavonoïdes de *Thymelaea hirsuta*, notre résultat montre la présence des flavonoïdes leuco anthocyane, les tanins, aussi les quinones, les saponines avec l'absence des alcaloïdes et les stéroïdes.

Vu les circonstances par laquelle passe notre pays et le monde (pandémie du Covid-19) nous n'avons pas été en mesure de terminer notre étude.

Les extraits des plantes renferment des substances naturelles et actives, d'une composition chimique complexe, ce qui leur confère des propriétés insecticides très intéressantes et le développement de la résistance très lent, comparativement aux insecticides de synthèse.

Références Bibliographiques

A

- Acheuk F., Abdellaoui K., Lakhdari W., Dehliz A., Ramdani M., Barika F & Allouane R.** (2017). Potentiel bio-insecticide de l'extrait brut de la plante saharienne *Artemisia judaica* en lutte anti-vectorielle : cas du moustique commun *Culiseta longiareolata*. Journal Algérien des Régions Arides (JARA). 14 : 109-116.
- Amari, N.** (2015). Etude phytochimique, potentiel antioxydant et activité antifongique de *Thymelaea hirsuta* (cas de dermatophytes). (Thèse pour l'obtention du titre de docteur en sciences agronomiques). p6
- Aouati M.** (2016). Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). (thèse de doctorat .université des frères Mentouri, Constantine). accessible par bibliothèque électronique de l'université des frères Mentouri. <https://bu.umc.edu.dz/theses/biologie/AOU6912.pdf>
- Aouinty B., Oufara S., Mellouki F & Mahari S.** (2006). Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis L.*) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen). Biotechnol. Agron. Soc. Environ. 10. 2 : 67-71
- Arivoli et al.** (2017). Potentiel bio-insecticide de l'extrait brut de la plante saharienne *Artemisia judaica* en lutte anti-vectorielle: cas du moustique commun *Culiseta longiareolata*. Journal Algérien des Régions Arides (JARA). 14 : 109-116.
- Azzouz S & Halib S.** (2017). Inventaire de la faune culcidiene dans les palmeraies de la région de Bou Saâda, des essais de lutte. (mémoire de maitrise, Mohamed Boudiaf, M'sila). accessible par bibliothèque électronique universitaire de Msila. tiré de <http://dspace.univmsila.dz:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/1473/Binde1.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

B

- Benhissen .S, Habbachi .W , Rebbas. K, Masna ,F .** (2019) Bioactivité des extraits foliaires de *Ruta Chalepensis* sur la mortalité des larves de *Culiseta longiareolata* (Diptéra , Culiseta), Vol. 20, No. (1) . accessible par Lebanese Science Journal. <http://dx.doi.org/10.22453/LSJ-020.1.001-009>
- Bercer, N; Petric, D; Zgomba, M; Boase, C; Dahl, C; Lane, J.& laisser, A.**2003. Mosquitoes and their control. Ed. Kluwer Academic, New York. 498p.
- Boulkenafet, F.** (2006). Contribution à l'étude de la biodiversité des Phlébotomes (Diptera : Psychodidae) et appréciation de la faune Culicidienne (Diptera : Culicidae) dans la région de Skikda. Présentation pour l'obtention du Diplôme de Magister en entomologie (option ; application agronomique et médicale). P191
- Bounab,S .Lograda,T .Ramdani,M .Chalard,P .Figueredo,G .**(2019).Chemical composition and antibacterial activity of essential oils of *Thymelaea hirsuta* from Algeria, Vol . 20, n° 9 ,p . 2868-2876. DOI: 10.13057/biodiv/d20091
- Brahim Aouinty , Saadia Oufara , Fouad Mellouki , Saadia Mahari .** (2006) Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen) . Laboratoire de Chimie bioorganique et analytique, UFR 35/97 FST Université Hassan II-Mohammedia (Maroc). Vol 10 ,n° (2),p 67
- Brownstone ,T. Drebot, MA . Khan, SU . Lindsay ,LR . Ng ,V. Rees, EE .Sadeghieh ,T.** (2019) Les changements climatiques pourraient-ils entraîner la propagation de maladies exotiques transmises par les moustiques au Canada Relevé des maladies transmissibles au Canada .45(4):108–18. Tiré par <https://doi.org/10.14745/ccdr.v45i04a04f>
- Brunhes, J ;Rhaim, A; Geoffroy,B ; Angel, G.& hervy, J.P.**1999. Les culicidae de

d'Afrique méditerranéenne.

D

Dahchar Z. (2017). Inventaire des Culicidae de la région Ouest de la ville d'Annaba. Etude bioécologique, systématique des espèces les plus abondantes. Lutte biologique anti larvaire par les extraits aqueux de quelques plantes (Médicinales et toxiques) et le *Bacillus thuringiensis israelensis* H14. (Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar, Annaba). Accessible par bibliothèque électronique universitaire d'Annaba. (tiré de <http://biblio.univ-annaba.dz/wp-content/uploads/2018/06/These-Dahchar-Zineb.pdf>)

Drebot, M. Iranpour, M. Lindsay, L. Ludwig, H. Vrbova, H. Zheng, H. (2019). Augmentation du risque de maladies endémiques transmises par des moustiques au Canada en raison du changement climatique. Relevé des maladies transmissibles au Canada 2019;45(4):99–107.

Tiré par <https://doi.org/10.14745/ccdr.v45i04a03f>

F

Fatma Acheuk, Khemais Abdellaoui, Wassima Lakhdari, Abderrahmene Dehliz, Malika Ramdani, Fethia Barika et Rabea Allouane . (2017) . Potentiel bio-insecticide de l'extrait brut de la plante saharienne *Artemisia judaica* en lutte antivectorielle: cas du moustique commun *Culiseta longiareolata* Laboratoire de Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques, Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de Boumerdes, 35000, Algérie , No (14).

J

Julien Ferrari .(2002). Contribution à la connaissance du métabolisme secondaire des Thymelaeaceae et investigation phytochimique de l'une d'elles : *Gnidia involucrata Steud.* ex A. Rich. (Thèse de doctorat, Faculté des Sciences de l'Université de

Lausanne) .p 228.

K

Kemassi,A .Boukharik,K. Cherif,R. Ghada,K. Bendaken,N. Bouziane,N.Boual,Z. & Bouras ,N. et al. (2015) . Evaluation de l'effet larvicide de l'extrait aqueux d'*Euphorbia guyoniana* (Boiss. & Reut.) (Euphorbiaceae) .ElWahat pour les Recherches et les Etudes,vol.8, n°1,p.44-61

Korichi,A.(2016). Effets des extraits de quelques plantes spontanées du Sahara septentrional, sur trois stades de développement (œuf, L1 et adulte) d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae).(mémoire de maîtrise , université Kasdi Merbah ,Ourgla). Accessible par bibliothèque électronique universitaire de Ouargla. Tiré de <https://bu.univouargla.dz/KORICHI-ALMI-Afifa.pdf?idthese=5132>.

I

Issoufou Y.,Djibo A.,Idrissa M.,Abdoulaye T.,Inoussa M.,Krim S.,Jean L.&Tilman M et al.(2019).Caractérisation Phytochimique et Activité Larvicide d'extraits Bruts de Plantes Issues de la Pharmacopée Traditionnelle du niger sur les larves d'*Anophelesgambiae* S.L.EuropeanScientificJournal.15. 12 :30-51

M

Macedo et al. (2017). Potentiel bio-insecticide de l'extrait brut de la plante saharienne *Artemisiajudaica* en lutte anti-vectorielle: cas du moustique commun *Culisetalongiareolata*. Journal Algérien des Régions Arides (JARA).14 :109-116

Mansouri F & Messabhia H. (2018).Etude de l'effet larvicide de l'extrait hydroalcoolique de *Rosmarinusofficinalis* à l'égard de *Culexpipiens*.(mémoire de maîtrise ,Université Larbi Ben M'hidi,Oum El Bouaghi).accessible par bibliotheque électronique universitaire de Oum El Bouaghi.tiré de <http://bib.univoeb.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/5571/1/le%20memoire%20complet.pdf>

Merabti B., Lebouzi I., Adamou A &Ouakid M L.(2015).effet toxique de l'extrait

aqueux des fruits de *Citrulluscolocynthis* (L.) Schrad sur les larves des Culicidae. Revue des BioRessources. 5.2 :120-130

Peterson, E. L. .1980. limit cycle interprétation of a mosquito cicadian oscillator. J. Theor Biol, 84:281-310.

R

Rageau J., et Delaveau P. (1980) - effets toxiques d'extraits de végétaux sur les larves de moustiques. Bulletin de la société de pathologie exotique. (72): 168-171 .

Rehimi, N. & Soltani, N. (1999). Laboratory evolution of alsystine. A chitin synthesis inhibitor agonist *Culex pipiers* . (Diptera: Culicidae). Effects on development and cuticule secretion. J. Appl. Ent., 123: 437 - 441.

S

Soltani, R. (2015) .Les moustiques ; risques sanitaires , bio essais et stratégies de contrôle .(Université Badji Mokhtar de Annaba 23000-Annaba, Algérie) Tiré par <https://www.researchgate.net/publication/284729530>

T

Toubal S. (2018). Caractérisation de la relation chémotypes de l'Ortie- bactéries vectorisées associées et évaluation de leurs activité sur *Culex sp.* (these de doctorat, université M'hamed Bougara, Boumerdes). accessible par l'université électronique de boumerdes .tiré par <http://dlibrary.univboumerdes.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/4914/1/TOUBAL%20PDF.pdf>

V

Villeneuve, F. & Désiré, C.H. 1965. Zoologie. Bordas 1ere édition. 23pages.

Annexes

Annexe 1:**Préparation des différents réactifs****1. Réactif de DRAGENDORFF**

-7 g de d'iode de potassium (KI) est dissout dans 18ml d'eau, on y ajoute 3 ml d'acide chlorhydrique (HCL, 4N) et on porte le mélange à ébullition .ensuite on ajoute à petites quantités 1,5g de sous nitrate de Bismuth.

-Après refroidissement du mélange, on ajoute 1,5 g d'Iode (I₂) et au volume total du mélange, on ajoute un volume équivalent en eau distillées.

2. Réactif de DRAGEN DORFF

Il s'agit d'un mélange (V/V) de deux solutions A et B.

- Solution A

Nitrate de bismuth.....1,7 g

Acide tartrique concentré.....20 g

Eau distillée.....qsp 100 ml

- Solution B

Iodure de potassium.....10 g

Eau distilléeqsp 100 ml

Le mélange est ensuite additionné de 10 g d'acide tartrique et son volume est ramené à 100 ml avec de l'eau distillée.

3. Réactif de MAYER :

Chlorure de mercure..... 1,36 g

Iodure de potassium.....5 g

Eau distillée.....qsp 100 ml

4. Réactif de WAGNER :

Iodure de potassium.....2 g

Iode.....1,27 g

Eau distillée.....qsp 100 ml

5. Réactif de BERTAND :

Alun ferrique.....240 g

Eau distillée..... 700 ml

Acide sulfurique pur..... 700 ml

Ajouter ensuite de l'eau distillée qsp. 2000 ml

6. Réactif de SONNENSCHNEIDER : Acide phosphomolybdique

Heptamolybdate d'ammonium.....50g

Nitrate d'ammonium.....75g

Eau..... 700 ml, puis en ajoutant 300 ml d'acide nitrique concentré 65%. Bien agiter.